



**GLİOMDA ADE VE ADE RESEPTÖR POLİMORFİZMİ İLE  
BAZI ANJİYOJENİK MARKERLERİN SERUM VE DOKU  
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Taylan TURAN**

**DOKTORA TEZİ  
BİYOKİMYA(ECZ) ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİSAN 2019**

TAYLAN TURAN tarafından hazırlanan "GLİOMDA ADE VE ADE RESEPTÖR POLİMORFİZMİ İLE BAZI ANJİYOJENİK MARKERLERİN SERUM VE DOKU DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi BİYOKİMYA(ECZ) Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman :** Prof.Dr. Aymelek GÖNENÇ

Biyokimya(Ecz) Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

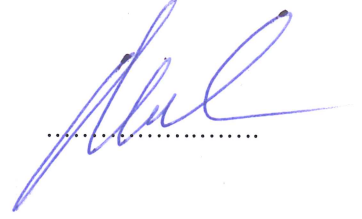
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



**Başkan :** Prof.Dr. Meral TORUN

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

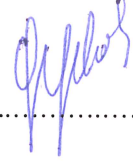
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



**Üye :** Prof.Dr. Gülberk UÇAR

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



**Üye :** Prof.Dr. Mustafa ARK

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



**Üye :** Doç.Dr. Samiye YABANOĞLU ÇİFTÇİ

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: ...../...../.....

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Taylan TURAN

05.04.2019

# GLİOMDA ADE VE ADE RESEPTÖR POLİMORFİZMİ İLE BAZI ANJİYOJENİK MARKERLERİN SERUM VE DOKU DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Taylan TURAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2019

## ÖZET

Gliomlar, MSS'nin en yaygın primer tümörleridir. Moleküler patojenezinin aydınlatılmasındaki gelişmelere rağmen gliomda halen tedavi sağlanamamıştır. ADE ve AGTR1 polimorfizmi, gerek kanser patojenezi ve gerekse metastaz ve anjiyojenez ile ilişkisi bakımından çeşitli kanser araştırmaları için odak noktasıdır. Farklı popülasyonlarda çeşitli kanser türlerinde, ADE ve AGTR1 polimorfizmi ile kanser patojenezi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. Bununla birlikte, bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar birbiri ile karşılaştırıldığında çelişki taşımaktadır. Bu tezde, ADE, AGTR1 ve VEGF polimorfizmlerinin gliom patojenezi ile olası ilişkisi ve bazı anjiyojenik markerlerin ölçülen serum ve doku düzeyleri ile anjiyojenez arasındaki olası bağlantının araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmaya, yaş ortalamaları  $49,09 \pm 1,33$  ve  $48,60 \pm 1,34$  olan 96 gliom hastası ve 104 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Tez kapsamında, PZR-RFLP metodu ile ADE I/D, AGTR1 A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A bölgelerine ait polimorfizmler araştırılmıştır. Böylelikle hasta ve kontrol gruplarına ait genotip ve alel frekansları belirlenmiştir. GZ-PZR ile ADE, AGTR1, VEGF göreceli gen ekspresyonları belirlenmiştir, ELISA ile anjiyojenez ile ilişkili parametreler olan ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO serum ve doku düzeyleri ölçülmüştür. Sonuç olarak, çalışmamızda AGTR1 -168A/G gen bölgesindeki polimorfizmde AA genotipinde gliom riskinin daha düşük, G alelinde gliom riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu polimorfizmde G alelinin gliom riskini 2,27 kat artırdığı tespit edilmiştir. ADE I/D, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A polimorfizmlerinin alel frekansı ve genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grupları arasında benzer dağılım gösterdiği saptanmıştır. Serum ADE, VEGF, eNOS, NO ve doku ADE, ET-1, eNOS, NO düzeyleri hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Hasta grubu ADE, AGTR1 ve VEGF gen ekspresyonları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. AGTR1 polimorfizminde G alelinde yüksek tümör riskinin bulunması, gliomda artan serum ADE düzeyleri ve gen ekspresyonunun bulunması tümör gelişimine ADE ve ADE reseptör polimorfizmi yönüyle ışık tutmaktadır.

Bilim Kodu : 1010.1

Anahtar Kelimeler : Gliom, Polimorfizm, ADE, AT<sub>1</sub>, Anjiyojenez, Gerçek Zamanlı-PZR

Sayfa Adedi : 195

Danışman : Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ

THE EVALUATION OF ACE, ACE RECEPTOR POLYMORPHISMS AND  
SERUM AND TISSUE LEVELS OF SOME ANGIOGENIC MARKERS IN GLIOMA

(Ph. D. Thesis)

Taylan TURAN

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

April 2019

ABSTRACT

Gliomas are the most common primary tumors of CNS. Despite the advance in the elucidation of the molecular pathogenesis of these tumors, glioma still remains incurable. ACE and AGTR1 polymorphism are the focal points for various cancer studies, both in relation to cancer pathogenesis and its relationship with metastasis and angiogenesis. There are many studies on the relationship between ACE and AGTR1 polymorphism and cancer pathogenesis in various types of cancer in different populations. However, the results obtained from these studies are in contradiction when compared to each other. In this thesis, it was aimed to find out the possible connection between ACE, AGTR1 polymorphism and glioma pathogenesis and also the relationship between some angiogenic markers which will be measured in both serum and tissue, and angiogenesis. 96 glioma patients and 104 healthy controls with mean age  $49,09 \pm 1,33$  and  $48,60 \pm 1,34$  were included in the study. ACE I/D, AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T and VEGF -2578C/A polymorphisms were investigated in the thesis by PCR-RFLP method. By this means, allele and genotype frequencies between patients and healthy controls were determined. Relative gene expressions of ACE, AGTR1 and VEGF were determined by Real Time-PCR while, the levels of parameters that are associated with angiogenesis such as ACE, VEGF, ET-1, eNOS and NO were measured in both serum and tissue by using ELISA method. As a conclusion, in AGTR1 -168A/G polymorphism, the risk of glioma of AA genotype decreased significantly, G allele increased the risk of glioma by 2,27 times. Allele frequency and genotype distributions of ACE I/D, AGTR1 -535C/T, -825T/A, VEGF +936C/T and VEGF -2578C/A polymorphisms were found to be similar distribution between patient and control groups. Serum ACE, VEGF, eNOS, NO and tissue ACE, ET-1, eNOS, NO values were also significantly different between the patient and healthy control groups. ACE, AGTR1 and VEGF gene expressions of the patient group were found to be significantly higher than the control group. The presence of high tumor risk in G allele in AGTR1 polymorphism, increased serum levels and gene expression of ACE in glioma shed light on the development of tumor in terms of ACE and ACE receptor polymorphism.

Science Code : 1010.1

Key Words : Glioma, Polymorphism, ACE, AGTR1, Angiogenesis, Real Time PCR

Page Number : 195

Advisor : Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince üzerimde büyük emekleri olan, engin bilgi ve deneyimleriyle aydınlandığım, kendileriyle çalışmaktan kıvanç duyduğum ve daima kendime örnek aldığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ'e,

Tez İzleme Komitesi üyeleri olan ve tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Meral TORUN ve Prof. Dr. Mustafa ARK hocalarıma,

Örneklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ömer Hakan EMMEZ'e ve Baş Asistan Dr. Burak ÖZAYDIN'a,

Operasyon sonrası çıkarılan dokunun sağlıklı ve tümörlü kısımlarının mikroskop altında ayırımını gerçekleştiren Gazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İpek Işık GÖNÜL hocama,

Tez çalışmamda, bilgi ve desteğini esirgemeyerek beni yönlendiren, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü bünyesinde bulunan laboratuvarının tüm imkanlarını kullanmama müsaade eden Prof. Dr. Ali ERGÜL'e, RNA izolasyonu ve PZR çalışmalarım esnasındaki özverili katkılarından dolayı Canan YÜKSEL'e ve özellikle primer tasarımı ve restriksiyon enzimlerinin seçimi konusunda verdiği katkılardan dolayı Umut KİBAR'a,

Tez çalışmamın doku homojenizasyonu ve Nitrik Oksit ölçümü aşamalarında yapmış oldukları değerli katkılardan dolayı Prof. Dr. Yeşim ÖZKAN ve Doç. Dr. Aysun ÖZDEMİR'e,

Tez kapsamında istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde emeği geçen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN'a

Yoğun bir çalışma temposunda olmasına rağmen, desteğini ve pozitif enerjisini her daim yanımda hissettiğim kardeşim Doç. Dr. Murat ÇOLAK'a

Tez çalışmamın hemen her aşamasında bana hep destek olan ve tezimin hazırlanmasında ciddi emeği bulunan Arş. Gör. Dr. Hilal TORUL'a

Her zor anımda yanımda olan, anlayışla, sabırla, inançla ve sevgisiyle beni her daim destekleyen canım nişanım Besra AKGÜN'e, ve hayatım boyunca bana verdikleri destek için canım anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından 216S995 proje numarasıyla desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Beynin Yapısı.....	7
2.2. MSS Tümörleri.....	9
2.2.1. Beyin tümörleri.....	14
2.2.2. Glial tümörler.....	19
2.3. Tümör Anjiyojenezi.....	37
2.4. Genetik Polimorfizm.....	40
2.4.1. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP).....	40
2.5. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) ve ADE Polimorfizmi.....	41
2.6. Anjiyotensin II Reseptörleri (AGTR1 ve AGTR2) ve AGTR1 Polimorfizmi...	44
2.7. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ve VEGF Polimorfizmi.....	46
2.8. Endotelin-1 (ET-1).....	49
2.9. Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) - Nitrik oksit (NO).....	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	55
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	55



	<b>Sayfa</b>
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler .....	57
3.3. Hasta ve Kontrol Grubunun Nitelikleri.....	57
3.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması, Operasyon Sonrası Çıkarılan Dokunun Sağlıklı ve Tümörlü Kısımlarının Mikroskop Altında Ayırımı.....	58
3.5. Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu.....	60
3.5.1. Agaroz jel elektroforezi ve spektrofotometrik ölçüm.....	61
3.5.2. PZR-RFLP ve PZR-DNA Dizi Analizi.....	63
3.6. Kan Örneklerinden Total RNA'nın İzolasyonu .....	66
3.6.1. GZ-PZR .....	68
3.6.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi.....	69
3.7. ELISA Ölçümleri.....	70
3.7.1. Serum ve doku ADE ölçümü.....	71
3.7.2. Serum ve doku VEGF ölçümü.....	74
3.7.3. Serum ve doku ET-1 ölçümü.....	76
3.7.4. Serum ve doku eNOS ölçümü.....	79
3.7.5. Serum ve doku NO ölçümü.....	82
3.8. İstatistiksel Analiz.....	85
4. BULGULAR.....	87
4.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Karakteristik Özellikleri.....	87
4.2. Polimorfizmler.....	88
4.2.1. ADE I/D Polimorfizmi (NCBI Ref. SNP ID: rs1799752).....	88
4.2.2. AGTR1 -168A/G Polimorfizmi (NCBI Ref. SNP ID: rs275653).....	91
4.2.3. AGTR1-535C/T Polimorfizmi (NCBI Ref. SNP ID: rs1492078).....	95
4.2.4. AGTR1 -825T/A Polimorfizmi (NCBI Ref. SNP ID: rs275651).....	99
4.2.5. VEGF +936C/T Polimorfizmi (NCBI Ref. SNP ID: rs3025039).....	103
4.2.6. VEGF -2578C/A Polimorfizmi (NCBI Ref. SNP ID: rs699947).....	107

	<b>Sayfa</b>
4.3. ELISA ve GZ-PZR Çalışmaları.....	111
4.3.1. ADE Serum/Doku Düzeyi ve Gen Ekspresyonu.....	111
4.3.2. AGTR1 Gen Ekspresyonu.....	113
4.3.3. VEGF Serum/Doku Düzeyi ve Gen Ekspresyonu .....	113
4.3.4. ET-1 Serum/Doku Düzeyi.....	115
4.3.5. eNOS Serum/Doku Düzeyi.....	116
4.3.6. NO Serum/Doku Düzeyi.....	117
5. TARTIŞMA .....	143
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	159
KAYNAKLAR.....	163
EKLER.....	185
ÖZGEÇMİŞ.....	189

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. MSS tümörleri sınıflandırması (Louis ve diğerleri, 2016).....	11
Çizelge 2.2. IDH-Mutant olmayan ve IDH-Mutant glioblastomlarının temel özellikleri (Louis ve diğerleri, 2016).....	31
Çizelge 2.3. Diffüz infiltratif glial tümörlerin evrelendirilmesi (2016 DSÖ) .....	31
Çizelge 3.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların gliom tipi, evresi ve sayısı.....	58
Çizelge 3.2. Çalışılacak gen bölgelerine ait primer setleri.....	63
Çizelge 3.3. RE'ler, kesim sonrası bant uzunlukları ve sayıları.....	66
Çizelge 3.4. Gen ekspresyonlarını belirlemeye yönelik primer ve prob setleri.....	68
Çizelge 3.5. RNA-Primer karışımı.....	69
Çizelge 3.6. Ters transkripsiyon karışımı.....	69
Çizelge 3.7. ADE standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri.....	72
Çizelge 3.8. Serum ADE tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	73
Çizelge 3.9. Doku ADE için gün içi tekrarlanabilirlik.....	73
Çizelge 3.10. Serum ADE için günler arası tekrarlanabilirlik.....	73
Çizelge 3.11. Doku ADE için günler arası tekrarlanabilirlik.....	73
Çizelge 3.12. VEGF standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri.....	74
Çizelge 3.13. Serum VEGF tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	75
Çizelge 3.14. Doku VEGF için gün içi tekrarlanabilirlik.....	76
Çizelge 3.15. Serum VEGF tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	76
Çizelge 3.16. Doku VEGF için günler arası tekrarlanabilirlik.....	76
Çizelge 3.17. ET-1 standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri.....	77
Çizelge 3.18. Serum ET-1 tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	78
Çizelge 3.19. Doku ET-1 tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	78
Çizelge 3.20. Serum ET-1 tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	78

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.21. Doku ET-1 tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	79
Çizelge 3.22. eNOS standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri.....	80
Çizelge 3.23. Serum eNOS tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	81
Çizelge 3.24. Doku eNOS tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	81
Çizelge 3.25. Serum eNOS tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	81
Çizelge 3.26. Doku eNOS tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	81
Çizelge 3.27. Total nitrit/nitrat ölçümü için örneklerin hazırlanması.....	83
Çizelge 3.28. NO standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri.....	83
Çizelge 3.29. Serum NO tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	84
Çizelge 3.30. Doku NO tayini için gün içi tekrarlanabilirlik.....	85
Çizelge 3.31. Serum NO tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	85
Çizelge 3.32. Doku NO tayini için günler arası tekrarlanabilirlik.....	85
Çizelge 4.1. Çalışma grubunun karakteristik özellikleri.....	87
Çizelge 4.2. Çalışma grubuna ait ADE I/D genotip ve alel dağılımları ve ADE geni I/D polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi.....	91
Çizelge 4.3. AGTR1 -168A/G polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, AGTR1 -168A/G polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi.....	95
Çizelge 4.4. AGTR1 -535C/T polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, AGTR1 -535C/T polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi.....	99
Çizelge 4.5. AGTR1 -825T/A polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında alel frekanslarının karşılaştırılması, AGTR1 -825T/A polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi.....	103
Çizelge 4.6. VEGF +936C/T polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, VEGF +936C/T polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi .....	107
Çizelge 4.7. VEGF -2578C/A polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, VEGF -2578C/A polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi .....	111

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.8. Gliom hastalarında cinsiyete göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması.....	118
Çizelge 4.9. Gliom hastalarında yaşa göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması.....	120
Çizelge 4.10. Gliom hastalarında vücut kitle indeksine göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması.....	123
Çizelge 4.11. Sağlıklı kontrollerde cinsiyete göre yapılan serum düzeyleri kıyaslanması.....	125
Çizelge 4.12. Sağlıklı kontrollerde yaşa göre yapılan serum düzeyleri kıyaslanması.	126
Çizelge 4.13. Sağlıklı kontrollerde vücut kitle indeksine göre yapılan serum düzeyleri kıyaslanması.....	127
Çizelge 4.14. Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	128
Çizelge 4.15. Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	129
Çizelge 4.16. Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	129
Çizelge 4.17. Sağlıklı kontrollerde ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	130
Çizelge 4.18. Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	130
Çizelge 4.19. Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	130
Çizelge 4.20. Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1,eNOS ve NO düzeyleri.....	131
Çizelge 4.21. Sağlıklı kontrollerde AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	131
Çizelge 4.22. Gliom hastalarında AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	132
Çizelge 4.23. Gliom hastalarında AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	132
Çizelge 4.24. Gliom hastalarında AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	133

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.25. Sağlıklı kontrollerde AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	133
Çizelge 4.26. Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	133
Çizelge 4.27. Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	134
Çizelge 4.28. Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	134
Çizelge 4.29. Sağlıklı kontrollerde VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	135
Çizelge 4.30. Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	135
Çizelge 4.31. Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	136
Çizelge 4.32. Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	136
Çizelge 4.33. Sağlıklı kontrollerde VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri.....	137
Çizelge 4.34. Gliom hastalarında, tümör evresine göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi.....	137
Çizelge 4.35. Gliom hastalarında, tümör evresine göre doku parametrelerinin değerlendirilmesi.....	138
Çizelge 4.36. Gliom hastalarında, serum ve doku ölçümleri arasındaki korelasyonlar.....	141
Çizelge 4.37. Gliom hastalarında, gen ekspresyonları arasındaki korelasyonlar.....	142
Çizelge 4.38. Kontrol grubunda, serum ölçümleri arasındaki korelasyonlar.....	142

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Beynin yapısı.....	7
Şekil 2.2. Nöron.....	8
Şekil 2.3. Glial destek dokusunu oluşturan hücre tipleri ve yerleşimleri.....	8
Şekil 2.4. Beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerinde yaşa bağlı yeni olgu yüzdeleri (NCI, 2019).....	15
Şekil 2.5. Beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerinde yaşa bağlı ölüm oranları (NCI, 2019) .....	16
Şekil 2.6. Diffüz gliomların histolojik ve genetik özellikleri bakımından sınıflandırılması (Louis ve diğerleri, 2016).....	29
Şekil 2.7. Tümör anjiyojenezi (Nishida, Yano, Nishida, Kamura ve Kojiro, 2006)....	39
Şekil 2.8. ADE'nin rol aldığı reaksiyonlar.....	42
Şekil 2.9. ADE'nin üç boyutlu yapısı .....	42
Şekil 2.10. ADE geni 16. intron ve I/D polimorfizmi (Carluccio, Soccio ve De Caterina, 2001).....	43
Şekil 2.11. Anjiyotensin II Tip I reseptörü.....	45
Şekil 2.12. VEGF'nin üç boyutlu yapısı.....	47
Şekil 2.13. VEGF geni lokalizasyonu (Tischer ve diğerleri, 1991).....	48
Şekil 2.14. Endotelin-1'in sentezi (Masaki, 2004).....	49
Şekil 2.15. Endotelinlerin moleküler yapıları (Tamirisa, Frishman ve Kumar, 1995)..	50
Şekil 2.16. NO'nun yapısı.....	51
Şekil 2.17. NO sentezi ve NOS izoformları (Castle, 2005).....	52
Şekil 3.1. Örnek toplama protokolü .....	59
Şekil 3.2. Serum/doku ADE kalibrasyon grafiği .....	72
Şekil 3.3. Serum/doku VEGF kalibrasyon grafiği .....	75
Şekil 3.4. Serum/doku ET-1 tayini için kalibrasyon grafiği .....	77
Şekil 3.5. Serum/doku eNOS tayini için kalibrasyon grafiği .....	80

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 3.6. Nitratın nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenmesi.....	82
Şekil 3.7. Griess reaksiyonu.....	82
Şekil 3.8. Serum ve doku NO tayini için kalibrasyon grafiği.....	84
Şekil 4.1. AGTR1 geni -825. pozisyonda T aleli-A aleli taşıyan hasta ve kontrollere ait örnek DNA dizi analizi kromatogramları.....	101
Şekil 4.2. CLC Sequence Viewer 8.0 programında AGTR1 -825T/A polimorfizmi için 2 hasta ve 2 kontrole ait alelin belirlenmesi.....	102
Şekil 4.3. Kontrol ve gliom grubunun serum ADE konsantrasyonları.....	112
Şekil 4.4. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda ADE konsantrasyonları.....	112
Şekil 4.5. Kontrol ve gliom grubunun göreceli ADE gen ekspresyonları.....	112
Şekil 4.6. Kontrol ve gliom grubunun göreceli AGTR1 gen ekspresyonları.....	113
Şekil 4.7. Kontrol ve gliom grubunun serum VEGF konsantrasyonları.....	114
Şekil 4.8. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda VEGF konsantrasyonları.....	114
Şekil 4.9. Kontrol ve gliom grubunun göreceli VEGF gen ekspresyonları.....	114
Şekil 4.10. Kontrol ve gliom grubunun serum ET-1 konsantrasyonları.....	115
Şekil 4.11. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda ET-1 konsantrasyonları.....	115
Şekil 4.12. Kontrol ve gliom grubunun serum eNOS konsantrasyonları.....	116
Şekil 4.13. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda eNOS konsantrasyonları.....	116
Şekil 4.14. Kontrol ve gliom grubunun serum NO konsantrasyonları.....	117
Şekil 4.15. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda NO konsantrasyonları.....	117



## RESİMLERİN LİSTESİ

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 3.1. Kontrol grubuna ait örnek DNA izolasyon görüntüsü.....	62
Resim 3.2. Hasta grubuna ait örnek DNA izolasyon görüntüsü.....	62
Resim 3.3. ADE geninde Touchdown PZR (67 °C-58 °C) bant profilleri (M: Markır, K1, K2: Kontrol Örnekleri, H1: Hasta Örneği).....	64
Resim 3.4. Primerlerin optimizasyonu, Touchdown PZR (68 °C-59 °C) bant profilleri (M: Markır, K1-K12: Kontrol Örnekleri, H1-H6: Hasta Örnekleri, NK: Negatif Kontrol).....	65
Resim 4.1. ADE I/D polimorfizmde hasta grubuna ait PZR sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	89
Resim 4.2. ADE I/D polimorfizmde kontrol grubuna ait PZR sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	90
Resim 4.3. AGTR1 -168A/G polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	92
Resim 4.4. AGTR1 -168A/G polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	94
Resim 4.5. AGTR1 -535C/T polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	96
Resim 4.6. AGTR1 -535C/T polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	97
Resim 4.7. AGTR1 -825T/A polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	99
Resim 4.8. VEGF +936C/T polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	104
Resim 4.9. VEGF +936C/T polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	105
Resim 4.10. VEGF -2578C/A polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	107
Resim 4.11. VEGF -2578C/A polimorfizmde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol).....	109

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklamalar</b>
<b>bç</b>	Baz çifti
<b>dk</b>	Dakika
<b>kDA</b>	Kilodalton
<b>mL</b>	Mililitre
<b>ng</b>	Nanogram
<b>pg</b>	Pikogram
<b>µmol</b>	Mikromol
<b>sn</b>	Saniye
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklamalar</b>
<b>ADE</b>	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
<b>AGTR1</b>	Anjiyotensin-II Tip 1 Reseptörü (Angiotensin-II Receptor Type 1)
<b>AGTR2</b>	Anjiyotensin-II Tip 2 Reseptörü (Angiotensin-II Receptor Type 2)
<b>BCC</b>	Bazal Hücre Karsinomu (Basal Cell Carcinoma)
<b>BOS</b>	Beyin Omurilik Sıvısı
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>cDNA</b>	Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
<b>CRC</b>	Kolorektal Kanser (Colorectal Cancer)
<b>DIPG</b>	Diffüz İntrinsik Pontin Gliom (Diffuse Intrinsic Pontine Glioma)
<b>DMG</b>	Diffüz Ortahat Gliom (Diffuse Midline Glioma)
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DNET</b>	Disembriyoplastik Nöroepitelyal Tümör (Dysembryoplastic Neuroepithelial Tumor)
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>EDTA</b>	Etilendiamin Tetraasetik Asit

**Kısaltmalar****EGF****Açıklamalar**

Epidermal Büyüme Faktörü

(Epidermal Growth Factor)

**EGFR**

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

(Epidermal Growth Factor Receptor)

**ELISA**

Enzime Bağlı İmmünosorban Yöntem

(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

**eNOS**

Endotelial Nitrik Oksit Sentaz

**ESM**

Ekstraselüler Matriks

**ET-1**

Endotelin-1

**ET-2**

Endotelin-2

**ET-3**

Endotelin-3

**ET<sub>A</sub>**

Endotelin Reseptör-A

**ET<sub>B</sub>**

Endotelin Reseptör-B

**EtBr**

Etidyum Bromür

**EtOH**

Etanol

**GBM**

Glioblastom Multifom

**GFAP**

Glial Fibriler Asidik Protein

**GZ-PZR**

Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**I/D**

İnsersiyon/Delesyon

**IDH**

İzositrat Dehidrojenaz

**KBB**

Kan Beyin Bariyeri

**MAPK**

Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz

**MGMT**

O6-Metilguanin-DNA Metiltransferaz

**MMP**

Matriks Metalloproteinaz

**MR**

Manyetik Rezonanslı Görüntüleme

**MSS**

Merkezi Sinir Sistemi

**NBCS**

Ulusal Beyin Kanseri Birliği

(National Brain Cancer Society)

**NCBI**

Ulusal Biyoteknoloji Merkezi Bilgi

(National Center for Biotechnology Information)

**NCI**

Ulusal Kanser Enstitüsü

(National Cancer Institute)

**NEDD**

N-(1-naftil)etilendiamin

**Kısaltmalar****NK****NO****NOS****PDGF****PA****PI3K****PIGF****PKC****PSS****PTEN****PXA****PZR****RAS****RB****RE****RFLP****RNA****SCC****SEGA****SNP****TBE****TERT****TGF- $\alpha$** **TP53****Açıklamalar**

Negatif Kontrol

Nitrik Oksit

Tanımlanmamış

Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü  
(Platelet Derived Growth Factor)

Plazmin Aktivatörü

Fosfo-İnozitol 3-Kinaz

Plasental Büyüme Faktörü  
(Placental Growth Factor)

Protein Kinaz C

Periferel Sinir Sistemi

Fosfataz ve Tensin Homoloğu

Pleomorfik Ksantoastrocitom  
(Pleomorphic Xanthoastrocytoma)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Retinoblastoma

Restriksiyon Endonükleazlar

Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi  
(Restriction Fragment Length Polymorphism)

Ribo Nükleik Asit

Skvamöz hücreli karsinom  
(Squamous Cell Carcinoma)Subependimal Dev Hücreli Astrocitom  
(Subependymal Giant Cell Astrocytoma)Tek Nükleotit Polimorfizmi  
(Single Nucleotide Polymorphism)

Tris-Borat-EDTA

Telomeraz Ters Transkriptaz

Transforme Edici Büyüme Faktörü-Alfa  
(Transforming Growth Factor-alpha)

Tümör Protein53

**Kısaltmalar****VEGF****VKI****UBC****UTR****Açıklamalar**

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü  
(Vascular Endothelial Growth Factor)

Vücut Kitle İndeksleri

Ürotelyal Mesane Kanseri  
(Urothelial Bladder Cancer)

Kodlanmayan bölge  
Untranslated Region



## 1. GİRİŞ

Çağımızın en önemli sağlık problemlerinden birisi olarak bilinen kanser, ölümlerle sonuçlanma oranının yüksek olması nedeni ile önemi giderek artan bir hastalıktır. Kanser ölüm nedenleri arasında, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir (Allen ve diğerleri, 2005: 25). Her yaşta görülebilen bir hastalık olmakla birlikte yaş ilerledikçe görülme sıklığı da artış göstermektedir (Lawrence, Stephen ve Maxine, 2005: 3683; Schulz, 2005: 1-18).

Kanser, bazı çevresel ve/veya kalıtsal etkilerle değişime uğramış hücrelerin, gerek yerel, gerekse uzak noktalarda kontrolsüz bir şekilde çoğalıp büyümeleri sonucu oluşan habis hastalık grubudur (Mills, 2002: 1-6). Kanser hücreleri, ilk etapta yüzeylerindeki reseptör sayılarını arttırarak, hücreye gelen her sinyale cevap vererek, sürekli bölünmek suretiyle sayıca çoğalabilme eğilimindedirler. Bu hücreler, tam anlamıyla büyüme gösteremedikleri gibi üremelerini de durdurmazlar. Aksine, genç hücreler olarak kalırlar ve vücut için zararlı hale gelinceye kadar da çoğalmaya devam ederler. Zamanla o kadar çok artarlar ki, vücudun bu kesimindeki normal hücreler devamlı çalışma özelliğini ve hatta hayatta kalma şanslarını kaybederler (Şenel ve Çırakoğlu, 2003: 2).

Son çalışmalara göre, yıllar içerisinde Merkezi sinir sistemi (MSS) tümörlerinin sıklığında hızlı bir artış olduğu görülmektedir (Blumenthal ve Schulman, 2005; Lee, Jung, Yoo, Park ve Lee, 2010). MSS patolojileri içerisinde en tehlikeli ve en yıkıcı olanlarından birisi beyin tümörüdür. Kafatası kemikleri, beyin zarı ve beyin omurilik sıvısı (BOS) tarafından korunan beyinde, normal hücre yapısının zaman içerisinde çeşitli nedenlerle anormal özellikler kazanarak kontrol dışı büyümesi ile beyin tümörleri oluşmaktadır. Beyin tümörleri, ölümlerle sonuçlanan kanserler sıralamasında 10. sırada, 20–39 yaş arasındaki kadınlarda ise 5. sırada yer almaktadır. Ayrıca beyin tümörleri 20 yaş altındaki çocuklarda solid tümör sebepli ölümlerin lösemi ile birlikte en temel sebebini oluşturmaktadır (Jemal ve diğerleri, 2005). ABD Ulusal Beyin Kanseri Birliği (National Brain Tumor Society (NBCS)) 2018 yılı verilerine göre, Amerikada, 483 700 kişi iyi huylu, 216 300 kişi ise kötü huylu olmak üzere toplam 700 000 kişi beyin tümörü tanısı almıştır ve 2019 yılı içerisinde de yaklaşık 86 970 yeni primer beyin tümörü vakası teşhis edileceği öngörülmüştür.

Beyin tümörlerinin etiyolojisindeki farklılıklar yaş, tümörün olduğu bölge ve tümör histolojisinden kaynaklanmaktadır. Genellikle, erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranda (yaklaşık % 40) primer beyin tümörü gözlenmektedir (Surawicz, Davis, Freels, Laws ve Menck, 1998). 2016 yılına ait Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) MSS tümörleri sınıflandırması dikkate alındığında (Louis ve diğerleri, 2016), gliomlar, MSS'nin en yaygın primer tümörleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Jemal ve diğerleri, 2009). Gliomlar, sinir destek dokusunun, yani glia hücrelerinin sebebi henüz bilinmeyen bir etmenle değişikliğe uğramaları ve kontrolsüz çoğalmaları sebebiyle oluşmaktadırlar. Gliom hücreleri, nöronlar, kan damarları, kan beyin bariyeri (KBB) ve BOS arasında bir ara yüzey oluştururlar. 60'lı yaşlarda insidanstaki artışla birlikte MSS tümörlerinin % 40'ından fazlasına neden olmaktadır (Kleihues, Soylemezoglu, Schauble, Scheithauer ve Burger, 1995). Gliomların moleküler patojenezinin karakterizasyonundaki gelişmelere rağmen bu tümörler tedavisiz kalmıştır (Lian, Jiang, Wang ve Guo, 2015). Gliomlar, DSÖ'nün 2016 yılı MSS tümörleri içerisindeki sınıflandırmada 5 farklı gruba ayrılmış olup kökenlerindeki varsayılan hücre tiplerine göre adlandırılmaktadırlar.

Glia hücreleri içerisinde sayıca en fazla olan hücre tipi astrositlerdir. Sayılarının fazla olmasının bir nedeni de görev çeşitlerinin fazla olmasıdır. Astrosit hücrelerinin görevleri arasında, KBB'ye katkıda bulunma, sinaps düzeyinde destek sağlama ve kılcal damarlar ile beyin parankimini birbirine bağlama sayılmaktadır (Blackburn, Sargsyan, Monk ve Shaw, 2009). Astrosit hücrelerinden köken alan, beyin tümörlerinin çoğunluğunu oluşturan astrositomlara, MSS'de sıkça rastlanmaktadır (Kleihues ve Ohgaki, 2000). Astrositomlar lokalizasyonu, yaş ve cinsiyet dağılımı, büyüme potansiyeli, morfolojik özellikleri, progresyon eğilimleri ve klinik seyirleri farklılıklar sergileyen tümörlerdir. Yaygın kromozomal değişimlerden, çeşitli genlerin ekspresyonları ve/veya fonksiyonlarındaki değişikliklerden kaynaklandıkları gözlenmiştir (Hill, Kuriyama, Kuriyama ve Israel, 1999).

Oligodendrogliom, santral sinir hücrelerinin aksonlarını çevreleyen lipitleri üreten hücreler olan oligodendrositlerden gelişmektedir. Bu tip bir tümör normal koşullarda çoğunlukla supratentorial alanda ortaya çıkmakta ve çocuklara nazaran erişkinlerde ve kadınlara kıyasla erkeklerde daha yaygın olarak görülmektedir. Oligodendrogliomlar, tüm glial tümörlerin % 5-12'sini ve tüm intrakraniyal tümörlerin % 5-7'sini oluşturmaktadır. Oligodendrogliomlar klinik olarak astrositomlara göre daha az agresif olmalarına rağmen

invazivdirler ve serebrospinal sıvı içinden geçebilirler. Metastaz yapma kapasiteleri vardır ve genellikle cerrahi olarak alınmaları daha zordur (Ironsides, Moss ve Louis, 2002: 1-16).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, beyin tümörlerine yatkınlık oluşturan veya daha agresif seyretmelerini sağlayan, çevresel faktörlerin de etkileri ile ortaya çıkan yaygın polimorfizmlere yönelmiştir. Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi sıkça araştırılan Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) gen polimorfizmi, gerek kanser patojenezi ve gerekse metastaz ve anjiyojenez ile olan ilişkisi bakımından kanser araştırmaları için odak noktası olmuştur.

ADE, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAS)'nde önemli bir enzimdir. Bir glikoprotein (dipeptit karboksipeptidaz) olan ADE, endotel hücrelerde, akciğerlerde ve plazmada bulunmaktadır (Pehlivan ve diğerleri, 2008). Vasküler endotel hücreler tarafından sentezlenen ADE, sınıf-1 integral ektoenzim olarak plazma membranında eksprese edilmektedir (Baudin, Berard, Carrier, Legrand ve Drouet, 1997). RAS'ta önemli bir enzim olan ADE, Anjiyotensin I'in fizyolojik olarak aktif formu olan oktapeptit yapıdaki Anjiyotensin II'ye çevrilmesinde görev almaktadır (Zalata, Morsy, Badawy Ael, Elhanbly ve Mostafa, 2012). Anjiyotensin II, adrenal korteksten aldosteron sekresyonunu uyarmakta ve sıvı-elektrolit dengesi ile sistemik kan basıncının düzenlenmesinde kuvvetli bir vazokonstriktör olarak görev yapmaktadır (Turgut, 2005).

İnsan ADE geni kromozom 17q23'de lokalizedir (Rigat ve diğerleri, 1990). ADE geni toplamda 26 ekzon ve 25 intron bölgesinden oluşmaktadır (Zalata ve diğerleri, 2012). İnsan ADE geninin intron 16 bölgesinde polimorfik İnsersiyon/Delesyon (I/D) değişkenliğinin olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir ve I alelinde fazladan bir 287 bp'lik bir parçanın olduğu saptanmıştır (Baudin ve diğerleri, 1997; Kaysuya, Horiuchi, Koike ve Dzau, 1995; Prasad, Narayanan, Waclawiw, Epstein ve Quyyumi, 2000; Rieder, Taylor, Clark ve Nickerson, 1999; Rigat ve diğerleri, 1990). 78 çeşit polimorfizm saptanan (Baudin, 2002) ADE geninin inflamasyon, tümör hücre proliferasyonu, hücre adezyonu, migrasyon, anjiyojenez ve metastazda önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Çeşitli kanser türlerinde ADE I/D polimorfizmi ile kanser patojenezi arasındaki ilişki olduğu bildirilmektedir (Liu, Sima, Wang ve Gao, 2011; Yapıjakis ve diğerleri, 2013). ADE'nin tümör hücre proliferasyonundaki ve metastazdaki olası rolünü,



Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGF) üretimi yoluyla yaptığı bildirilmektedir (Uemura ve diğerleri, 2003).

Anjiyotensin II'nin, Anjiyotensin II Tip I Reseptör (AGTR1, 360 aminoasit) ve Anjiyotensin II Tip II Reseptör (AGTR2, 360 aminoasit) olarak adlandırılan 2 alt tip reseptörü bulunmaktadır. AGTR1 reseptörleri vazokonstrüksiyon, aldosteron salgılanması ve kalp kontraktilesi gibi Anjiyotensin II'nin temel etkilerini düzenlerken, AGTR2 reseptörlerinin fizyolojik önemi ise henüz aydınlatılamamıştır. Xi ve diğerlerinin 2011 yılında yaptığı çalışma ile AGTR1 polimorfizminin meme kanseri patojeneziyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Quyang ve diğerleri (2011) benign adrenal tümörlü hastalarda yaptıkları çalışmada AGTR1 ve AGTR2 reseptörlerinin tümör riski ile ilişkili olduğu bildirmişlerdir.

Homodimerik yapılı bir glikoprotein olan VEGF kanser hücreleri tarafından vaskülarizasyon için salınan en aktif ve en önemli proanjiyojenik faktördür. VEGF gen ailesinin içerisinde VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve plasental büyüme faktörü (PIGF) yer almaktadır (Carmeliet ve diğerleri, 2001). VEGF-A, normal embriyonik ve erişkin dokularda yüksek düzeylerde eksprese edilmemesine rağmen, tümör anjiyojenezinde aktivite göstermektedir (Ferrara, Gerber ve LeCouter, 2003). VEGF anjiyojenezde; NO salınımını indükleyerek damar geçirgenliğini, bazal membran ve matriks yıkımını artırmaktadır. Anjiyopoetinler aracılığıyla endotel hücrelerin farklılaşmasında ve olgunlaşmalarında rol oynamaktadır (Saaristo, Karpanen ve Alitalo, 2000).

İnsan VEGF geni kromozom 6p21.3'te lokalize olup 7 intron ile ayrılan 8 ekzonun alternatif değişimleri ile oluşmaktadır (Broll ve diğerleri, 2001). VEGF geni, en az 25 farklı polimorfizm içeren oldukça polimorfik bir gendir (Brogan ve diğerleri, 1999; Watson, Webb, Bottomley ve Brenchley, 2000). VEGF'nin çeşitli pozisyonlarındaki fonksiyonel polimorfizmlerinin kanser gelişimine katkıda bulunabileceğini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Çin popülasyonu ile yapılan bir çalışmada, VEGF genine ait üç bölgedeki polimorfizm incelenmiş ve VEGF -634G/C ve +936C/T gen polimorfizmlerinin meme kanseri riski ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Çalışmada, +936. pozisyonda TT genotipi taşıyan kadınların, hastalığa karşı koruyucu etkiye sahip oldukları bildirilmiştir (Luo ve diğerleri, 2013). Brito ve diğerleri (2014) tarafından gerçekleştirilen diğer bir

çalışmada ise, VEGF -2578 CC, VEGF -2578 CC ile VEGF -634 GG, VEGF -2578 CC ile VEGF -1154 GG ve VEGF -634 GG genotiplerini taşıyan hastalarda, sırasıyla sağlıklı kontrollere göre 1,89, 5,52, ve 4,91 kat artmış multiple myeloma riski olduğu bildirilmiştir. 2014 yılında yapılan bir başka çalışmada, VEGF -1154G/A gen polimorfizminin, bazal hücre karsinoma sahip hastalardaki insidansı ile ilişkisi incelenmiştir. VEGF -1154 gen polimorfizmindeki G alelinin varlığının artmış Bazal Hücre Karsinom (BCC) riskine işaret ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, AA genotipi taşıyanların hastalığa yakalanma riskinin de önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Sobjanek ve diğerleri, 2014).

Sistemik kan basıncının düzenlenmesinde rol alan NO, VEGF ile indüklenen anjiyojenez ve aşırıgeçirgenlikle hayati bir role sahiptir. VEGF, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enziminin regülasyonunun artmasına bağlı olarak nitrik oksit (NO) sentezini indüklemektedir. Endojen olarak üretilen NO de VEGF sentezini arttırmaktadır. eNOS'un farmakolojik inhibisyonu ya da genetik olarak bozukluğa uğraması VEGF ile indüklenmiş anjiyojenez ve aşırıgeçirgenliği inhibe etmektedir (Fukumura ve diğerleri, 2001). eNOS inhibisyonu ya da eksikliği, oksijenle indüklenen neovaskülarizasyonu azaltmaktadır (Brooks ve diğerleri, 2001).

Endotelinler, 21 amino asitten oluşan peptidlerdir. En fazla endotel hücrelerde olmak üzere kalp, böbrek, sinir hücreleri ve glial hücrelerde de bulunurlar (Takahashi ve diğerleri, 1989; Nyborg, Prieto, Benedito ve Nielsen, 1991). Damarların homeostazının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan endotelinlerin, Endotelin-1 (ET-1), Endotelin-2 (ET-2) ve Endotelin-3 (ET-3) olarak adlandırılan 3 farklı izoformu bulunmaktadır (Fagan, McMurtry ve Rodman, 2001; Henriques, 2013: 1). ET-1 konsantrasyonunun pek çok tümörde yükseldiği gösterilmiştir (Salani ve diğerleri, 2000; Levin, 1995). Vasküler düz kas ve endotel hücrelerde sentezlenen ve potent bir vazokonstriktör olan ET-1, etkisini G protein kenetli reseptörler olan Endotelin Reseptör-A (ET<sub>A</sub>) ve Endotelin Reseptör-B (ET<sub>B</sub>)'ye bağlanarak göstermektedir (Galie, Manes ve Branzi, 2004; Pernow, Shemyakin ve Bohm, 2012). ET-1, endotel hücrelerin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyardığı (Goligorsky, Budzikowski, Tsukahara ve Noiri, 1999; Morbidelli, Orlando, Maggi, Ledda ve Ziche, 1995) ve tümör hücreleri için güçlü bir mitojen olduğu için (Alberts, Peifley, Johns, Kleha ve Winkles, 1994; Bagnato ve Catt, 1998), bu peptidin anjiyojenez tetiklediği düşünülmektedir (Kaur ve diğerleri, 2005; Salani ve diğerleri, 2000). Bagnato

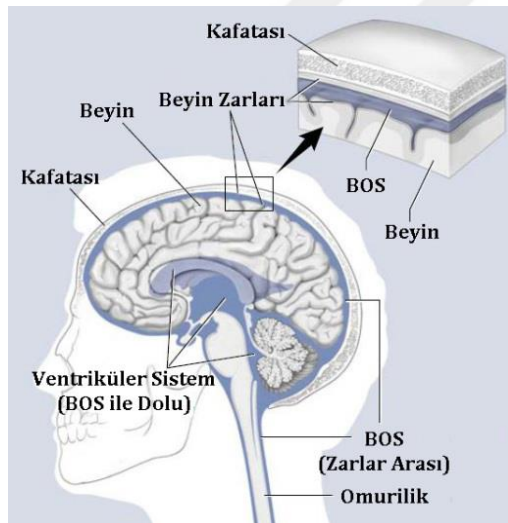
ve diğerlerinin (1999) yılında yaptığı bir çalışmada, sağlıklı over dokusuna kıyasla, over tümöründe ET-1 ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir.

Kanser tedavi yaklaşımları üzerinde sayısız çalışma yapılmasına rağmen, evre II'deki gliomların evre III-IV'e ilerlemesi ve evre III-IV'deki gliomların agresifliği ile hasta sağkalım süresinin kısa olması nedeniyle tedaviye yönelik önemli bir aşama kaydedilememiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, kanserin moleküler mekanizmalarının anlaşılabilmesi temelinde kurgulanmış olup kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları üzerinde durulmaktadır. Çeşitli kanser türlerinde farklı ADE düzeylerinin eksprese edildiği ve deneysel çalışmalarda ADE inhibitörlerinin tümör büyümesini azalttığı gösterilmiştir (Asgharzadeh, Hassanian, Ferns, Khazaei ve Hasanzadeh, 2018). Bu bağlamda araştırmalar ADE ve ADE reseptörü gen polimorfizmleri ile kanser insidansı ve ilerlemesi arasındaki olası ilişkiye doğru yönlendirilmiştir. Literatürde, gliomda tümör oluşumunda etkisi olduğu düşünülen genetik polimorfizmlerden ADE polimorfizmi ile ADE reseptörü AGTR1 polimorfizminin birlikte araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bilgiler ışığında bu tez kapsamında, ADE I/D, AGTR1 geni -168A/G, -535C/T, -825T/A; VEGF geni +936C/T ve -2578C/A bölgelerindeki polimorfizmlerin tayin edilmesi ve gliom moleküler patojenezi, polimorfizm ve anjiyojenik üçgeni arasındaki olası ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Anjiyojenik parametreler olan ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO'nun doku ve serum düzeylerinin birlikte değerlendirilmesi ve tümör evresi ile ilişkisinin araştırılması sebebiyle bu çalışmanın gliom tedavisini konu alan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

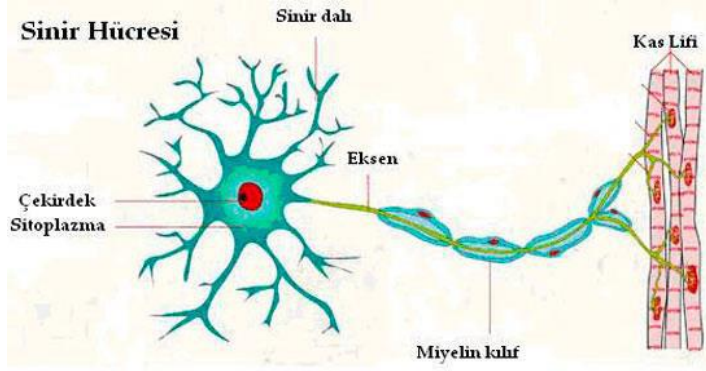
### 2.1. Beynin Yapısı

Omurilik ile beraber MSS'nin bir üyesi olan beyin, sinirsel iletinin yönetim merkezidir. MSS ile diğer tüm organlar ve dokular arasında nöronların oluşturduğu bir iletişim ağı bulunmaktadır. Yetişkin bir insanda ortalama yüz milyar nöron olduğu tahmin edilmektedir. Beyin, bu iletişim ağı sayesinde vücuttaki tüm hareketleri ve değişimleri kontrolü altında tutmaktadır. Vücuttaki mevcut görevleri ve önemi sebebiyle beyin diğer organlardan farklı olarak çeşitli koruma mekanizmalarına sahiptir. Güçlü bir kemik dokusu olan kafatası beyni en dıştan sararak darbelere karşı korunmaktadır. Kafatasının altında bulunan ve beyni saran beyin zarları ise tampon görevi görmektedir. Ayrıca tüm MSS üyeleri BOS denilen özel bir sıvı ile doludur (Brodal, 2004). Beynin yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



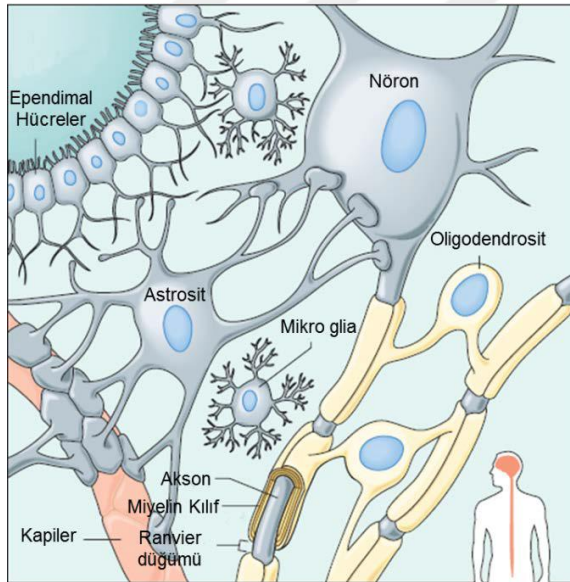
Şekil 2.1. Beynin yapısı

Sinir sistemi hücreleri histolojik açıdan değerlendirildiğinde nöron ve nöroglial hücreleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Sinir sisteminin fonksiyonel üniteleri olarak rol alan nöronlar (Şekil 2.2), tüm sinirsel iletimden sorumludur. Hücre gövdesi (korpus), akson, dendritler ve sinaptik uçlar olmak üzere dört kısımdan oluşan nöronlarda, sinirsel iletinin algılandığı kısım dendrit, iletimin sağlandığı kısım ise aksonlardır. Hücre gövdesi; hücre sıvısı, hücre çekirdeği ve hücre zarından oluşmaktadır. Hücre çekirdeğinin temel görevi, hücrenin şeklini belirlemektir (Brodal, 2004).



Şekil 2.2. Nöron

Nöroglialar ise sinir sisteminin yardımcı elemanları rolünü üstlenmektedirler. İnsan beyninin büyük bir kısmı nöroglia hücrelerinden oluşmaktadır. Nöroglia hücreleri gerek görevleri gerekse yapıları dikkate alındığında çok farklı tipte olabilmektedirler. Bu hücreler bir nöronun etrafını sararlar. Astrositler, oligodendrositler, ependimal hücreler, Schwann hücreleri, radiaglial hücreler ve mikroglial hücreler, nöroglia hücreleri grubuna girmektedirler (Şekil 2.3). Her bir hücre şekil ve görev bakımından MSS'nin farklı ihtiyaçlarına cevap vermektedir (Brodal, 2004).



Şekil 2.3. Glial destek dokusunu oluşturan hücre tipleri ve yerleşimleri

MSS'de en fazla bulunan glial hücre tipi astrositlerdir. Yapısal olarak şekilleri yıldız biçiminde olan bu glial hücrelerin görevleri arasında nöronlara besin sağlama, yapısal destek sağlama ve iyon dengesini kurma sayılabilir. Astrositlerin bir diğer önemli görevi ise endotel hücrelere destek olarak KBB bütünlüğünü sağlamaktır. Oligodendrositler MSS

nöronlarının akson kısmını sararak miyelin kılıf oluşturma görevini üstlenirler. Miyelin kılıf ile sinirsel iletimin hızının artması sağlanmaktadır. Schwann hücreleri ise aynı görevi Periferel sinir sistemi (PSS) (Schattenkerk ve diğerleri, 1980) nöronları için yapmaktadır. Ependimal hücrelerin başlıca görevi beynin ventriküler sistemini ve omuriliği saran ince bir membran olan ependimayı oluşturmaktır. Radiogial hücreler, embriyonik dönemde MSS'nin gelişmesinde anahtar rol oynayan hücrelerdir. Mikrogliaların görevi ise, patojenik durumlarda makrofaj rolü üstlenerek bazı gereksiz maddeleri ve ölü nöronları yok etmek ve MSS'yi korumaktır (Shier, Butleri ve Lewis, 2012; Brodal, 2004).

## 2.2. MSS Tümörleri

Bir tümörün biyolojik davranışının belirlenebilmesi için, histolojik olarak sınıflandırılması ve evrelendirilmesi gerekmektedir. MSS tümörlerinin sınıflandırılmasında esas alınan noktalar, tümörün yerleşim yeri, davranışı ve histopatolojik özellikleridir.

Hem prognoz tahmini, hem de tedavi seçeneklerinin ve tedaviye yanıtın değerlendirilebilmesi açısından tutarlı ve kabul gören bir sınıflandırma nöronkolojide önemlidir. Bu sebeple, yirminci yüzyılın başlarından itibaren birçok kez tümör sınıflandırması yapılmış ve gelişen teknoloji ile bu sınıflandırmalar yeni bulgular ışığında yeniden düzenlenmiştir. Günümüzde doğru tanıyı ve buna bağlı olarak uygulanacak en uygun tedavi yöntemini seçmeye olanak sağlayan, güvenilirliği kesinleşmiş bir sınıflandırmadan söz etmek mümkün değildir. Ancak mevcut sınıflandırmalar içerisinde MSS tümörlerine ait, herkes tarafından kabul görmüş olan sınıflandırma DSÖ tarafından 2016 yılında yapılan sınıflandırmadır (Çizelge 2.1) (Louis ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, yaygın veya nadir olarak görülen beyin tümörlerinde karsinogenin genetik temelini açığa çıkarmıştır ve böyle bir yaklaşım beyin tümörlerinin sınıflandırılmasına katkıda bulunmuştur. DSÖ'nün 2016 yılı MSS tümörleri sınıflandırmasında tümörlerin fenotipik özelliklerinin yanı sıra genotipik özellikleri de dikkate alınarak, 2007 yılı sınıflandırmasında güncellemeler yapılmıştır. 2007 sınıflandırılmasında, tüm astrositik ve oligodendrogial tümörler, astrositik tümörlerin klinik olarak benzer ya da farklı özellik gösterip göstermediğine bakılmaksızın sınıflandırılmışlardır. 2016 yılı sınıflandırmasında diffüz yayılım özelliği gösteren ve

DSÖ evre I haricindeki tüm astrositik ve oligodendroglial tümörler bir grupta toplanmış, diffüz yayılım özelliği göstermeyen evre I-II-III diğer astrositik tümörler ayrı olarak gruplandırılmışlardır.

Daha önceki sınıflandırmalarda astrositik ve oligodendroglial fenotipik özelliklerin birlikte görüldüğü tümörlerin “oligoastroitom” olarak sınıflandırıldığı görülmektedir. İlerleyen zamanda yapılan moleküler çalışmalarla, fenotipik özelliklerin yanısıra izositrat dehidrojenaz (IDH) (Hiller ve diğerleri, 2002) ve 1p/19q kodelesyon durumu gibi genotipik özellikler birlikte değerlendirildiğinde, daha önce “oligoastroitom” olarak sınıflandırılmış tümörlerin tamamına yakınının aslında ya astroitom ya da oligodendroglion olduğu anlaşılmıştır. Genotipik olarak gerçek oligoastroitomların oldukça nadir olduğu bildirilmektedir (Louis ve diğerleri, 2016). Bu nedenle 2016 sınıflandırmasında oligoastroitom ve anaplastik oligoastroitom tanıları ancak moleküler tanı yöntemlerinin kullanılmadığı durumlarda “NOS” kategorisinde bulunmaktadır. Fenotipik özelliklerin genotipik özelliklerle çelişmesi durumunda ise, sınıflandırmanın genotipik özelliklerin gösterdiği yönde yapıldığı görülmektedir. Ancak mutlak tanının yalnızca genotipik özelliklerle konulması da şu aşamada mümkün görülmemektedir.

Tümör evrelendirmesi halen histolojik özellikler esas alınarak yapılmaktadır. Ancak Louis ve diğerleri (2016) ilerleyen yıllarda tümör biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla birlikte histolojinin giderek daha az kullanılacağını ve moleküler analizin mutlak tanıda esas olacağını öngörmektedirler.

Çizelge 2.1. MSS tümörleri sınıflandırması (Louis ve diğerleri, 2016)

<b>DSÖ MSS Tümörleri Sınıflandırması</b>			
<b>Diffüz Astroitik ve Oligodendrogial Tümörler</b>	<b>TK</b>	<b>Nöronal ve Mikst Nöronal Glial Tümörler</b>	<b>TK</b>
Diffüz Astroitom, IDH-Mutant	3	Disembriyoplastik Nöroepitelyal Tümör	0
Gemistositik Astroitom, IDH-Mutant	3	Gangliositom	0
Diffüz Astroitom, IDH-Mutant Olmayan	3	Gangliogliom	1
Diffüz Astroitom, NOS (tanımlanmamış)	3	Anaplastik Gangliogliom	3
Anaplastik Astroitom, IDH-Mutant	3	Displastik Serebellar Gangliositom (Lhermitte-Duclos Hastalığı)	0
Anaplastik Astroitom, IDH-Mutant Olmayan	3	Desmoplastik İnfantil Astroitom ve Gangliogliom	1
Anaplastik Astroitom, NOS (tanımlanmamış)	3	Papiller Glionöronal Tümör	1
Glioblastom, IDH-Mutant Olmayan	3	Roset Formasyonlu (Şekli) Glionöral Tümör	1
Dev Hücreli Glioblastom	3	Santral Nörositom	1
Gliosarkom	3	Ekstraventriküler Nörositom	1
Epiteloid Glioblastom	3	Serebellar Liponörositom	1
Glioblastom, IDH-Mutant	3	Paragangliom	1
Glioblastom, NOS (tanımlanmamış)	3		
Diffüz Ortahat Gliom, H3 K27M-Mutant	3	<b>Pineal Bölge Tümörleri</b>	
Oligodendrogliom, IDH-Mutant ve 1p/19q-Kayıplı	3	Pineositom	1
Oligodendrogliom, NOS (tanımlanmamış)	3	İntermediyer Diferansiyasyon Gösteren Pineal Parankimal Tümör	3
Anaplastik Oligodendrogliom, IDH-Mutant ve 1p/19q-Kodelesyonlu (kayıplı)	3	Pineoblastom	3
Anaplastik Oligodendrogliom, NOS (tanımlanmamış)	3	Pineal Bölgenin Papiller Tümörü	3
Oligoastroitom, NOS (tanımlanmamış)	3		
Anaplastik Oligoastroitom, NOS (tanımlanmamış)	3	<b>Embriyonal Tümörler</b>	
		Moleküler Özelliklerine Göre Medulloblastomlar	
<b>Diğer Astroitik Tümörler</b>		WNT Yolağı Aktif Medulloblastom	3
Pilositik Astroitom	1	SHH Yolağı Aktif ve TP53-Mutant Medulloblastom	3
Pilomiksoid Astroitom	3	SHH Yolağı Aktif ve TP53-Mutant Olmayan Medulloblastom	3
Subependimal Dev Hücreli Astroitom	1	WNT/SHH Yolağı Aktif Olmayan Medulloblastom	



Çizelge 2.1. (devamı) MSS tümörleri sınıflandırması

Pleomorfik Ksantoastrozitom	3	Medulloblastom, Grup 3	3
		Medulloblastom, Grup 4	3
Anaplastik Pleomorfik Ksantoastrozitom	3	Histolojik Özelliklerine Göre Medulloblastomlar	
		Klasik Medulloblastom	3
<b>Ependimal Tümörler</b>		Desmoplastik / Nodüler Medulloblastom	3
Subependimom	1	İleri Derecede Nodüler Farklılaşma Gösteren Medulloblastom	3
Miksoepitelyom Ependimom	1	Büyük Hücreli / Anaplastik Medulloblastom	3
Ependimom	3	Medulloblastom, NOS (tanımlanmamış)	3
Papiller Ependimom	3	Çok Katmanlı Rozet Oluşturan Embriyonel Tümör, C19MC Geni Değişmiş	3
Şeffaf Hücreli Ependimom	3	Çok Katmanlı Rozet Oluşturan Embriyonel Tümör, NOS (tanımlanmamış)	3
Tanisitik Ependimom	3	Medulloepitelyom	3
Ependimom, RELA Füzyon Gen Pozitif	3	Serebral Nöroblastom	3
Anaplastik Ependimom	3	Serebral Ganglionöroblastom	3
		Serebral Embriyonel Tümör, NOS (tanımlanmamış)	3
<b>Diğer Gliomlar</b>		Atipik Teratoid / Rabdoid Tümör	3
3. Ventrikülün Kordoid Gliomu	1	Rabdoid Morfolojili Serebral Embriyonel Tümör	3
Anjiyosentrik Gliom	1		
Astroblastom	3	<b>Kranial ve Paraspinal Sinir Tümörleri</b>	
		Schwannoma	0
<b>Koroid Pleksus Tümörler</b>		Sellüler schwannoma	0
Koroid Pleksus Papillom	0	Pleksiform schwannoma	0
Atipik Koroid Pleksus Papillom	1	Melanotik schwannoma	1
Koroid Pleksus Karsinom	3	Nörofibroma	0
		Atipik Nörofibroma	0
<b>Menenjiomlar</b>		Pleksiform Nörofibroma	0
Menenjiom	0	Perinöroma	
Menenjiyotelyal Menenjiom	0	Hibrit Sinir Kılıfı Tümörü	
Fibröz Menenjiom	0	Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörü	3
Transisyonel Menenjiom	0	Epiteloid Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörü	3
Psammomatöz Menenjiom	0	Perinöral Farklılık Gösteren Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörü	3

Çizelge 2.1. (devamı) MSS tümörleri sınıflandırması

Anjiyomatöz Menenjiom	0		
Mikrokistik Menenjiom	0	<b>Melanositik Tümörler</b>	
Sekretuar Menenjiom	0	Menanjiyal Melanositozis	0
Lenfoplazmositten Zengin Menenjiom	0	Menanjiyal Melanositoma	1
Metaplastik Menenjiom	0	Menanjiyal Melanoma	3
Kordoid Menenjiom	1	Menanjiyal Melanomatosis	3
Şeffaf Hücreli Menenjiom	1		
Atipik Menenjiom	1	<b>Lenfomalar</b>	
Papiller Menenjiom	3	Diffüz Büyük B-Hücreli MSS Lenfoma	3
Rabdoid Menenjiom	3	İmmün Yetmezlik İlişkili MSS Lenfoma	
Anaplastik (Malign) Menenjiom	3	AIDS İle İlişkili Diffüz Büyük B-Hücreli Lenfoma	
		EBV-Pozitif Diffüz Büyük B-Hücreli Lenfoma, NOS (tanımlanmamış)	
<b>Mezenkimal Meningotelyal Hücre Kökenli Olmayan Tümörler</b>		Lenfomaid Granülopatosis	1
Soliter Fibröz Tümör / Hemanjiyoperisitom		İntravasküler Büyük B-Hücreli Lenfoma	3
Evre I	0	Düşük Evreli B-hücreli MSS Lenfomaları	
Evre II	1	T Hücre ve T Hücre/NK Hücreli MSS Lenfoma	
Evre III	3	Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma, ALK-Pozitif	3
Hemanglioblastom	1	Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma, ALK-Negatif	3
Hemanjiyom	0	Malt Lenfoma	3
Epiteloid Hemanjiyoendotelyom	3		
Anjiyosarkom	3	<b>Histiositik Tümörler</b>	
Kaposi Sarkomu	3	Langerhans Hücreli Histiositozis	3
Ewing Sarkom	3	Erdheim-Chester Hastalığı	1
Lipom	0	Rosai-Dorfman Hastalığı	
Anjiolipom	0	Juvenil Ksantogranülom	
Hibernom	0	Histiositik Sarkom	3
Liposarkom	3		
Desmoid Tip Fibromatozis	1	<b>Germ Hücreli Tümörler</b>	
Miyofibroblastom	0	Germinom	3
İnflamatuar Miyofibroblastik Tümör	1	Embriyonal Karsinom	3
Benign Fibröz Histiositom	0	Yolk Sak Tümörü	3
Fibrosarkom	3	Koryokarsinom	3

Çizelge 2.1. (devamı) MSS tümörleri sınıflandırması

İndiferansiye Pleomorfik Sarkom / Malign Fibröz Histiositom	3	Teratom	1
Leiomyom	0	Matür Teratom	0
Leiomyosarkom	3	İmmatür Teratom	3
Rabdomyom	0	Malign Dönüşümlü Teratom	3
Rabdomyosarkom	3	Mikst Germ Hücreli Tümör	3
Kondrom	0		
Kondrosarkom	3	<b>Metastatik Tümörler</b>	
Osteom	0		
Osteokondrom	0		
Osteosarkom	3	<b>Tümör Kodları (TK) Karşılıkları</b>	
		Tümörün davranışını tanımlayan tumor kodları ;	
<b>Sellar Bölge Tümörleri</b>			
Kraniyofarinjiom	1	<b>0</b> = Benign tümörleri,	
Adamantinomatöz Kraniofarinjiom	1	<b>1</b> = Düşük evreli veya malign potansiyeli bilinmeyen ya da belirsiz davranış sergileyen tümörleri,	
Papiller Kraniofarinjiom	1	<b>2</b> = In situ lezyonları ve evre III intraepitelyal neoplazmları,	
Sellar Bölgenin Granüler Hücreli Tümörü	0	<b>3</b> = Malign tümörleri gösterecek şekilde kodlanmıştır.	
Pitüisitom	1		
Adenohipofizin İğsi Hücreli Onkositomu	0		

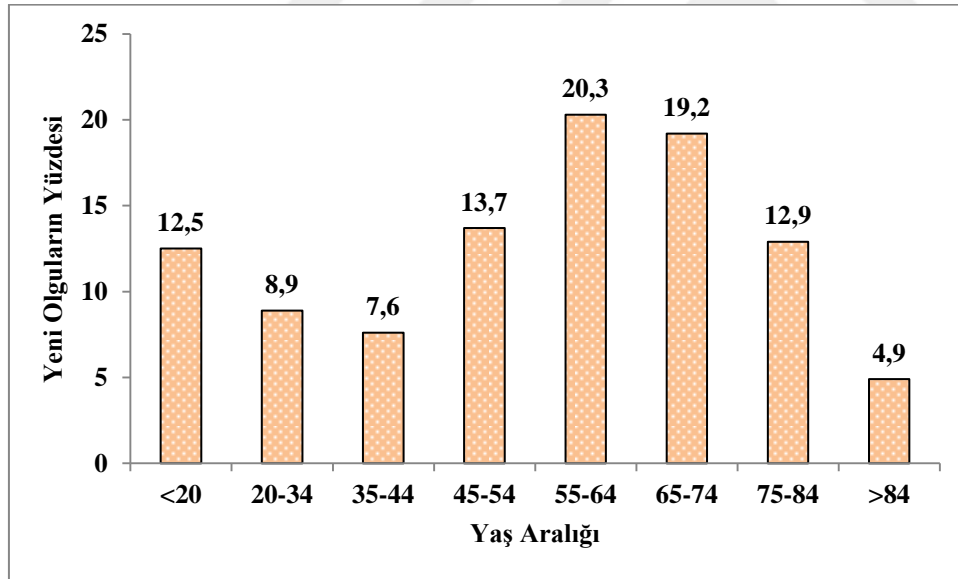
### 2.2.1. Beyin tümörleri

#### Beyin tümörlerinin epidemiyolojisi

Beyin tümörleri; beyin parankimi, beyin zarları, sinirler veya kafa içindeki diğer dokulardan köken alan tümörlerdir. Her yıl, dünya çapında yaklaşık 200 000 kişi primer malign beyin tümöründen etkilenmektedir (Kheirollahi, Dashti, Khalaj, Nazemroaia ve Mahzouni, 2015). Beyin tümörleri tüm kanser tiplerinin yaklaşık olarak % 1,4'ünü ve ölümlerle sonuçlanan kanserlerin % 2,7'sini oluşturmaktadır ve çocuklardaki en yaygın solid tümörlerdir (Lee, Jung, Yoo, Park, ve Lee, 2010). Türkiye'de Sağlık Bakanlığı Kanser İstatistikleri 2014 verilerine göre; 2008-2012 yılları arasında 7 739 hastanın beyin tümörü tanısı aldığı ve beyin tümörlerinin yaşa standardize edilmiş insidans hızlarının cinsiyete göre dağılımının, 2014 yılında, kadınlarda yüzbinde 4,1, erkeklerde ise 5,2 oranında olduğu bildirilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2014). Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü verileri 2015 yılında Amerikada yaşayan 166 039 kişinin beyin tümörü veya diğer sinir

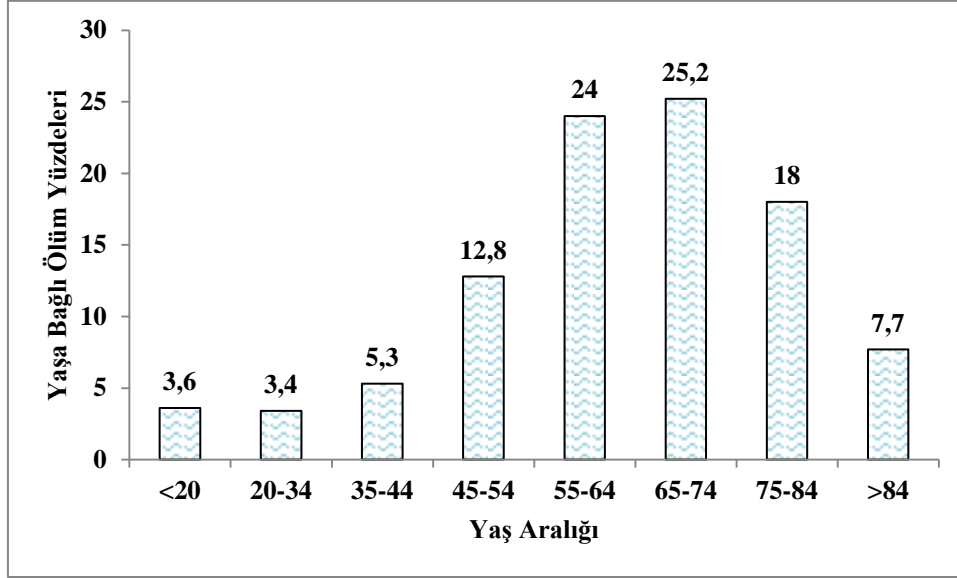
sistemi tümörlerinden birine sahip olduğunu bildirmektedir (NCI, 2019). Ayrıca 2018 yılı için, beyin tümörü veya diğer sinir sistemi tümörlerinden birine sahip 23 880 yeni vakanın teşhis edileceği ve bu vakalardan kaynaklı tahmini ölüm sayısının da 16 830 olacağı öngörülmüştür (NCI, 2019). Beyin ve diğer sinir sistemi tümörleri incelendiğinde, Amerika Birleşik Devletleri'nde 2011-2015 yılları arasında, tüm ırklar ve her iki cinsiyette yaşa bağlı olarak tümöre yakalanma Şekil 2.4'de ve ölüm oranları Şekil 2.5'de verilmiştir.

Beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerine yakalanma ve ölüm oranları yaşa bağlı olarak değişiklik göstermektedir. 2011-2015 yılları arasında ABD'de beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerine yakalanan hastaların ortalama yaşı 58'dir. Bunların % 12,5'si 20 yaş altı çocuklar olmasına rağmen, % 8,9'u 20-34 yaş arası, % 7,6'sı 35-44 yaş arası, % 13,7'si 45-54 yaş arası, %20,3'ü 55-64 yaş arası, % 19,2'si 65-74 yaş arası, % 12,9'u 75-84 yaş arası ve % 4,9'u 85 yaşın üzeridir.



Şekil 2.4. Beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerinde yaşa bağlı yeni olgu yüzdeleri (NCI, 2019)

Aynı yıllar içerisinde, beyin ve diğer sinir sistemi tümörleri sebebiyle gerçekleşen ölüm oranları dikkate alındığında, ölen hastaların ortalama yaşı 65'dir. Bunların % 3,6'sı 20 yaş altı çocuklar olmasına rağmen, % 3,4'ü 20-34 yaş arası, % 5,3'ü 35-44 yaş arası, % 12,8'i 45-54 yaş arası, % 24'ü 55-64 yaş arası, % 25,2'si 65-74 yaş arası, % 18'i 75-84 yaş arası ve %7,7'si ise 85 yaş üzeridir.



Şekil 2.5. Beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerinde yaşa bağlı ölüm oranları (NCI, 2019)

İstatistiksel verilerden de anlaşılacağı üzere 20 yaş altı ve 44 yaş üstündeki kişilerin beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerine yakalanma riski diğer yaş gruplarına göre daha fazladır. 55 yaş ve üstü hastaların ise hayatını kaybetme oranı daha genç popülasyona kıyasla çok daha fazladır (NCI, 2019).

#### Beyin tümörlerinin sınıflandırılması

Primer beyin tümörleri, MSS hücreleri olan nöron ve nöroglial hücrelerden kaynaklanmaktadır. Nöronların farklılaşmış hücreler olmasının sağladığı avantaj neticesinde, bu hücrelerin genetik materyalindeki en ufak bir değişiklik hücrenin apoptoza yönelmesine sebep olmaktadır. Nöroglial hücreler ise nöronların aksine nispeten daha az özelleşmiş olan dolayısıyla çoğalabilen ve farklılaşabilen hücrelerdir, bu sebeple tümör oluşumuna daha yatkındırlar. Nöroglial hücrelerden köken alan gliomlar, yetişkinlerde saptanan en yaygın primer beyin tümörleridir. Metastatik beyin tümörleri vücudun beyin dışındaki herhangi bir dokusunda tümör oluşumundan sonra beyin dokusuna metastaz yapmasıyla oluşurlar. Metastatik beyin tümörleri genellikle meme, akciğer, cilt, prostat ve kalın bağırsakta oluşan tümörlerin metastazı sonucu gelişmektedirler. Bu tür tümörler, beyin tümörlerinin yaklaşık olarak % 10'unu oluştururken, çocuklara oranla yetişkinlerde görülme sıklığı daha fazladır (Louis ve diğerleri, 2016).

## Beyin tümörlerinin evrelendirilmesi

Tümörün malignitesi ile histolojik evresi arasında doğru orantı bulunmaktadır. Tümörün evrelendirilmesi, tümörün biyolojik davranışlarının önceden kestirilmesi ve bu avantajın tedavi yönteminin planlanması açısından kullanılması sebebiyle önem arz etmektedir. Tümörün evrelendirilmesinde önemli olan histolojik parametrelerden bazıları, tümörün mitotik aktivitesi, nükleer atipiyeye sahip olup olmaması, vaskülaritesi, nekroz olup olmaması, invazyon ve/veya metastaz potansiyeli ve kontrolsüz büyümeyi gösteren (Ki 67 proliferasyon indeksi) bulgularıdır (Louis ve diğerleri, 2016).

DSÖ evreleme sisteminde tümörler evre I tümörler, evre II tümörler, evre III tümörler ve evre IV tümörler olmak üzere 4 evrede ele alınmaktadır (Tandel ve diğerleri, 2019).

### ➤ Evre I Tümörler

- ✓ Proliferasyon potansiyelleri düşüktür,
- ✓ Düşük maligniteye sahiptirler,
- ✓ Cerrahi operasyon ile tümörün çıkarılması sonrasında kür şansı bulunur,
- ✓ Tümörün mikroskopik görünümü normale yakındır.

### ➤ Evre II Tümörler

- ✓ Proliferasyon potansiyelleri düşük olmasına karşın daha yüksek evreli olarak nüks edebilirler,
- ✓ İnfiltratif özellik gösterirler,
- ✓ Komşu dokulara invaze olabilirler,
- ✓ Tümörün mikroskopik bulguları anormaldir.

### ➤ Evre III Tümörler

- ✓ Aktif anormal hücre proliferasyonuna sahiptirler,
- ✓ İnfiltratif özellik gösterirler,
- ✓ Genellikle daha yüksek evreli olarak nüks etme eğilimindedirler,
- ✓ Tümörün mikroskopik bulguları belirgin bir şekilde anormaldir.

➤ Evre IV Tümörler

- ✓ Hızlı anormal hücre proliferasyonu mevcuttur,
- ✓ Hızlı büyümeyi sürdürebilmek için neovaskülarizasyon yaparlar,
- ✓ Nekroz eğilimi olan tümörlerdir,
- ✓ Tümörün mikroskopik bulguları ileri derecede anormaldir.

Beyin tümörlerinin belirtileri

Beyin tümörlerinin belirtileri, tümörün köken aldığı hücre tipine, bulunduğu bölgeye ve tümörün boyutuna göre çeşitlilik gösterebilmektedir. Belirtiler, tümörün bulunduğu bölge itibariyle sinirlere baskı yapması sonucunda ortaya çıktığı için bu aşamada tümörün lokalizasyonu oldukça önem kazanmaktadır. Hastalar, kliniğe başvururken genellikle baş ağrısı ve baş dönmesi ve bunu takiben mide bulantısı, iştahsızlık, kusma, görme, duyma ve konuşma bozuklukları, gözünü bir noktaya dikerek sabit bir şekilde bakma, kişilik, ruh hali ve davranış değişiklikleri, denge kaybı ve yürüme bozuklukları, dikkat eksikliği ve unutkanlık, kol ve bacaklarda uyuşma gibi şikayetlerde bulunmaktadırlar. Tümörün lokalizasyonuna göre bu belirtilerin biri veya daha fazlası görülebilmektedir (DeAngelis, 2001). Belirtilerin bazılarının genel olması ve birçok hastalıkta da görülebilmesi sebebiyle, teşhis koyulurken beyin tümörü olup olmadığı ileri tanı yöntemleri ile desteklenmelidir.

Beyin tümörlerinin tanısı ve tedavisi

Beyin tümörlerinin tanısı koyulurken, genel sağlık muayenesi ve nörolojik muayeneyi takiben elde edilen bulgular, MR ve BT gibi ileri görüntüleme teknikleri ile desteklenmelidirler. İleri görüntüleme yöntemleri ile belirlenen tümörün kesin tespiti için biyopsi yapılarak örnek alınmalı ve mikroskop yardımı ile histopatolojik inceleme sonucunda tümörün evresi, kökeni ve türü belirlenmelidir. Tanı işleminin tamamlanmasının ardından uygun bir tedavi prosedürü belirlenerek hastanın tedavisine geçilmelidir (DeAngelis, 2005).

Beyin tümörlerinin tedavisinde en uygun tedavi protokolünün belirlenebilmesi amacıyla tümörün yeri, tipi, evresi, cerrahi müdahalenin yapılabilme olasılığı, cerrahi müdahale

sonrası tümörün nüksetme riski ve hastanın genel sağlık durumu göz önünde bulundurulmalıdır. Beyin tümörlerinin tedavisinde, kemoterapi ve radyoterapinin etkinliğinin oldukça düşük olması sebebiyle en sık başvuru olan yöntem cerrahi operasyondur. Kemoterapi ve radyoterapi genellikle destekleyici tedavi olarak kullanılmaktadır. Fakat cerrahi operasyonun riskli olduğu durumlarda destekleyici tedaviler ön plana çıkmaktadır (DeAngelis, 2001).

### 2.2.2. Gliyal tümörler

MSS'nin en yaygın primer tümörleri olarak bilinen gliyal tümörler (Jemal ve diğerleri, 2009) glia ya da nöroglia olarak isimlendirilen sinir destek dokusunun neoplastik değişimi sonucunda kontrolsüz çoğalması sebebiyle oluşmaktadır. Gliomlar genel itibariyle, kapsülsüz ve diffüz büyüme gösteren intraaksiyal yerleşimli tümörlerdir. DSÖ'nün 2016 yılı MSS sınıflandırmasına göre tüm gliyal tümörler 5 başlık altında toplanmıştır (Louis ve diğerleri, 2016).

#### Gliyal tümörlerin sınıflandırılması

##### *Diffüz astrositik ve oligodendroglial tümörler*

##### *Diffüz astrositom*

Karakteristik özellikleri arasında, yavaş büyümeye karşılık, yüksek düzeyde hücre farklılaşması ve komşu dokulara diffüz infiltrasyon bulunmaktadır. DSÖ evreleme sistemine göre evre I ve II olarak değerlendirilmektedirler. Ortalama yaşam süresi 6 yıl olan ve özellikle 30-40 yaş arası genç yetişkinlerde pik yapan bu tümörler, evre III anaplastik astrositom ve evre IV glioblastoma dönüşme eğilimindedirler. Lokalizasyon olarak MSS'nin herhangi bir yerinde olmakla birlikte serebrumda supratentorial yerleşimli gelişme ihtimalleri daha fazladır. Tüm astrositomlar içerisinde % 10-15'lik bir paya sahip bu tümörlerde kontrast madde tutulumu görülmemektedir. Fibriller, protoplazmik ve gemistositik astrositomlar olmak üzere farklı tipleri bulunmaktadır. Bu varyantların sahip olduğu hücrelerin tamamında hafif düzeyde atipi görülmektedir. Diffüz astrositomlar içinde her 3 hücre tipinden belli oranlarda bulunmaktadır. Varyantların



isimlendirilmesi, içerdiği en fazla hücre tipine göre yapılmaktadır (Louis ve diğerleri, 2007; Louis ve diğerleri, 2016).

Fibriler astrositomlar, ince uzantıları ile tanınan ve yaygın sitoplazması bulunan hücrelerin oluşturduğu zengin gliofibril içerikli tümör mikroçevreleri ile bilinmektedirler. Üç varyant içerisinde en sık görülen fibriler astrositomlardır. Protoplazmik astrositomlar oldukça nadir varyantlar olup diffüz infiltratif astrositomların % 1'ini oluşturmaktadırlar. Gemistositik astrositomlar ise evre II astrositomların % 20'sini oluşturmaktadırlar. Diğer varyantlar ile kıyaslandığında gemistositik astrositomların prognozu daha kötüdür (Durmaz, 2007).

### Anaplastik astrositom

Genel biyolojik özellikleri bakımından diffüz infiltrasyon göstermelerinin yanı sıra, histolojik açıdan da fokal veya yaygın anaplaziye sahip bu astrositomlar, düşük evreli evre II astrositomlardan gelişebildiği gibi, zamanla yüksek evreli evre IV glioblastomlara da dönüşebilme potansiyeline sahiptirler. Bu tümörler DSÖ evreleme sistemine göre evre III tümörler olarak değerlendirilmektedirler. Düşük evreli astrositomlara kıyasla hızlı büyüme eğilimi gösteren bu tümörlerin görüldüğü ortalama yaş 46'dır. Lokalizasyonu serebrumda, en sık frontal (% 40), takiben temporal (% 25) ve parietal (% 25) loblarda yerleşim göstermektedir. Bu durum kafa içi basınç artışına ve nörolojik kayıplara neden olmaktadır. Bu tümörün görüldüğü hasta grubunda kemoterapiye ve/veya radyoterapiye olan yanıt kötüdür. Bu sebeple hastaların yaklaşık yarısında sağ kalım süresi 2 yıl olarak belirtilmektedir (Shapiro, 1986).

### Glioblastom

Glioblastoma Multiforme (GBM) olarak da bilinen bu tümörler, astrositik tümörler içerisinde en malign olanıdır. Düzensiz yapıları sebebiyle, DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre IV olarak değerlendirilmektedirler. Ayırıcı özelliklerinden en öne çıkan nekroz olmasına rağmen, endotelial proliferasyon ve mitoz oldukça sık görülmektedir. Ayrıca yüksek derecede invaziv özellik gösteren bu tümörler, tümör çevresindeki sağlıklı dokularda ödeme neden olmaktadır (Rosell ve diğerleri, 2008). Diğer astrositomlarda olduğu gibi glioblastomlar daha çok serebral hemisferde

gelişmektedirler. Temel olarak iki grupta incelenen glioblastomlar, 2016 DSÖ'nün MSS sınıflandırmasında düşük evreli tümörler olarak yer alan evre II ve evre III tümörler olan diffüz astrositom ve anaplastik astrositomlardan gelişebildikleri gibi, yeni tümör olarak da gelişebilmektedirler. Primer glioblastomlar tüm glioblastomların % 90'ını oluşturmaktadırlar. Glioblastomlar tüm intrakranial tümörlerin ~% 12-15'ini, tüm beyin tümörlerinin % 25'ini ve tüm gliomların ise % 50-60'ını oluşturmaktadırlar. Bu tümörlerin önemi hem erişkin yaş grubunda en sık görülen beyin tümörü olmasından hem de hastalardaki sağkalım süresinin 12-15 ay gibi kısa bir süre olmasından ileri gelmektedir (Houillier ve diğerleri, 2006). Her yaşta görülebilmekle birlikte, en fazla görüldüğü yaş aralığı 45-75 arasındır. Erkeklerdeki insidansı kadınlara oranla daha fazladır. Glioblastomların dev hücreli glioblastom, gliosarkom ve epiteloid glioblastom olmak üzere farklı varyantları bulunmaktadır.

Dev hücreli glioblastomlar yüksek derecede Tümör Protein53 (TP53) mutasyonu ile karakterizedirler. Bunun yanısıra Fosfataz ve Tensin Homoloğu (PTEN) mutasyonu ve homozigot p16 delesyonuna da sıkça rastlanmaktadır. Bu tümörler tuhaf şekilli multinükleer dev hücrelerden oluşmaktadırlar (Palma, Celli, Maleci, Di Lorenzo ve Cantore, 1989). Lokalizasyon olarak en çok subkortikal; temporal ve parietal lobları tercih etmektedirler. Nadir rastlanan bu varyantın, glioblastomlar içerisindeki payı % 5 civarında iken tüm beyin tümörleri içerisinde % 1'den azdır (Homma ve diğerleri, 2006). Gliosarkomlar, mikroskopik özellikleri dikkate alındığında hem glial hem de mezenkimal komponenti birarada taşımaktadırlar. Bu tümörlerin sıklıkla karşılaşıldığı yaş aralığı 50-60'dır. Epiteloid glioblastomlar, tümöre mezenkimal görünüm veren epiteloid görünümlü hücreler tarafından oluşturulmuş glioblastom varyantıdır (Louis ve diğerleri, 2016).

### Diffüz orta hat gliom (DMG)

Diffüz orta hat gliomlar (DMG), adlarından da anlaşılacağı üzere pons, talamus ve diğer orta hat yapılarında ortaya çıkan ve özellikle çocukları etkileyen, DSÖ evre IV gliomlardır. Pontin ve medüller DMG olmak üzere iki varyantı bulunmaktadır. Pontin DMG'ler, bazı kaynaklarda Diffüz İntrinsik Pontin Gliom (DIPG) olarak da adlandırılmaktadır. Pontin ve medüller DMG'lerin her ikisinde kraniyal sinir kaybı ile ortaya çıkan, mitotik aktiviteleri oldukça yüksek olan tümörlerdir. Ortalama yaşam süresi yaklaşık 2 yıldır. DMG'lerin büyük bir çoğunluğunda, histon kodlayıcı genlerin

K27 konumunda bir mutasyon söz konusudur. K27M H3 mutasyonu olarak isimlendirilen bu mutasyon immünohistokimyasal yöntemler ile tespit edilebilmektedir (Louis ve diğerleri, 2016).

### Oligodendrogliom

MSS'nin miyelin üreten destek hücrelerinden köken alan bu tümörler glial tümörler içerisinde, üçüncü en sık rastlanan gruptur. İzole olarak görülebildikleri gibi diğer glial hücrelerle beraber olarak da karşımıza çıkabilmektedirler. Tüm glial tümörler içerisindeki görülme oranı % 5-18 iken, primer beyin tümörlerinin % 2-5'inden sorumludurlar (Koeller ve Rushing, 2005). Her yaşta görülebilmekle birlikte, en fazla görüldüğü yaş aralığı 35-45'dir ve insidans yaş ile artış göstermektedir. Erkeklerde kadınlara göre görülme sıklığı daha fazladır. Bu tümörler DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre II olarak değerlendirilmektedirler. Lokalizasyon olarak serebral hemisferin korteksini tercih eden oligodendrogliomlarda genellikle frontal lob tutulmaktadır. Kapsülsüz olup infiltratif özellikteki oligodendrogliomların büyümelerinin oldukça yavaş olması, astrositomlara kıyasla daha iyi prognoza sahip olmalarını sağlarken, tümöre ait belirtiler daha geç aşamada ortaya çıkmaktadır (Louis, Pomeroy ve Cairncross, 2002).

### Anaplastik oligodendrogliom

Oligodendrogliomlardan kötü prognoz, yüksek mitotik aktivite, artmış vasküler proliferasyon, nekroz ve nükleer atipi gibi histolojik farklılıklarla ayrılmaktadırlar. Benzer özellik olarak ise frontal lob en sık tutulum gösteren bölgedir. Genellikle iyi sınırlı olmayan, 40 yaşın üzerinde görülme eğilimi gösteren tümörlerdir. DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre evre III olarak değerlendirilmektedirler (Engelhard, Stelea ve Cochran, 2002).

### Oligoastrositom

Oligoastrositomlar, oligodendrogial ve astrositer komponenti birlikte içeren ve her ikisinin birden makroskopik özelliklerini gösteren tümörler olup diğer tümörlere kıyasla daha nadir görülmektedirler. DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre II olarak değerlendirilmektedirler. En sık ortaya çıktığı yaş grubu 35-45 olup, erkeklerde kadınlara

göre daha sık rastlanmaktadır. Lokalizasyon olarak serebral hemisferde ortaya çıkmaktadırlar ve en çok frontal lob tutulmaktadır (Louis ve diğerleri, 2016).

### Anaplastik oligoastroitom

Anaplastik oligoastroitomlar, DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre III olarak değerlendirilmektedirler. Prognozu kötü olan bu tümörler, lokalizasyon olarak serebral hemisferde çoğunlukla da frontal ve temporal loblarda bulunmaktadır (Louis ve diğerleri, 2016).

### *Diğer astrositik tümörler*

#### Pilositik astrositom

Benign prognoza sahip, iyi sınırlı, oval veya yuvarlak şekilli, son derece yavaş büyüyen ve DSÖ sınıflandırmasında evre I olarak yer alan bu tür tümörlerde tümörün nüksetmesi ile sık karşılaşıldığı için hastalara düzenli radyolojik takip önerilmektedir. Tedaviye rağmen bu tümörlerin~ % 3'ü malign dönüşüm göstermektedir. Lokalizasyon olarak serebral hemisferi tercih eden bu tümörler ile çocukluk çağında karşılaşma riski daha yüksektir. Tüm gliomlar içerisinde % 5-6'lık bir paya sahip olsa da, çocuklarda en sık rastlanan gliom türüdür. Pilositik astrositomun DSÖ tümör evreleme kriterlerine göre, evre II olarak değerlendirilen Pilomiksoid Astrositom isimli bir varyantı da bulunmaktadır (Dean ve diğerleri, 1990; Louis ve diğerleri, 2007).

#### Subependimal dev hücreli astrositom (SEGA)

DSÖ evre I tümörler içerisinde sınıflandırılan Subependimal dev hücreli astrositom (SEGA)'ların prognozları oldukça iyidir ve bu tür tümörlere ait herhangi bir malign dönüşüme rastlanmamaktadır (Dean ve diğerleri, 1990).

#### Pleomorfik ksantoastroitom (PXA)

Genelde çocukluk çağı tümörü olarak bilinmesine rağmen yetişkinlerde de görülebilen bu tümörler DSÖ evre II tümörlerine karşılık gelmektedirler. Çok büyük bir yüzdesinin lokalizasyonu serebral hemisfer, supratentorial alandır. Tüm astrositomlar içerisinde çok

küçük paya sahiptirler. Prognozları iyi olmasına rağmen, kısa süre içerisinde malign dönüşüme uğrayıp anaplastik özellik gösterebildikleri bildirilmiştir. Kontrast tutulumları belirgindir. İmmünohistokimyasal olarak GFAP pozitif boyanmaktadırlar (Louis ve diğerleri, 2016).

#### Anaplastik pleomorfik ksantoastrozitom (Anaplastik PXA)

Anaplastik PXA'lar, yüksek mitotik aktivite, nekroz ve pleomorfik hücrelerde mikrovasküler proliferasyon ve histolojik profil ile uyumsuz biyolojik davranış gösteren, DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre III olarak değerlendirilen tümörlerdir. PXA'dan anaplastik histolojik türe dönüşüm oldukça nadir görülmektedir (Louis ve diğerleri, 2016)

#### Ependimal tümörler

##### Subependimom

Subependimal glial hücrelerden köken alan, yavaş büyüme potansiyeline sahip ve lokalizasyonu 3. ventrikül ya da lateral ventrikül olan bu tümörler iyi sınırlı olup asemptomatik özellik göstermektedirler. DSÖ'nün sınıflandırmasında evre I olarak değerlendirilmektedirler. Ependimomlardan farkı, homojen olup ventrikül dışına taşmamalarıdır. Zengin gliofibriler matriksleri sebebiyle genellikle tümörün tamamen çıkarılması mümkün olamamaktadır (Yao ve diğerleri, 2019)

##### Miksopapiller ependimom

Diğer ependimal tümörlere kıyasla prognozu daha iyi olan bu tümörler yavaş büyüme potansiyeline sahiptirler. DSÖ sınıflandırmasında evre I olarak değerlendirilmektedirler. Tipik olarak spinal kordda karşımıza çıkmaktadırlar (Frazier, 2019).

##### Ependimom

Ependimomlar beynin ventriküllerini ve spinal kordun santral kanalını dolduran ependimal hücrelerden kaynaklanmaktadır. Çocuklarda ve genç yetişkinlerde görülen ve düşük mitotik aktiviteleri ile karakterize olan tümörlerdir. DSÖ'nün sınıflandırmasında

evre II olarak karşımıza çıkan bu tümörlerin selüler, papiller, şeffaf hücreli, tanisitik varyantları mevcuttur. Lokalizasyon olarak pediatrik gruplarda sıklıkla infratentorial, yetişkinlerde ise spinal bölgeyi tercih etmektedirler. Pediatrik gruptaki serebral tümörlerin % 10'unu kapsamaktadırlar. En sık 2 ay-16 yaş arası görülen ve bu dönemde oldukça agresif seyreden ependimomlar, 30-40 yaş arasında da ikinci pikini yapmaktadırlar (Zeng, Liu ve Li, 2017).

### Anaplastik ependimom

Ependimal hücre kökenli anaplastik ependimomlar özellikle çocuklarda kötü prognoza sahiptirler. DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre III olarak değerlendirilmektedirler. Ependimomlardan farklı olarak, mitotik aktivite, hücresel yoğunluk ve pleomorfizm artmıştır. Ek olarak tümör damar proliferasyonları ve nekroz görülmektedir (Louis ve diğerleri, 2016)

### *Nöronal ve mikst nöronal glial tümörler*

#### Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör (DNET)

Heterojen hücre kompozisyonuna sahip multinodüler yapıları DNET'lerin lokalizasyonu sıklıkla temporal lobtur. DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre I olarak değerlendirilmektedirler. Nadir görülen, iyi sınırlı ve yavaş büyüyen tümörler olup genellikle immünohistokimyasal olarak GFAP pozitif boyanmaktadırlar (Blaser ve Jay, 2002; Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

#### Gangliositom

Gangliositomlar, DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre I olarak değerlendirilmektedirler. Bu tür tümörler olgun nöron hücresi içermektedirler (Garcia-Santos, Torres del Rio, Sanchez ve Martinez-Lage, 2002; Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

### Gangliogliom

Displastik ganglion ve glial hücrelerin oluşturduğu heterojen hücre topluluğu olan gangliogliomlar lokalizasyon olarak temporal lobu tercih etmektedirler. Bu tümörlere sıklıkla epilepsi eşlik etmektedir. Daha çok çocuklar ve genç erişkinlerde görülmektedir. Hastaların % 60'ını 30 yaşın altındaki kişiler oluşturmaktadırlar. Nadir olarak karşımıza çıkan ve yavaş büyüyen tümörlerdir (Valvi ve Ziegler, 2017).

### Anaplastik gangliogliom

Anaplastik gangliogliomlar, neoplastik ganglion hücreleri ile birlikte yüksek evreli glial tümör içeren ve nadir görülen nöronal glial tümörlerdendir. Anaplastik astrositik komponent içeren gangliogliomlar klinik olarak daha hızlı bir büyüme seyri göstermektedirler. DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre evre III olarak değerlendirilmektedirler (Lucas ve diğerleri, 2015).

### Displastik serebellar gangliositom (Lhermitte-Duclos hastalığı)

Displastik serebellar gangliositomlar diğer sistem tümörlerinin eşlik edebileceği, sınırları iyi ayırt edilemeyen ve geniş bir alanda etkili olan tümörlerdir (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

### Desmoplastik infantil astrositom / gangliogliom

Desmoplastik infantil astrositom/gangliogliomlar DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre I olarak değerlendirilen desmoplastik yüzeysel yerleşimli mikst nöroglial tümörlerdir. Genellikle 1 ile 24 ay arası bebeklerde görülmektedir ve insidansı erkeklerde daha fazladır (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

### Papiller glionöronal tümör

Papiller glionöronal tümörler DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre I olarak değerlendirilen, klinik olarak benign seyir gösteren ve lokalizasyon olarak genellikle temporal lobu tercih eden tümörlerdir (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012)

### Roset formasyonlu (şekilli) glionöral tümör

Roset formasyonlu (şekilli) glionöral tümörler histopatolojik olarak bifazik nörositik ve glial yapıların oluşturduğu, 4. ventrikülden kaynaklanan, yavaş büyüyen ve oldukça nadir görülen tümörlerdir (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012)

### Santral nörositom

Santral nörositomlar, MSS'nin nöroglial hücre kaynaklı intraventriküler, iyi sınırlı, benign tümörleridir ve cinsiyet farkı gözetmeksizin genç erişkinlerde görülmektedirler (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

### Ekstraventriküler nörositom

Ekstraventriküler nörositomlar, santral nörositomlardan farklı olarak ventrikül dışına, beyin parankimi veya spinal korda yerleşme eğilimi gösteren tümörlerdir. Santral nörositomlara kıyasla daha nadir görülmelerine rağmen, daha agresif davranabilmekte ve spinal metastaz yapabilmektedirler (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

### Serebellar liponörositom

Nadir görülen serebellar liponörositomlar, DSÖ'nün tümör evreleme kriterlerine göre, evre II olarak değerlendirilen nöronal glial tümörlerdendir. Bu tümörler, lokalizasyon olarak başlıca serebellar hemisferlerde yerleşim göstermektedirler (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).

### Paragangliom

Paragangliomlar, nadir görülen ve yavaş büyüme özelliği gösteren nöronal glial tümörlerdendir. Glomus tümörü, karotis cisim tümörü, kemodektoma ve reseptomaya olarak da isimlendirilmektedirler (Mohammed ve Al Barbarawi, 2012).



## *Diğer gliomlar*

### 3. Ventrikülün kordoid gliomu

Üçüncü ventrikülün kordoid gliomu, üçüncü ventrikülün ön duvarında ortaya çıkan, nadir görülen, yavaş büyüme potansiyeline sahip ve iyi sınırlanmış düşük evreli tümörlerdir. DSÖ sınıflandırmasında evre II olarak değerlendirilmektedirler (Vanhouwaert, Clement, Van Dorpe ve Deruytter, 2008)

### Anjiyosentrik gliom

Bu tür gliomlar çoğunlukla çocuklarda ve genç erişkinlerde görülmekte olup yüzeysel yerleşim göstermektedirler. Lokalizasyonları fronto-paryetal korteks, temporal lob ve hipokampal alanlardır. Stabil ve yavaş büyüme özelliği gösteren tümörler olmalarına karşın yüksek evreli tümörlere de dönüşebilmektedirler (Kumar, Ramakrishnaiah ve Samant, 2013)

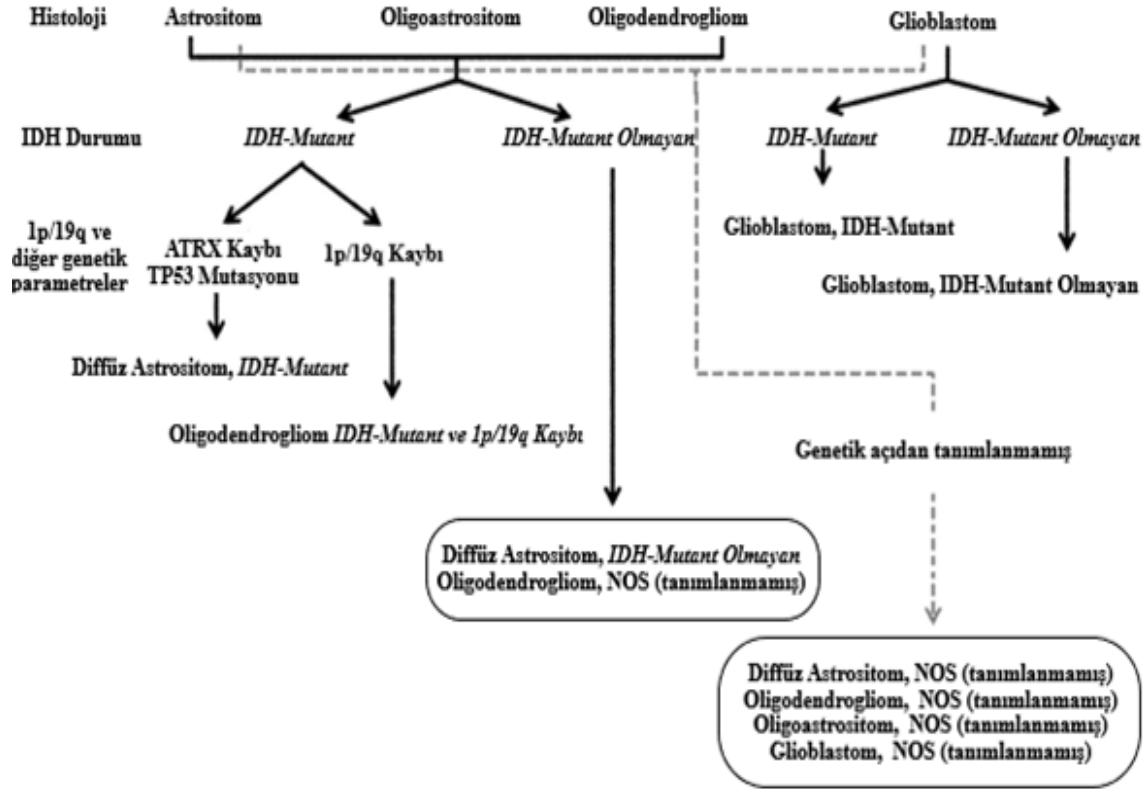
### Astroblastom

Santral sinir sisteminde nadir görülen bir glial tümör olan astroblastomlar, genellikle genç erişkin ve çocukluk yaş grubunda etkili olmaktadır. DSÖ'nün son sınıflandırması dikkate alındığında, kendi başlarına ayrı bir klinik tablo olarak değerlendirilmekle birlikte, bazen ependimom ve diffüz astrositom gibi diğer glial tümörlerin fokal bir komponenti olarak da karşımıza çıkabilmektedirler. Astroblastomların en sık yerleşim yeri serebral hemisferdir ve genellikle kontrast tutan, iyi sınırlı olma özelliği gösteren tümörlerdir. İmmünohistokimyasal olarak GFAP pozitif boyanmaktadır (Bale ve diğerleri, 2016)

### Histolojik ve genetik özellikler bakımından diffüz gliomlar

Diffüz astrositik ve oligodendrogial tümörlerin daha çok erişkin popülasyonda görüldüğü, intrakranial alanda ve özellikle supratentorial yerleşim gösterdiği bilinmektedir. Diffüz orta hat gliomlarının ise spinal kord, beyin sapı ve talamus gibi orta hat yapılarında diffüz infiltratif yayılım gösterdiği ve daha çok pediatrik popülasyonda görüldüğü göz önüne alındığında, diğer diffüz glial tümörlerden ayrılmaktadırlar.

DSÖ'nün 2016 yılı sınıflandırmasına göre, diffüz gliomlar DSÖ evre II ve III astrositik tümörler, evre II ve III oligodendrogliomlar ve evre IV glioblastomları içermektedir. Bu tümörlerin histopatolojik özellikleri ve biyolojik davranışları değişiklik gösterebilmektedir. Diffüz gliomların histolojik ve genetik özelliklerine göre sınıflandırılması Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Diffüz gliomların histolojik ve genetik özellikleri bakımından sınıflandırılması (Louis ve diğerleri, 2016)

Astrositik ya da oligodendroglial özellik gösteren diffüz infiltratif gliomların evrelendirilmesinde, fenotipik özellikler olarak, büyüme aktivitesi ve tümör davranışının yanında IDH1 ve IDH2 gen mutasyonları dikkate alınmaktadır (Louis ve diğerleri, 2016).

DSÖ 2016 sınıflandırmasında, Evre II diffüz astrositom ve Evre III anaplastik astrositomlar; IDH-Mutant, IDH-Mutant Olmayan ve NOS olarak kategorize edilmişlerdir. IDH mutasyonu analizi immünohistokimyasal yöntemler ve dizi analizi ile yapılmaktadır. IDH mutasyonu yalnızca immünohistokimyasal olarak gösterildiğinde tümör IDH-Mutant olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak tümörü IDH-Mutant Olmayan olarak sınıflandırabilmek için hem IDH dizisi hem de IDH gen mutasyonu olmadığı gösterilmelidir. Bu mutasyonun öncü mutasyon olarak kabul edilmesi ve IDH-Mutant

Olmayan diffüz astrositom ya da anaplastik astrositomun nadir görülen bir tümör olması nedeniyle, tanının gangliogliomlar gibi daha erken evre tümörler ve IDH-Mutant Olmayan glioblastom gibi ileri evre tümörler ile karışmaması için dikkat edilmesi önerilmektedir. IDH mutasyon testlerinin tam olarak yapılamadığı durumlarda ise tümörler “NOS” olarak sınıflandırılmaktadır. IDH-Mutant diffüz astrositomlarda görülen diğer karakteristik özellikler olan ATRX kaybı ve TP53 gen mutasyonları tanı kriteri olarak tanımlanmamıştır (Louis ve diğerleri, 2016).

Oligodendrogliomlarda IDH gen mutasyonu ile birlikte 1p/19q kodelasyonu görülmektedir. IDH gen mutasyonu ve 1p/19q kodelasyonunun görülmediği ve fenotipik olarak oligodendrogliom olarak değerlendirilen tümörler, oligodendrogliom, NOS olarak sınıflandırılmıştır (Louis ve diğerleri, 2016).

Glioblastomlar ise bu sınıflandırmada iki ana başlıkta incelenmektedir. İlki, IDH gen mutasyonu görülmeyen IDH-Mutant Olmayan glioblastomlardır. Bu glioblastom primer ya da de-novo glioblastom olarak tanımlanmaktadır. Bu tipe 55 yaş üzeri hastalarda daha sık rastlanmaktadır. IDH-Mutant Olmayan glioblastomların dev hücreli glioblastom, gliosarkom ve epiteloïd glioblastom gibi farklı varyant tipleri bulunmaktadır. Diğer glioblastom tipi ise, daha erken evre ve orta evre diffüz glial tümörlerin ikincil olarak glioblastoma dönüşmesi ile ortaya çıkan, IDH gen mutasyonu görülen ve daha genç hastalarda ortaya çıkan tiptir. IDH gen mutasyonu analizinin tam olarak yapılamadığı durumda ise tümör, glioblastom, NOS olarak kategorize edilmektedir. Bu ikinci tip IDH-Mutant glioblastomların IDH-Mutant Olmayan glioblastomlara göre daha iyi seyir gösterdiği bilinmektedir. Bununla birlikte, IDH-Mutant glioblastomlarda, diffüz ve anaplastik astrositomlarda da görülen ATRX kaybı ve TP53 mutasyonu gibi değişikliklerin IDH-Mutant Olmayan glioblastomlara kıyasla daha sık olarak görüldüğü bilinmektedir. Buna karşılık, IDH-Mutant Olmayan glioblastomlarda, Telomeraz Ters Transkriptaz (TERT) mutasyonu, Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör (EGFR) amplifikasyonu (Brookes ve diğerleri, 2000) ve PTEN mutasyonları gibi değişiklikler IDH-Mutant glioblastomlara göre daha sık ortaya çıkmaktadır. IDH-Mutant Olmayan ve IDH-Mutant glioblastomlarının temel özellikleri Çizelge 2.2’de özetlenmiştir (Louis ve diğerleri, 2016).

Çizelge 2.2. IDH-Mutant Olmayan ve IDH-Mutant glioblastomlarının temel özellikleri (Louis ve diğerleri, 2016)

	IDH-Mutant Olmayan Glioblastom	IDH-Mutant Glioblastom
<b>Öncü Lezyonları</b>	De-novo glioblastom	Diffüz astrositom Anaplastik astrositom
<b>Glioblastomlar içindeki yüzdesi</b>	~% 90	~% 10
<b>Teşhisteki ortalama yaş</b>	~ 62	~ 44
<b>Erkek/Kadın oranı</b>	1,42/1	1,05/1
<b>Klinik öykünün ortalama süresi</b>	4 ay	15 ay
<b>Ortalama yaşam süresi (cerrahi müdahale+radyoterapi)</b>	9,9 ay	24 ay
<b>Ortalama yaşam süresi (cerrahi operasyon+radyoterapi+kemoterapi)</b>	15 ay	31 ay
<b>Tümörün konumu</b>	Supratentorial alan	Tercihen frontal lob
<b>Nekroz özelliği</b>	Yaygın	Sınırlı
<b>TERT Mutasyonu</b>	% 72	% 26
<b>TP53 Mutasyonu</b>	% 27	% 81
<b>ATRX Mutasyonu</b>	İstisna	% 71
<b>EGFR Ekspresyonu</b>	% 35	İstisna
<b>PTEN Mutasyonu</b>	% 24	İstisna

Glial tümörler mitotik aktiviteleri, lokalizasyonları, morfolojik özellikleri ve klinik seyirleri bakımından farklılıklar göstermektedir. Evrelemede anaplazi oranları ve histopatolojik görünümeler esas alınmaktadır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Diffüz infiltratif glial tümörlerin evrelendirilmesi (DSÖ, 2016)

Diffüz Astrositik ve Oligodendrogial Tümörler	Evresi
Diffüz Astrositom, IDH-Mutant	II
Anaplastik Astrositom, IDH-Mutant	III
Glioblastom, IDH-Mutant Olmayan	IV
Glioblastom, IDH-Mutant	IV
Diffüz Orta Hat Glioma, H3 K27M-Mutant (histon H3 geni, K27M mutasyonu)	IV
Oligodendrogliom, IDH-Mutant ve 1p/19q-kodelesyon	II
Anaplastik Oligodendrogliom, IDH-Mutant ve 1p/19q-kodelesyon	III
Oligoastrositom, NOS (tanımlanmamış)	II
Anaplastik Oligoastrositom, NOS (tanımlanmamış)	III

### Glial tümörlerin moleküler patojenezi

Fenotipik ve genotipik olarak çeşitlilik gösteren glial tümörlerin patogenezi pek çok karmaşık genetik, epigenetik, moleküler ve immunolojik mekanizma rol oynamaktadır. Bu etkilerin toplamının tümörün oluşumuna, ilerlemesine ve invazyonuna katkıda bulunduğu yapılan çalışmalar ile anlaşılmıştır (Louis ve diğerleri, 2016).

Gliomların prognozlarını ve tedaviye verecekleri yanıtı belirlemede bazı spesifik moleküler ve immünohistokimyasal belirteçler kullanılmaktadır. Böylelikle, morfolojik kriterlere dayanarak yapılan tanısal değerlendirmeler moleküler ve immünohistokimyasal belirteçler ile desteklenmektedir.

Moleküler ve immünohistokimyasal amaçlı kullanılan ve kullanılabilir markırlar, GFAP ekspresyonu, 1p/19q kodelesyonu, IDH1 ve IDH2 mutasyonu, kromozom 10 heterozigotluk kaybı (LOH 10q), PTEN mutasyonu, TERT mutasyonu, p14<sup>ARF</sup> ekspresyonu, TP53 mutasyonu, O6-metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) metilasyonu, MDM2 ekspresyonu, Retinoblastoma (RB) mutasyonu, ATRX mutasyonu, EGFR ekspresyonu, Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF) ekspresyonu ve Ki-67 proliferasyon indeksidir.

#### *GFAP Ekspresyonu*

Tümörlerin glial karakterli olup olmadığının anlaşılmasında ilk olarak kullanılacak immünohistokimyasal belirteç GFAP ekspresyonudur. Özellikle astrositlerin sitoplazmalarında bulunan bu proteinler, glial ara filament olarak miyelinizasyon ve astrosit-nöron bağlantısında görev yapmaktadırlar ve neoplastik astrositomlar için en değerli göstergelerdir (Louis ve diğerleri, 2016)

#### *1p/19q kodelesyonu*

Gliomların alt tipinin belirlenmesinde 1p/19q kodelesyonu kullanılmaktadır. Reifenberger ve diğerleri tarafından (1994) yapılan bir çalışma ile oligodendrogliomlarda alelik bir delesyonun olduğu gösterilmiştir. 1p/19q kodelesyonu oligodendrogliom tespitinde değerli bir parametredir. Bu delesyona sahip hastalar tedaviye daha iyi yanıt verip, daha uzun sağkalım göstermektedirler. 1p/19q delesyonu, MGMT promotor metilasyonu, IDH1

ve IDH2 mutasyonları ile birliktelik gösterirken, TP53 mutasyonu ve EGFR amplifikasyonu ile bulunmamaktadır. Yüksek evreli gliomlarda iyi prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Terada ve diğerleri, 2002; Yu, Qi ve Li, 2010).

#### *IDH1 ve IDH2 mutasyonu*

İnsan genomunda IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B ve IDH3G olmak üzere 5 farklı IDH geni 3 farklı IDH enzimini kodlamaktadır. IDH1 sitoplazma ve peroksisomda bulunurken, IDH2 ve IDH3 ise mitokondride lokalizedir. IDH1 genindeki mutasyon gliomlarda ilk kez 2009 yılında ve 20 000'den fazla gen dizisinde yapılan çalışma ile ortaya çıkarılmıştır. 2016 yılı itibarıyla IDH1 ve IDH2 gen mutasyonları hem düşük evreli hem de yüksek evreli gliomlarda tespit edilmişlerdir. IDH1 mutasyonuna özellikle, evre II diffüz astrositom, evre III anaplastik astrositom, evre II oligodendrogliom ve evre III anaplastik oligodendrogliomlarda rastlanılmıştır (Yan ve diğerleri, 2009). IDH2 mutasyonu ise IDH1 mutasyonuna kıyasla daha nadir olarak görülmektedir. Düşük evreli glial tümörlerde yapılan bir çalışmada her iki mutasyonun uzun sağkalım süresi ve tedaviye yanıt ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Houillier ve diğerleri, 2010). Gliom hastalarında yapılan diğer bir çalışmada, IDH1 mutasyonunun 1p/19q kodelesyonu ve MGMT metilasyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Sanson ve diğerleri, 2009). Gliom hastalarından alınan biyopsi örneklerinde yapılan bir çalışmada IDH1 mutasyonunun TP53 mutasyonu ve 1p/19q kodelesyonundan önce meydana geldiği belirlenmiştir. Bu sebeple IDH1 mutasyonunun gliom oluşumunda çok erken evrelerde ortaya çıktığı görülmüş ve glial tümör sınıflandırmasında genetik bir belirteç olarak kullanılmasının yolu açılmıştır (Yu ve diğerleri, 2010).

#### *LOH 10q*

LOH, yapısal olarak genotipi heterozigot olan somatik hücrelerin çeşitli epigenetik mekanizmalar ile homozigot yada hemizigot olması durumu olarak tanımlanabilmektedir (Tucker ve Friedman, 2002). LOH 10q, evre II ve III astrositomlarda nadir olmakla beraber, daha sıklıkla glioblastomlarda görülmektedir (James ve diğerleri, 1988; Bigner ve Vogelstein, 1990). 10 nolu kromozomda görülen bu moleküler değişim tüm kromozomu kapsayabildiği gibi kromozomun bir kolunun kaybı veya delesyona uğramış

bir bölgesi olarak da ortaya çıkabilmektedir. En sık görülen delesyonlar 10. kromozomun özellikle 10p14-15, 10q23 ve 10q25-26 bölgeleridir (Steck ve diğerleri, 1999).

#### *PTEN mutasyonu*

Kromozom 10q23.3'de lokalize olan PTEN, ileri evre tümörlerde MMAC1 ismi ile de bilinmektedir (Li ve diğerleri, 1997). PTEN hücre içerisinde çift yönlü özellik gösteren protein fosfataz ve fosfoinositid 3-fosfatazdır ve hücrede Akt ve mTOR aktivasyonu ile ilişkilidir. Akt, fosforile durumda hücrenin devamlılığını sağlayan ve hücre döngüsüne girişi düzenleyen bir serin/treonin-kinazdır. Tümör baskılayıcı bir gen olan PTEN tarafından kodlanan tirozin fosfataz, Akt'nin aktivitesini başlatan lipidleri defosforile ederek Akt'yi dolaylı olarak inhibe etmekte ve hücre bazda sinyal yollarını kapatmaktadır. Genetik mutasyon sebebiyle bu fosfatazın aktivitesini kaybetmesi anormal hücre proliferasyonu ile sonuçlanmaktadır. Evre IV glioblastom olgularının % 15-40'ında PTEN mutasyonu gözlenmektedir (Dahia, 2000).

#### *p14<sup>ARF</sup> ekspresyonu*

Kromozom 9p21'de lokalize olan p14<sup>ARF</sup> geni, özellikle glioblastomlu olguların ~ % 76'sında ekspresyon kaybına uğramaktadır. Ekspresyon kaybı, homozigot delesyon ya da promotor metilasyonu olmak üzere iki sebeple ortaya çıkabilmektedir. p14<sup>ARF</sup> geni ekspresyon kaybında etkili olan promotor metilasyonu sekonder glioblastomlarda daha sık gözlenirken, homozigot delesyonlar primer ve sekonder glioblastomlarda hemen hemen aynı sıklıkla görülmektedir (Nakamura ve diğerleri, 2001).

#### *TP53 mutasyonu*

Kansinogenezi de görülen en yaygın moleküler genetik değişiklikler arasında TP53 gen mutasyonu sayılabilir. Aynı zamanda bu mutasyon astrositomlarda tanımlanan ilk genetik değişikliktir. Kromozom 17p13.1'de lokalize olan TP53 geni hücre döngüsü kontrolü, hücre farklılaşması, apoptoz, DNA hasar tamiri, anjiyojenez ve metastaz gibi pek çok hücre bazda süreçte aktif rol oynamaktadır (Newcomb ve diğerleri, 1998; Ohgaki ve Kleihues, 2007). Tümör baskılayıcı gen olan TP53, hücre strese maruz kaldığında kodladığı protein p53 aracılığıyla, p21, p14<sup>ARF</sup> ve MDM2 aktivasyonunu sağlamakta ve

hücre bölünmesinin  $G_1$  ve  $G_2$  kontrol noktalarında hücre döngüsünün durmasına ve gerekli durumlarda apoptoza neden olmaktadır. Bu gende meydana gelen bir mutasyon, hücresel sürecin yönetiminde en fazla söz hakkına sahip olan p53 proteininin kodlanamamasına ve fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Böylelikle apoptoz gerçekleşmemekte ve hücre çoğalması kontrol edilememektedir. Astrositomlarda yapılan bir çalışmada, hücre döngüsünün  $G_1$ -S kontrol sistemindeki bozuklukların neredeyse tamamının p53 yolağının inaktivasyonu ile birlikte olduğu ileri sürülmüştür (Ichimura ve diğerleri, 2000).

TP53 mutasyonunun gliomlardaki önemi bütün gliomlarda yüksek oranlarda görülmesinden ileri gelmektedir. Diffüz astrositomlu hastaların % 60'ından fazlasında TP53 mutasyonu bulunmaktadır. IDH-Mutant Glioblastomlu hastalarda bu oranın % 81'e kadar ulaştığı bildirilmiştir (Louis ve diğerleri, 2016; Wang ve diğerleri, 2014). Farklı diffüz glial tümörlerdeki TP53 mutasyon oranının araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, bu mutasyona % 88 ile en sık gemistositik astrositomda, ardından % 53'lük bir oranla fibriler astrositomda, % 44 ile oligoastrositomda ve % 13 ile oligodendrogliomda rastlanmıştır (Ohgaki ve Kleihues, 2005). Sağkalım için kötü bir prognostik faktör olan TP53 mutasyonu aynı zamanda MGMT ekspresyonunu arttırarak tedaviye olan yanıtın düşmesine yol açmaktadır (Wang ve diğerleri, 2014).

#### *MGMT metilasyonu*

Enzim benzeri yapıda küçük bir protein olan MGMT, 207 amino asitten oluşmaktadır. İnsan MGMT geni 10q26'da lokalize olup, toplamda 5 ekzon ve 1 introndan oluşmaktadır. DNA tamir enzimi olarak görev yaptığı bilinmesine rağmen, tamir edilecek bölgeyi nasıl tespit ettiği tam olarak aydınlatılamamıştır. Tümör hücrelerinde görülen MGMT ekspresyonundaki azalmada etkili olan asıl mekanizma diğer genlerde olduğu gibi mutasyon veya delesyon değil, MGMT promotor bölge metilasyonudur (Jansen, Yip ve Louis, 2010). MGMT'nin metillenmesi sonucunda MGMT protein ekspresyonu ve bunun sonucu olarak da DNA tamir aktivitesi azalmaktadır. Çeşitli tümör dokularında MGMT ekspresyonu değişkenlik göstermekle birlikte, glial tümörlerde ve malign melanomda düşük MGMT aktivitesi gözlenmektedir (Kaina, Margison ve Christmann, 2010). Diffüz infiltratif glial tümörlerin büyük bir kısmında MGMT'nin metilasyonu ve fonksiyon kaybı söz konusudur (Riemenschneider, Hegi ve Reifenberger, 2010).



### *MDM2 ekspresyonu*

MDM2 geni, kromozom 12q14.3-q15'de lokalize olup, 54 kilodalton (kDa) ağırlığında bir proteini kodlamaktadır (Momand, Zambetti, Olson, George ve Levine, 1992). MDM2 geninin diffüz infiltratif glial tümörlerdeki önemi, özellikle evre IV glioblastomlarda bu genin amplifikasyonu ile hücrelerin p53 tarafından düzenlenen hücre büyümesi kontrolünden kurtulması ve kolayca proliferasyon olmasından ileri gelmektedir. Çünkü, MDM2 geni tarafından kodlanan MDM2 proteini p53'e bağlanarak onun proteolitik yıkımını sağlamakta ve fonksiyonunu inhibe etmektedir. MDM2 geni tarafından bir transkripsiyon faktörü olarak kodlanan MDM2 proteininin aşırı ekspresyonu glioblastomların yaklaşık yarısında karşımıza çıkmaktadır (Biernat, Kleihues, Yonekawa ve Ohgaki, 1997; Newcomb ve diğerleri, 1998). Ayrıca MDM2 geninin amplifikasyonu, TP53 mutasyonu içermeyen glioblastomların ~% 10'unda tespit edilmiştir (Reifenberger, Liu, Ichimura, Schmidt ve Collins, 1993).

### *RB mutasyonu*

13q14'de lokalize olan RB geni, 107 kDa'lık bir protein kodlayarak hücre siklusunun G<sub>1</sub>-S fazları arasındaki regülatör basamağı kontrol etmektedir (Beijersbergen ve Bernards, 1996). RB genindeki mutasyonlara ileri evre glial tümörlerde rastlanılmaktadır.

### *EGFR ekspresyonu*

Kromozom 7q11.2'de lokalize olan EGFR 107 kDa'lık, transmembran bir tirozin kinaz reseptörüdür. Bu reseptörün en önemli fonksiyonları arasında, Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz (MAPK), Fosfo-İnozitol 3-Kinaz (PI3K) ve Protein Kinaz C (PKC) gibi tirozin kinazlar aracılığıyla çeşitli sinyal ileti yollarını harekete geçirerek apoptozun inhibisyonu, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve göçü sayılabilir. EGFR bu fonksiyonlarını, Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) (Brookes ve diğerleri, 2000) ve Transforme Edici Büyüme Faktörü-Alfa (TGF- $\alpha$ ) ile bağlanması neticesinde gerçekleştirmektedir. EGFR ailesi üyelerinin glial tümör oluşumunda (Kanu ve diğerleri, 2009) özellikle de glioblastom gelişiminde merkezi bir rol üstlendiği bilinmektedir (Ohgaki ve Kleihues, 2007). EGFR'nin aşırı ekspresyonu kötü sağkalım ile ilişkilidir. Evre IV glioblastom vakalarının % 36'sında EGFR gen amplifikasyonu tespit edilmiştir

(Ohgaki ve Kleihues, 2007). Ayrıca EGFR amplifikasyonuna, glioblastomlarda kromozom 10 kaybı da eşlik etmektedir.

### *PDGF ekspresyonu*

PDGF ve reseptörü dimer yapıda olup, bağ dokusu hücreleri ve glial hücrelerin proliferasyonundan sorumludurlar. Bu büyüme faktörü ligantları, iki hücre yüzey reseptörü olan PDGFR- $\alpha$  ve PDGFR- $\beta$  tarafından tanınmaktadır (Heldin ve Westermark, 1990). Hermanson ve diğerleri tarafından (1996) yapılan bir çalışma ile gliomlarda PDGFR- $\alpha$  aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir. Ayrıca PDGFR- $\alpha$ 'nın amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, sekonder glioblastom oluşumunda önemli bir basamaktır.

### *Ki-67 proliferasyon indeksi*

Ki-67 proliferasyon indeksi glial tümör hücrelerinin mitotik aktivitesini değerlendirmede kullanılan bir parameter olup, nükleer proliferasyon ile ilişkili 395 kDa'lık non-histon bir proteindir. Hücre proliferasyonu ile bağlantısı, bu proteine karşı antikorların mikroenjeksiyonu ile hücre bölünmesinde meydana gelen azalmayla ortaya çıkarılmıştır. Bu protein, proliferatif hücrelerin aktif fazında eksprese olma, dinlenme fazında ise eksprese olmama özelliği sayesinde büyüyüp çoğalan hücreleri, diğer hücrelerden ayırt etmeyi sağlamaktadır. Ki-67 proliferasyon indeksinin, gliomlarda evre ile pozitif korelasyon gösterdiği pek çok çalışma ile saptanmıştır (Onda, Davis, Shibuya, Wilson ve Hoshino, 1994; Zuber, Hamou ve de Tribolet, 1988).

## **2.3. Tümör Anjiyojenezi**

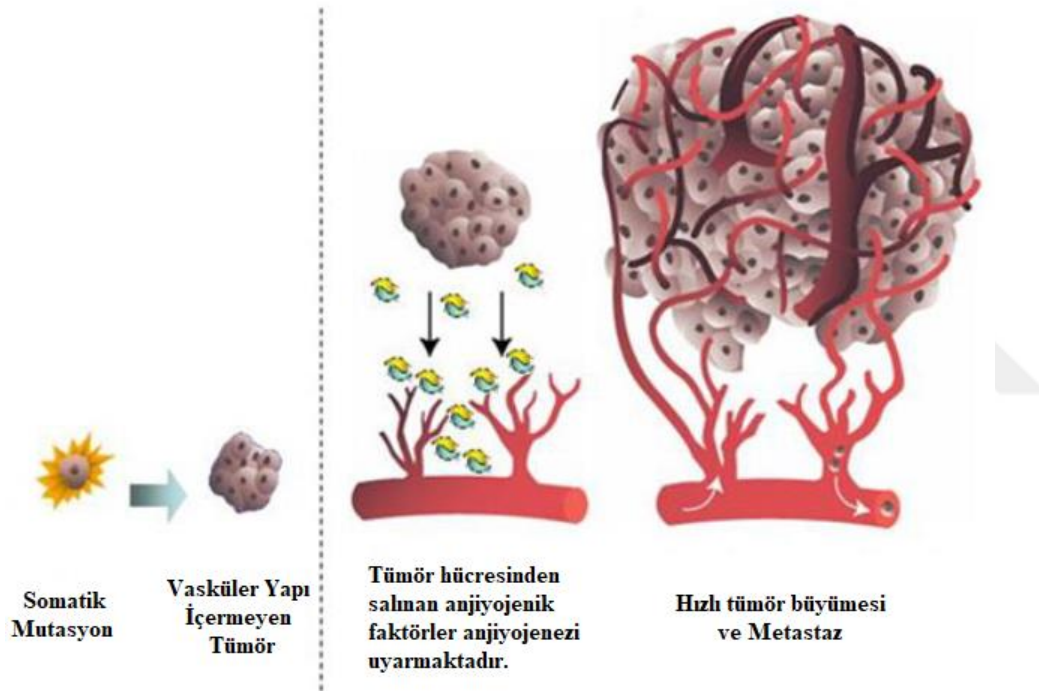
Besin ve oksijenin dokulara taşınmasını, bununla birlikte artık maddelerin de dokulardan uzaklaştırılmasını sağlayan kompleks yapıdaki damar ağı, dokuların canlılıklarını sürdürebilmelerini sağlamaktadır. Bu sebeple gerek embriyonik ve gerekse postembriyonik dönemde, dolaşım sisteminin gelişimi ve sürekliliği için damar ağı oluşumu gerekmektedir. Anjiyojenez terimi literatüre ilk olarak 1935'te plasentadaki kan damarı gelişimini tanımlamak üzere girmiştir. Anjiyojenez, dokuda bulunan mevcut kan damarlarından yeni damarların oluşumu ile sonuçlanan kompleks bir mekanizmadır

(Kerbel RS, 2008). Doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olan anjiyogenez, embriyogenez, yara iyileşmesi ve menstruasyondan sonra uterus iç tabakasının yenilenmesi gibi fizyolojik durumlarda gözlenmektedir. Bu durumlar haricinde anjiyogenez organizmada oldukça sınırlıdır (Kerbel RS, 2008). Anjiyogenez aşağıdaki basamaklardan oluşan süreç ile aktif olarak gerçekleşmektedir ve denge içinde bir takım proanjiyojenik ve antianjiyojenik faktörler tarafından düzenlenmektedir.

Anjiyogenezde, aktive olmuş endotelial hücrelerin, kendi hücre iskeletlerini yeniden organize ettikleri bilinmektedir. Aynı zamanda bazı proteolitik enzimleri sekrete ederek komşu ekstraselüler matrikslerini (ESM) yeniden düzenlemektedirler. Mevcut damarların endotel hücrelerinin kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranının yıkımı, yeni kapillerlerin oluşması için gerekli olup, bu yıkım proteolitik enzimler sayesinde gerçekleştirilmektedir (Ausprunk ve Folkman, 1977). Bu basamakta rol alan en önemli enzimler plazminojeni plazmine çeviren bir proteaz olan plazmin aktivatörü (PA) ve matriks metaloproteinazlardır (MMP) (Mignatti ve Rifkin, 1996). Bazal membranın ve endotel hücrelerini kaplayan ESM bileşenlerinin proteolitik yıkımını takiben endotel hücreleri bu bölgeden göç etmeye başlamaktadırlar. Endotel hücreleri normalde tek bir tabaka halinde sıralanan ve yayılma etkisi göstermeyen hücre grubu iken, anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma özelliği göstermektedirler. ESM'den salınan VEGF'nin de içinde bulunduğu birçok büyüme faktörünün etkisi ile endotel hücre proliferasyonu gerçekleşmektedir. Takip eden süreçte ise, integrinler ve selektinler gibi membran proteinleri, mitojenik endotel hücrelerinin birbirlerine ve ESM'ye tutunmalarına yardımcı olarak, yeni kapillerin oluşumunu sağlamaktadırlar (Ausprunk ve Folkman, 1977). Anjiyogenez sürecinin tamamlanması ile birlikte anjiyojenik faktörlerde azalma, antianjiyojenik faktörlerde ise artış gözlenmektedir. VEGF'nin anjiyogenezdeki önemi, ESM komponentlerinin yeniden biçimlendirilmesinde rol alan MMP, serin proteaz ve kollajenaz enzimlerinin aktivitelerini arttırmasından ileri gelmektedir. VEGF hem sağlıklı dokulardaki hem de tümör dokularındaki anjiyogenezin temel indükleyicisi konumundadır, özellikle tümörü infiltre eden makrofajlar tarafından anoksik koşullarda ve NO'ya maruziyette salgılanmaktadır.

Tümör anjiyogenezini, tümör dokularının gelişimi amacıyla yeni damar dokularının oluşumu şeklinde tanımlanmaktadır. Tümör dokuları, yeni damar dokularının oluşumuna hem yeterli besin ve oksijen desteği bulabilmek için hem de artık ürünlerin uzaklaştırılabilmesi

için ihtiyaç duymaktadırlar (Nishida, Yano, Nishida, Kamura ve Kojiro, 2006) (Şekil 2.7). Bu sebeple, tümör anjiyojenizde anjiyojenik ve antianjiyojenik faktörler arasındaki dinamik denge, tümör endotel hücreleri etkisiyle anjiyojenik aktivite yönünde bozulmaktadır. Tümör anjiyojenezi gerçekleşmez ise, tümör hücrelerinin proliferasyonu da sabit bir düzeyde kalmaktadır. Ancak tümör anjiyojenezi gerçekleşecek olursa, tümör hücreleri orijin aldıkları bölgede büyüdüktan sonra dolaşıma geçerek yeni hedef organlara metastaz yapabilecek ve bu organda tekrardan anjiyojenezi indükleyebilme özelliğine sahip olabileceklerdir. Dolayısıyla tümör anjiyojenezi, hem metastaz başlangıcında hem de bitişinde önem taşımaktadır.



Şekil 2.7. Tümör anjiyojenezi (Nishida, Yano, Nishida, Kamura ve Kojiro, 2006)

Tümör anjiyojenezi ve anjiyojenezin inhibe edilmesinin kanser tedavisinde kullanılabilirliği fikri ilk olarak 1971'de Judah Folkman tarafından ortaya atılmıştır (Folkman, 1990). Anjiyojenezin tümör hücresi büyümesindeki rolüne ilişkin yapılan bir çalışmada, araştırmacılar, deney hayvanlarından alınan tümör hücrelerini, sağlıklı bir hayvandan alınan ve 1-2 hafta kadar canlı tutulabilen bir organa aktardıklarında, tümörlü hücrelerin 1-2 mm çapa kadar büyüdüklarini ve daha sonra büyümelerinin durduğunu gözlemlemişlerdir (Hanahan, Christofori, Naik ve Arbeit, 1996; Kong ve Crystal, 1998). Bu araştırma sonucunda, anjiyojenez olmaksızın tümör büyümesinin durduğu gösterilmiştir.

## 2.4. Genetik Polimorfizm

İnsan genomu yaklaşık olarak  $3 \times 10^9$  baz çiftinden oluşmaktadır ve DNA özelliklerinin farklı iki birey arasındaki benzerlik oranı % 99,9'dur. Bireyler arasındaki genetik çeşitlilik % 0,1'lik kısımdan kaynaklanmaktadır. Bu küçük farklılık aynı zamanda kanser gibi birçok kompleks hastalığın temelinde yatan etken olarak da rol oynayabilmektedir. Genetik polimorfizm bir popülasyonda farklı alellere bağlı ve genetik olarak belirlenmiş iki veya daha fazla alternatif fenotipin görülmesi durumudur (Lander ve diğerleri, 2001).

İnsan Genom Projesi, HapMap Projesi, ENCODE ve 1000 Genom Projelerinin tamamlanması ile birlikte, kanser gibi hastalıkların genetik altyapıları açısından önemli olan polimorfizmlerin incelendiği çalışmaların sayısı hızla artmıştır. Genetik polimorfizmlerin belirlenmesi, bazı gen polimorfizmlerinin bir hastalık riskini doğrudan ya da bir çevresel faktörün etkisi ile arttırabilmesi veya koruyucu özellik göstererek azaltabilmesi ve bu sayede risk grubundaki bireylerin belirlenebilmesini sağlamaktadır. Polimorfizmlerin biyolojik sistemlerdeki bu etkileri genin hangi bölgesinde meydana geldiği ile yakından ilgilidir. Ekzon bölgelerinde görülen polimorfizmler protein yapısını ve fonksiyonunu etkilerken intronlardaki polimorfizmler ekzon bölgesi varyantlarına göre daha az işlevsel role sahiptir (Hingorani ve diğerleri, 1999). Promoter bölgede görülen polimorfizmler ise, transkripsiyon faktörlerinin bağlanma etkinliklerinde değişikliklere sebep olabilmekte, genin transkripsiyon aktivitesini değiştirebilmektedir. Bilimsel çalışmalar proteinleri kodlayan gen bölgelerinin en az 1/3'ünün polimorfik olduğunu göstermiştir (Cavalli-Sforza, 1974).

### 2.4.1. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP)

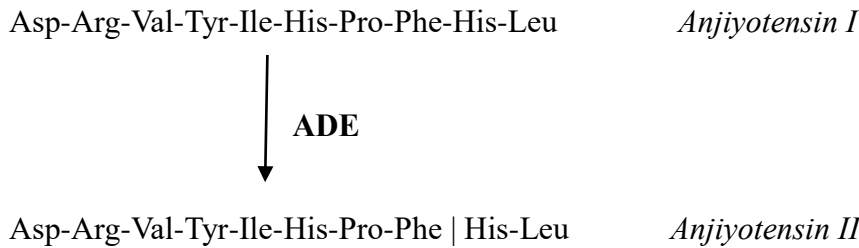
Bir popülasyonda bulunan bireylerin DNA dizilimleri arasındaki % 0,1'lik yapısal farklılığın büyük bir kısmını SNP'ler oluşturmaktadır. Aynı koşullarda bulunan bireylerden bazılarının hastalığa daha yatkın olması, aynı hastalığın farklı bireyler arasında farklı seyretmesi ve tedaviye verilen yanıtların bireyler arasında farklılıklar göstermesi SNP'ler ile açıklanabilmektedir (Battaloğlu E, 2010). Bazı SNP'lerin kanser gelişiminde duyarlılığa neden olduğu belirtilmiştir (Duarte ve diğerleri, 2005). Bu sebeple, günümüzde SNP'ler kanser, kardiyovasküler ve otoimmün hastalıklar gibi pek çok majör hastalıklarda risk tayini için genetik belirteçler olarak kullanılabilir.

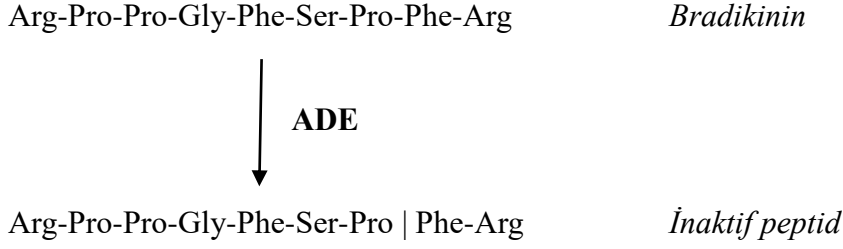
(Brookes, 1999). Aynı zamanda, tedavi sürecinin en doğru şekilde yönetilmesi hatta tedavinin bireyselleştirilmesi ve terapötik yanıtın öngörülmesinde de hastanın moleküler profilinden yani SNP'lerden yararlanılmaktadır (Lanfear ve McLeod, 2007).

SNP'ler adından da anlaşıldığı üzere tek nükleotitte meydana gelen nükleotid eklenmesi, kaybı veya yer değişimi gibi değişimleri ifade etmektedirler. SNP'ler, insan genomunda yaklaşık olarak her 1000 bazda bir tane olacak sıklıkta bulunmaktadır ve % 63'ünü C-T, % 17'sini T-C, % 8'ini C-G ve % 4'ünü A-T değişimleri, kalan % 8'lik kısmı ise nükleotid eklenmesi/kaybı oluşturmaktadır (Nussbaum, 2005). SNP'ler en çok görülen polimorfizm olmalarına rağmen, çoğu intron ve genler arası diziler gibi kodlama yapmayan DNA bölgelerinde oluşmaktadır (Chakravarti, 2001). SNP'ler, "rs" kodlaması ile başlayan numaralarla ifade edilmektedirler. Günümüzde, SNP'lerin belirlenmesine yönelik pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden birisi de PZR-RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluklu Polimorfizm)'dir. Bu yöntem diğer yöntemlere kıyasla, uygulama kolaylığı ve ucuzluğu sebebiyle SNP saptanmasında sıklıkla tercih edilmektedir.

## 2.5. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)

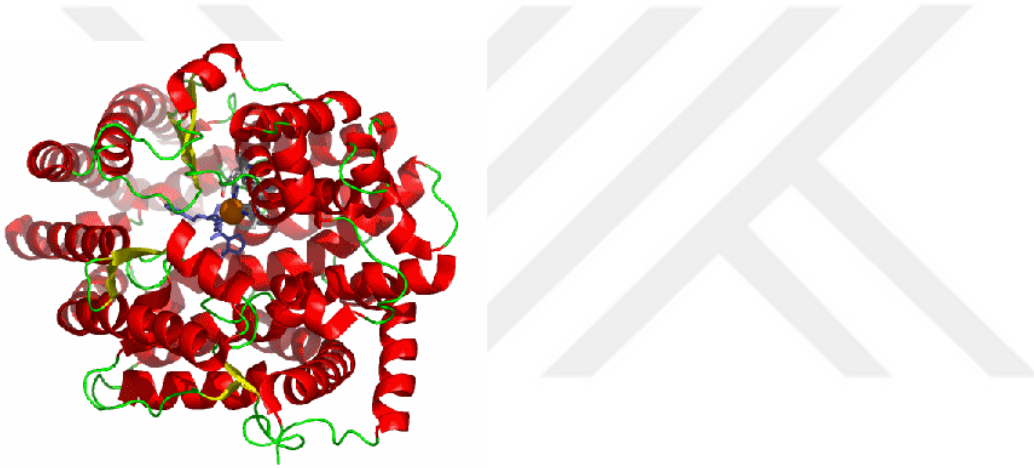
ADE, monomerik yapıda, çinko ve klorüre bağımlı olarak aktivite gösteren, hücre zarına bağlı olarak bulunan ve çinko metalopeptidaz sınıfına üye bir enzimdir. Peptidil-dipeptidaz A, Kininaz II olarak da isimlendirilen ADE, biyolojik olarak inaktif formdaki dekapeptit anjiyotensin I'in karbonil ucundan bir dipeptidin (His-Leu) koparılmasıyla aktif formdaki oktapeptit anjiyotensin II'ye dönüşmesinde, ayrıca bradikininin karbonil ucundan bir dipeptit koparılması ile inaktif formuna dönüştürülmesinde rol oynamaktadır (Skeggs, Kahn ve Shumway, 1956) (Şekil 2.8).





Şekil 2.8. ADE'nin rol aldığı reaksiyonlar

ADE, tek polipeptid zincirinden oluşan asidik bir glikoproteindir. Enzimin üç boyutlu yapısı düşünüldüğünde, aktif merkezi hücrenin dış yüzeyine doğru yönelmiştir ve merkezde bir Zn atomu bulunmaktadır (Şekil 2.9).



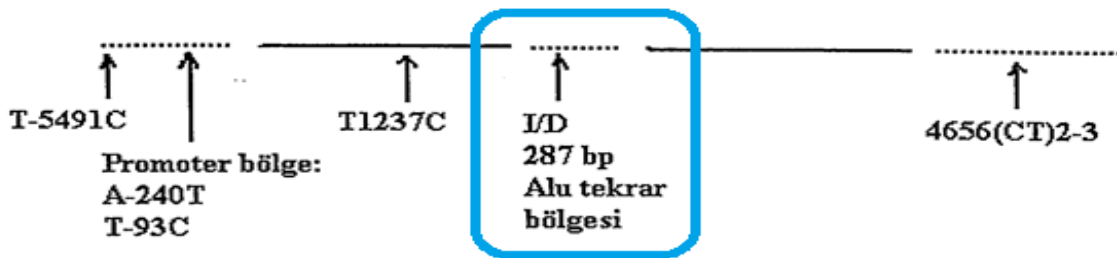
Şekil 2.9. ADE'nin üç boyutlu yapısı

ADE vücutta yaygın olarak endotel ve epitel hücrelerinde ve erkek spermatitlerinde bulunmaktadır. ADE'nin özellikle akciğerlerde endotel hücrelerin plazma zarlarının lüminal yüzeylerinde, böbreklerde renal vasküler ve proksimal tüplerin epitel hücrelerinin mikrovillus yüzeylerinde, endoplazmik retikulumda ve endositotik veziküllerde yoğunlaştığı immünohistokimyasal çalışmalar ile gösterilmiştir (Ryan, Ryan, Schultz, Whitaker ve Chung, 1975). ADE beyinde, substance P ve beyin enkefalinlerinin parçalanmasını katalizlemektir. ADE, serebellum ve korteksde düşük aktivitede iken, koroid fleksus ve bazal gangliada yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Ondetti ve Cushman, 1982). ADE'nin % 90-99'luk kısmı dokularda yer alırken, geri kalan % 1-10'luk kısım ise dolaşımda bulunmaktadır (Danser, 2003). Endotel ve epitel hücrelerdeki formu "somatik form" (sADE) olarak isimlendirilirken, spermatitlerde bulunan formu "germinal form" (Conway ve diğerleri, 2002) olarak bilinmektedir. Her iki formun primer

yapısı birbirinden farklı olmakla birlikte aynı gen bölgesinde kodlanmaktadır. 100 kDa moleküler ağırlığa sahip olan gADE'nin vücuttaki fonksiyonları bilinmemekle birlikte tek bir aktif bölgeye sahiptir. 170 kDa moleküler ağırlığa sahip olan sADE ise farklı katalitik özelliklere sahip iki aktif bölge taşır (Wei, Alhenc-Gelas, Corvol ve Clauser, 1991; Wei, Clauser, Alhenc-Gelas ve Corvol, 1992).

Kromozom 17q23'de lokalize olan ADE geni 26 ekson ve 25 intron bölgesi içermektedir. Eksonların her biri nükleotid sayısı olarak en az 88 (16. ekson) ve en fazla 481 (26. ekson) bç'den oluşmaktadır. İntronlar ise en az 150 (17 ve 25. intronlar) ve en fazla 2000 (20. intron) bç'den oluşmaktadır. ADE geninden iki farklı mRNA transkript edilmektedir. Bunlardan sADE 1-12 ve 14-26 ekson bölgerinden transkript edilirken, gADE ise 13-26 ekson bölgesinden kodlanmaktadır (Hubert, Houot, Corvol ve Soubrier, 1991).

ADE geninde, fonksiyonel olarak aktif bölgede yer alan ve baz dizilişleri bakımından birbirine %80 oranında benzeyen iki ekson (7. ve 20. ekson) bulunmaktadır (Hooper, Keen, Pappin ve Turner, 1987). ADE geninde çoğunluğu SNP olan 160'tan fazla polimorfizm tespit edilmiştir (Sayed-Tabatabaei, Oostra, Isaacs, van Duijn ve Witteman, 2006). Bunların sadece 34 tanesi kodlayan bölgelerde bulunmaktadır (Sayed-Tabatabaei ve diğerleri, 2006). ADE geni üzerinde en iyi bilinen polimorfik bölgeler, I/D, -5991T/C, -5466A/C, -3892T/C, -240A/T, -93T/C, -1237T/C, -2215G/A, -2350G/A ve 4656(C/T)<sub>3/2</sub>'dir. Bu polimorfizmler içerisinde literatürde en fazla ilgi ADE I/D tek nükleotid polimorfizmi üzerinde odaklanmıştır. ADE geninin 16. intronunda 278 baz çiftlik Alu elementinin varlığı veya yokluğuna bağlı olarak ortaya çıkan bu polimorfizm neticesinde, II ve DD homozigot, ID heteozigot genotipleri görülmektedir (Şekil 2.10) (McKenzie ve diğerleri, 2001).



Şekil 2.10. ADE geni 16. intron ve I/D polimorfizmi (Carluccio, Soccio ve De Caterina, 2001)



ADE I/D gen polimorfizminin farklı kanser türlerinde tümör gelişimi üzerine olan etkilerinin değerlendirildiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ebert ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, ADE I/D polimorfizminin erken evre mide karsinomu gelişimindeki önemi araştırılmıştır. II genotipinin sıklığı, DD genotipine göre daha az belirlenerek DD genotipinin erken evre mide karsinomu gelişiminde risk faktörü olabileceği bildirilmiştir (Ebert ve diğerleri, 2005) Renal kanser hastalarında yapılan bir başka çalışmada, ADE I/D polimorfizmi dağılımının, normal popülasyonda beklenen insidanstan farklılık göstermediği ve yüksek serum ADE düzeylerinin renal tümör gelişiminde yatkınlığa sebep olmadığı ileri sürülmüştür (Usmani ve diğerleri, 2000).

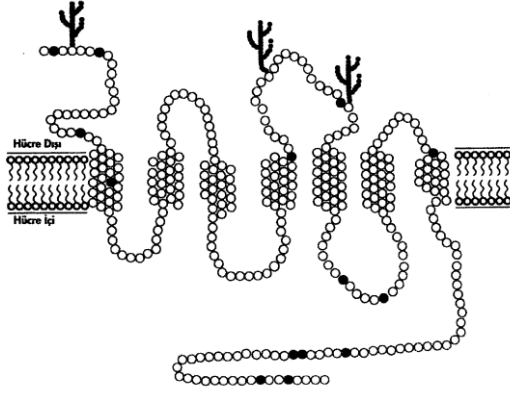
ADE'nin anjiyojenezdeki rolünü anjiyotensin II aracılığı ile gerçekleştirdiği bildirilmektedir. Deneysel çalışmalar ile ADE'nin AGTR1 üzerinden anjiyojeneze, AGTR2 üzerinden de anjiyojenezin inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Le Noble ve diğerleri, 1993; Munzenmaier ve Greene, 1996).

## **2.6. Anjiyotensin II Reseptörleri (AGTR1 ve AGTR2)**

Anjiyotensin II vücuttaki fizyolojik etkilerini dokuların plazma membranlarında yerleşmiş bulunan spesifik reseptörlerine bağlanarak göstermektedir. Reseptörün peptit tarafından tanınmasında peptidi oluşturan aminoasitlerin sırası önem arz etmektedir. Anjiyotensin II reseptörleri beyin, böbrek ve kalp gibi bir çok farklı dokuda farklı dağılım oranlarında bulunmaktadır (Herblin ve diğerleri, 1991). Reseptörlerin dokulardaki heterojen dağılımı, dokunun Anjiyotensin II'ye yanıtını önemli ölçüde etkilemektedir.

Anjiyotensin II'nin AGTR1 ve AGTR2 isimli iki tip reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerin sadece % 34'ü aminoasit dizilimi açısından aynıdır (Burnier ve Brunner, 2000). Dolayısıyla değişik dokulardaki dağılım oranları da farklılık göstermektedir. Anjiyotensin II'nin etkilerinin büyük bir kısmının AGTR1 aracılığı ile olduğu bilinmektedir. AGTR1 reseptörü yedi transmembran bölgesi içermektedir ve G protein ailesine bağlıdır (Şekil 2.11). AGTR1, vücutta vasküler dokularda, vasküler düz kas hücreleri, beyin, böbrekler, kalp ve karaciğerde bulunmaktadır ve anjiyotensin II'nin nöronal, kardiyovasküler, endokrin, hepatik sistem, böbrekler ve diğer organlardaki vazokonstriksiyon, Na<sup>+</sup> alımının artışı, renin sekresyonunun baskılanması, endotelin seviyesinin artırılması, vazopressin salınımının artırılması, sempatik aktivasyon,

miyositlerde hipertrofi, vasküler ve kardiyak fibroz, miyokardiyal kasılmanın artırılması, aritmiler, plazminojen aktivatör inhibitör I'in uyarılması, süperoksit oluşumu ve apoptozun tetiklenmesi gibi tüm fizyolojik etkilere aracılık etmektedir.



Şekil 2.11. Anjiyotensin II Tip I reseptörü

AGTR2 ise vasküler dokular ve beyinde lokalizedir. AGTR2'nin fetal ve embriyojenik dokularda yüksek oranda bulunurken, erişkin dokularda çok az miktarda bulunması, hücre büyümesi ve farklılaşması üzerindeki etkilerinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. AGTR2 reseptörlerinin uyarılması ile endotel hücreleri ve damar düz kas hücreleri gibi bir çok hücrede büyümenin durduğu gösterilmiştir (Stoll ve diğerleri, 1995). AGTR2'nin patolojik hücre büyümesinin inhibisyonu üzerinde etkilerinin yanında NO üretiminin artışı ve apoptoz sürecinde de etkileri olduğu düşünülmektedir.

AGTR1 geni 3. kromozomun uzun kolunda (3q21-q25), 5 ekzon ve 4 introndan oluşan 55 kb uzunluğuna sahip bir gendir. AGTR1 geninde, kodlayan bölge (ekson 5) ve 3'kodlanmayan bölge (UTR) içerisinde +573, +1062, +1166, +1517, +1878, -168, -535 ve 825. pozisyonlarda bir çok polimorfizm tanımlanmıştır (Duncan, Scholey ve Miller, 2001). Bununla birlikte 5'UTR'de -1424, -810, -521, -153 pozisyonlarında ve dördüncü ekzonda +55 pozisyonunda başka polimorfizmler de tanımlanmıştır. Anjiyotensin II AGTR1 ve AGTR2 reseptörlerinin çeşitli kanserlerin oluşumu ve ilerlemesi ile ilgili olduğu bildirilmektedir. AGTR1 gen polimorfizminin araştırıldığı ilk çalışma Bonnardeaux ve diğerleri tarafından genin 3' UTR'de bulunan +1166. pozisyonundaki A→C değişimi ile esansiyel hipertansiyonlu hastalar üzerinde gerçekleştirilmiştir (Bonnardeaux ve diğerleri, 1994). Chen ve diğerleri tarafından meme kanseri hastalar ve kontrol grubundan oluşturulan bir meta analiz çalışmasında +1166C/A gen

polimorfizmde CC homozigotuna sahip kişilerde meme kanseri riskinde azalma olduğu ve meme kanseri gelişiminde bu genotipin koruyucu bir faktör olabileceği bildirilmiştir (Chen, Chen, Dou ve Xu, 2015). Li ve diğerleri tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, +1166C/A gen polimorfizmi ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (Li ve diğerleri, 2015).

## 2.7. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

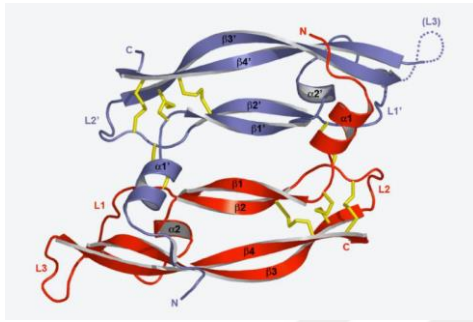
Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), büyüme faktörü olarak tanımlanan ailenin bir üyesidir. 34-46 kDa ağırlığında, heparine bağlanan dimerik bir glikoproteindir. VEGF endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan, plasentada vaskülojenezi ve embriyonik gelişim esnasında anjiyojenezi uyaran bir sinyal proteinidir. Tümör büyümesi ve metastazını içeren patolojik bir çok hastalığın etiolojisinde VEGF yer almaktadır. Bu sebeple ilk keşfedildiği andan günümüze kadar artan bir ilgiyle araştırılmaktadır (Claesson-Welsh, 2008). VEGF gen ailesinin, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve PlGF olmak üzere 7 üyesi bulunmaktadır (Roy, Bhardwaj ve Yla-Herttuala, 2006). Tamamında homolog domainler bulunmaktadır.

İnsanda, disülfid bağları ile bağlı homodimerlerin oluşturduğu farklı VEGF-A izoformları bulunmaktadır: VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>148</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub> (Byrne, Bouchier-Hayes ve Harney, 2005; Chakrabarti, Cukiernik, Hileeto, Evans ve Chen, 2000; Ferrara ve Davis-Smyth, 1997). Tamamı kromozom 6p21.3 gen bölgesinde kodlanan bu izoformlar, molekül ağırlıkları ve biyolojik özellikleri itibariyle farklılıklar göstermektedirler. Hücreler bu izoformları aynı anda üretebilmektedirler. VEGF<sub>121</sub> VEGF-A'nın heparine bağlanmayan tek izoformudur (Ferrara ve Davis-Smyth, 1997). VEGF<sub>121</sub> ve VEGF<sub>165</sub> hücrede en fazla bulunan ve anjiyojenez sırasında en etkin olan izoformlardır. Bu izoformlar üretildiklerinde dolaşıma geçmektedir, diğer izoformlar ise heparin içeren proteoglikanlara büyük oranda bağlı olduklarından ESM'de depolanmakta ve dolaşıma çok az miktarda geçmektedir (Latil ve diğerleri, 2000).

167 aminoasitten oluşan VEGF-B'nin monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmasında rol aldığı bilinmektedir. VEGF-C 388 aminoasitten oluşmaktadır ve lenfatik sistemin gelişiminde, vasküler ve lenfatik endotelyal hücreler üzerindeki mitojenik aktivitesi ile rol oynamaktadır. 334 aminoasitten oluşan VEGF-D, VEGF-C gibi lenfatik sistemin

gelişiminde görev almaktadır (Clauss, 2000). Aminoasit dizilimi açısından 1/4 oranında VEGF-A ile benzerlik gösteren VEGF-E, endotel hücrelerinin proliferasyonunda ve kan damarlarının geçirgenliğinin artırılmasında görevlidir. VEGF gen ailesinin tanımlanan ilk üyesi olan PlGF ise 152 aminoasitten oluşmaktadır.

Dimerik yapıda bulunan VEGF, anti-paralel  $\beta$ -tabakaları şeklinde organize olmuş monomerlerin iki adet disülfit bağı ile bağlanması sonucunda oluşmaktadır (Hoeben ve diğerleri, 2004) (Şekil 2.12).



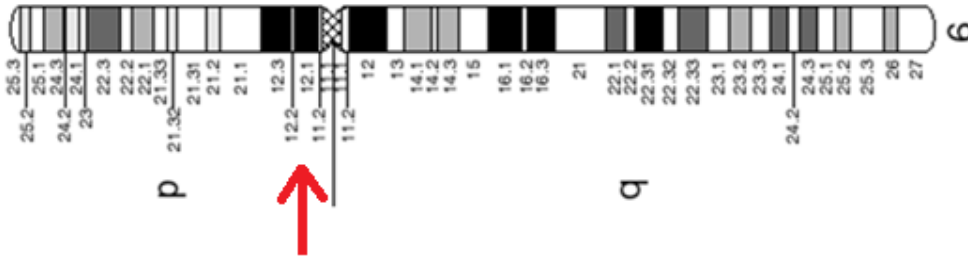
Şekil 2.12. VEGF'nin üç boyutlu yapısı

VEGF molekülü biyolojik aktivitesini reseptörüne bağlanarak gerçekleştirmektedir. VEGF'nin tirozin kinaz yapısında olan üç reseptörü bulunmaktadır: VEGFR-1 (fms like tyrosine kinase-1; *flt-1*), VEGFR-2 (kinase domain region; *KDR*) ve VEGFR-3 (fms like tyrosine kinase-4; *flt-4*). VEGFR-1 ve VEGFR-2 endotel hücrelerde lokalize iken, VEGFR-3 lenf damarları üzerinde lokalizedir (Podar ve Anderson, 2005). VEGF reseptörlerinin aktivasyonu neticesinde pek çok hücre içi sinyal iletim proteini fosforile olarak, endotel hücrelerinin farklılaşması, proliferasyonu ve migrasyonunu sağlayan hücre içi yolları harekete geçirmektedir. Yüksek afiniteli transmembran tirozin kinaz reseptörleri olan VEGFR-1 ve VEGFR-2, anjiyojenez sırasında ve hipoksi varlığında aşırı eksprese olmaktadır ve endotel hücrelerinin proliferasyon, invazyon ve migrasyonuna aracılık etmektedir (Neufeld, Cohen, Gengrinovitch ve Poltorak, 1999). VEGFR-3 vaskülojenez sırasında aşırı eksprese olurken, embriyonik gelişimin tamamlanmasından sonra ise lenfatik endotel hücrelerinde sınırlı kalmaktadır.

VEGF vücutta koroid fleksus epitel hücreleri, korpus luteum, adrenal korteks, akciğer alveolar hücreleri, hepatositler, renal glomerül epitel hücreleri, böbrek proksimal tübül hücreleri, makrofajlar, fibroblastlarda sentezlenmektedir. Endotel hücrelerinde VEGF

üretimi gerçekleşmemesine rağmen, bu hücrelerin üzerinde VEGF'nin bağlanması için reseptörleri bulunmaktadır (Das ve Vasudevan, 2007). VEGF bu reseptörlere bağlandığında tirozin fosforilasyonunun aktivasyonu ile sonuçlanan ve hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeylerinin artmasına sebep olan sinyal yolağı aktif hale gelmiş olur. Endotel hücrelerde, hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeylerinin artması da eNOS'un ekspresyonunu tetiklemekte ve NO üretimini arttırmaktadır (Hood, Meininger, Ziche ve Granger, 1998). eNOS'un aktivitesi VEGF'nin anjiyojenezi stimüle etmesi için gereklidir (Quinn, Peters, De Vries, Ferrara ve Williams, 1993).

6. kromozomun kısa kolunda 6p12p21'de lokalize olan VEGF geni, 8 ekzon ve 7 intron içermektedir (Şekil 2.13) (Tischer ve diğerleri, 1991).



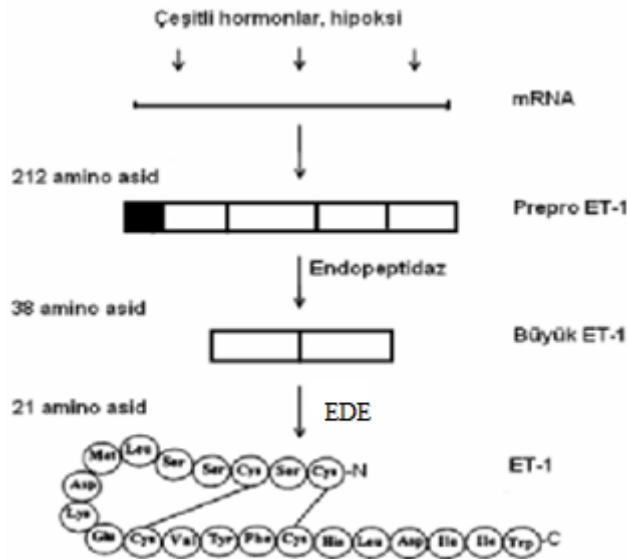
Şekil 2.13. VEGF geni lokalizasyonu (Tischer ve diğerleri, 1991)

VEGF geninde +936C/T, -2578C/A, -406C/T ve -1154G/A gibi en az 30 tane SNP tanımlanmıştır (Tischer ve diğerleri, 1991). Bu SNP'lerden bir çoğunun kansere karşı bireysel duyarlılıkla ilişkili olduğu ve VEGF ekspresyonu ile VEGF serum/plazma düzeylerini değiştirebileceği belirtilmektedir (Hein ve diğerleri, 2015; Tie ve diğerleri, 2014). VEGF -2578C/A, +936C/T ve -460C/T SNP'lerinin akciğer kanserli hastalarda kanser duyarlılığı, tümör büyümesi ve radyoterapi duyarlılığı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Yin ve diğerleri, 2012). VEGF +936C/T, +405C/G, -460T/C ve -2578C/A polimorfizmlerinin meme kanseri riski üzerindeki etkisinin değerlendirildiği başka bir çalışmada VEGF -2578C/A polimorfizminin meme kanseri gelişme riskini artırabileceği öne sürülmüştür (Rezaei, Hashemi, Sanaei, Mashhadi ve Taheri, 2016). Yapılan son çalışmalar, VEGF ve VEGF ile ilişkili genlerin bazı SNP'lerin serum VEGF düzeylerini etkileyerek gliomların da dahil olduğu bazı tümörlerin riskini arttırabildiğini göstermektedir (Linhares ve diğerleri, 2018). VEGF geninin promotor bölgesinde yer alan bir polimorfizm olan VEGF -2578C/A polimorfizminin (Shahbazi ve diğerleri, 2002)

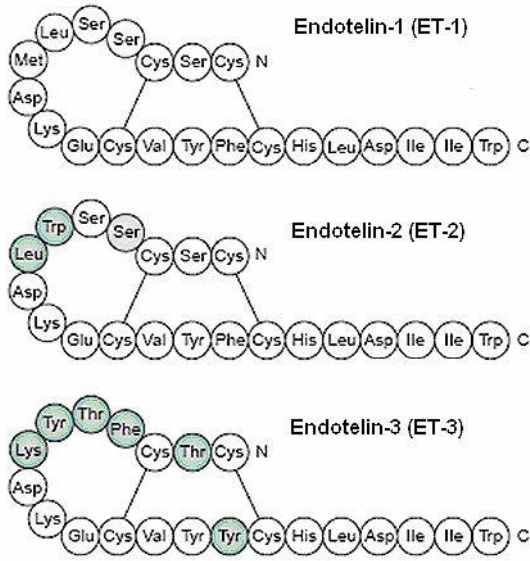
plazma VEGF düzeylerini değiştirdiği bildirilmektedir (Steffensen, Waldstrom, Brandslund ve Jakobsen, 2010). VEGF geninin 3'UTR'de bulunan VEGF +936C/T polimorfizmi de (Watson ve diğerleri, 2000) plazma VEGF düzeyine etki eden fonksiyonel bir polimorfizmdir (Renner, Kotschan, Hoffmann, Obermayer-Pietsch ve Pilger, 2000).

## 2.8. Endotelin-1 (ET-1)

212 aminoasit rezidüsünden oluşan preproendotelinin endopeptidazlar aracılığı ile 38 aminoasitten oluşan proendoteline dönüşmesini takiben daha sonra endotelin dönüştürücü enzim (EDE) ile 21 aminoasit içeren yapı endoteline dönüşmektedirler (Arai, Hori, Aramori, Ohkubo ve Nakanishi, 1990; Sakurai ve diğerleri, 1990). Endotelinlerin aminoasit dizilimindeki farklılıklara göre üç tipi izole edilmiştir. Proendotelinin EDE enzimi aracılığıyla triptofan-valin bağının kırılması ile ET-1 (şekil 2.14) ve ET-2, triptofan-izolösin bağının kırılması ile de ET-3 oluşmaktadır (Inoue ve diğerleri, 1989) (şekil 2.15). ET-1 endotel hücrelerde, kan, sinir ve glia hücrelerinde, vasküler düz kas ve intestinal hücrelerde, kardiyak hücrelerde, akciğer, böbrek ve pankreasta temel tür olarak yer alırken, ET-2 ve ET-3 beyin, gastrointestinal system ve adrenal gland gibi farklı bazı doku gruplarında bulunmaktadır (Nyborg ve diğerleri, 1991; Ohkubo ve diğerleri, 1990).



şekil 2.14. Endotelin-1'in sentezi (Masaki, 2004)



Şekil 2.15. Endotelinlerin moleküler yapıları (Tamirisa, Frishman ve Kumar, 1995)

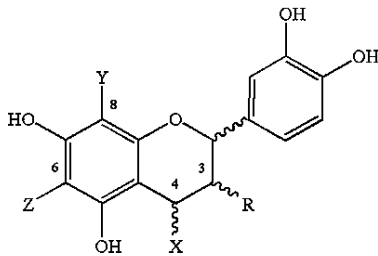
Endotel hücrelerde sekretuar granüller bulunmadığından, hücrelerde üretilen ET-1 ya depolanmakta ya da salınmaktadır. Dolaşımında çok küçük konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Schneider ve diğerleri, 2000). ET-1 üretimi, adrenalin, vazopresin, trombin, anjiyotensin II, bazı sitokinler ve büyüme faktörleri ile artarken, PKC ve kalsiyum şelatörleri ile azalmaktadır. ET-1 salınımını hücre içinde stimüle eden sinyal yolağı kalsiyum bağımlı PKC sinyal yolağıdır (Emori ve diğerleri, 1991). Bununla birlikte, kan akışının artması ile endoteldeki artan gerilime duyarlı reseptörler NO salgılanmasını tetiklemekte ve NO'da ET-1 yapımını ve salınımını inhibe etmektedir (Gonon, Erbas, Broijersen, Valen ve Pernow, 2004; Miller ve Burnett, 1992). Reseptörler etkisi ile ET-1'in plazma yarı ömrü oldukça kısadır (Gasic, Wagner, Vierhapper, Nowotny ve Waldhausl, 1992). ET-1 biyolojik açıdan, platelet adezyonu ve agregasyonu, fibroblastlarda kollajen sentezi, monosit, lökosit ve makrofajlardan çeşitli sitokinlerin salınması ve aldosteron sentezlenmesi gibi fonksiyonlarda görev almaktadır (Galie ve diğerleri, 2004). ET-1 vasküler endotelde salınır ve endotel hasarı için bir belirteçdir. ET-1'in endotel hücrelerinde, vasküler düz kas hücrelerinde ve fibroblastlarda proliferasyonu tetikleyici mitojenik aktiviteleri bulunmaktadır (Bobik, Grooms, Millar, Mitchell ve Grinpukel, 1990). Bunun yanısıra VEGF aracılığı ile anjiyogenez uyardığı bildirilmektedir (Salani ve diğerleri, 2002; Simeone, Teson, Latini, Carducci ve Venuti, 2004). ET-1 hidrofilik yapıda ve büyük bir peptid olduğu için plazma membranını geçememekte, bu yüzden etkisini spesifik reseptörleri aracılığı ile göstermektedir. Memelilerde ET-1'in biyolojik fonksiyonlarını gerçekleştiren iki tür reseptörü

bulunmaktadır. Bu reseptörler, G proteini ile bağlı reseptör ailesinde yer alan 7 segmentten oluşan polipeptid yapıdaki  $ET_A$  ve  $ET_B$ 'dir (Sakurai ve diğerleri, 1990). Endotelin alt tipleri içerisinde,  $ET_A$  reseptörüne afinitesi en yüksek olan ET-1'dir.  $ET_B$  reseptörünün endotelin alt tiplerine selektivitesi yoktur (Sakamoto ve diğerleri, 1991).  $ET_A$  reseptörleri yüksek düzeyde vasküler düz kas hücrelerinde bulunmakla birlikte nöronlarda, karaciğer hücrelerinde, lipid dokuda, fibroblastlarda ve kardiyomiyositlerde bulunmaktadırlar.  $ET_B$  reseptörleri daha çok vasküler endotelde ve düz kas hücrelerinde bulunmakla birlikte, epitel hücrelerinde, sinir dokusunda, yağ dokusunda, karaciğer hücrelerinde ve fibroblastlarda bulunmaktadır (Endoh ve diğerleri, 1998).

MSS'de endotelinler heterojen bir dağılım sergilemektedirler. Nöronal dokularda ET-1 ve ET-3, beyin sapında ET-1, hipofiz bezinde ise ET-3 daha yoğun olarak bulunmaktadır (Matsumoto, Suzuki, Onda ve Fujino, 1989). ET'lerin beyindeki işlevleri net olarak bilinmemekle birlikte, lokal serebral kan akımının düzenlenmesinde rol aldıkları tahmin edilmektedir (Giaid ve diğerleri, 1989).

## 2.9. Nitrik Oksit (NO) - Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)

NO, birçok hücre içi ya da hücreler arası sinyal yolağında, fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda görev alan, vazoregülasyon ve hücrel toksisiteyi gösteren biyoregülatör bir moleküldür (Kuyumcu, Duzgun, Ozmen ve Besler, 2004) (Şekil 2.16). NO'nun düz kas gevşemesi, trombosit agregasyonu, nöronal uyarı iletimi, damar basıncının ayarlanması ve kan hücreleri ile endotel arasındaki etkileşimin düzenlenmesi gibi birçok biyolojik olayda rolü olduğu bilinmektedir.



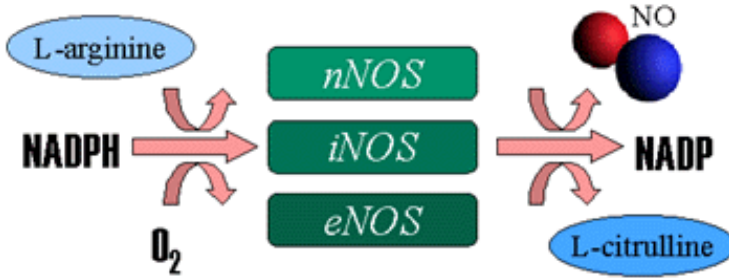
Şekil 2.16. NO'nun yapısı

MSS'de NO, serebral damar endotel hücreleri, mikroglialar ve astrosit hücreler, nonadrenerjik-nonkolinerjik nöronlar ve glutamerjik nöronlar olmak üzere başlıca dört



kaynaktan sağlanmaktadır ve en yüksek yoğunlukla serebellumda, en düşük yoğunlukta medullada bulunmaktadır. NO'nun hipotalamus, orta beyin, hipokampus ve kortekste nöroendokrin fonksiyonun ve beyin kan akımının lokal düzenlenmesinde rolü vardır (Moncada, Palmer ve Higgs, 1991; Prado, Watson, Kuluz ve Dietrich, 1992).

NO sentezi, L-argininden NOS enzimi aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 2.17). Yarı ömrü oldukça kısa olan NO hızlı ve kararlı bir şekilde oksidasyon sonucu inaktif formdaki nitrit ( $\text{NO}_2$ ) ve nitrata ( $\text{NO}_3$ ) dönüşmektedir. NOS'un nöronal (nNOS veya NOS1,) indüklenebilir (iNOS veya NOS-2) ve endotelial (eNOS veya NOS3) olmak üzere üç farklı yapısal izoformu tespit edilmiştir (Imai ve diğerleri, 2000) (Şekil 2.17). Bu üç NOS izoformu aminoasit dizilimi bakımından benzerlik (% 50) göstermekte iken, buldukları hücre tipleri ve üretilen NO'nun miktarı bakımından farklılıklar göstermektedirler.



Şekil 2.17. NO sentezi ve NOS izoformları (Castle, 2005)

130 kDA molekül ağırlığındaki iNOS makrofaj, hepatosit, kondrosit, vasküler düz kas, akciğer epiteli, langerhans hücreleri, fibroblast, nötrofil, mast hücreleri ve kupfer hücreleri gibi çeşitli hücrelerde sentezlenmektedir (Lowenstein ve Snyder, 1992). eNOS'un esas olarak endotel hücrelerinde bulunduğu saptanmıştır (Shimizu, Sakai, Umemura ve Ueda, 1997). 160 kDA ağırlığındaki nNOS'un beyin dokusunun bütün bölgelerinde, presinaptik uçlarda ve postsinaptik nöronlarda bulunduğu ve sinyal iletiminin modülasyonuna katkıda bulunduğu ortaya konulmuştur (Bredt ve Snyder, 1994; Brenman ve Bredt, 1997). eNOS'un aminoasit dizilimi nNOS ile %60 oranında benzerlik göstermektedir. eNOS hücrede membrana bağlı bulunurken, nNOS sitozolde serbest halde bulunmaktadır.

eNOS 134 kD'luk iki benzer monomerin oluşturduğu dimer yapıdır ve (Bradford ve diğerleri) ve ilk defa endotel hücrelerinde tanımlanmıştır. Aktivitesi hücre içi kalsiyum

konsantrasyonu ile düzenlenmektedir. Aktif olması ve fonksiyon gösterebilmesi için N-terminal oksijenaz bölgesi ve C-terminal redüktaz bölgesini içeren dimerik formda olması gerekmektedir (Albrecht, Stegeman, Heeringa, Henning ve van Goor, 2003). N-terminal oksijenaz bölgesi, L-arjinin, tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>) ve 'hem' için bağlanma bölgeleri içerirken, C-terminal redüktaz bölgesi, NADPH, FAD ve FMN flavinleri ve kalmodulin için bağlanma bölgeleri içermektedir. eNOS'u oluşturan monomerler, kromozom 7q35-36 üzerinde bulunan 21 kb'lik, 26 ekson taşıyan bir gen tarafından kodlanmaktadır. Monomer yapıların biraraya gelerek kararlı dimer yapıyı oluşturması hem molekülünün bağlanması ile mümkün olmaktadır (Law, O'Donnell, Gauthier ve Quirion, 2002).





### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Kırmızı kapaklı düz serum tüpleri,
- K<sub>3</sub>EDTA'lı tüpler,
- Steril pipet uçları (10-100-1000 µL),
- Mikrosantrifüj tüp,
- Sıvı azot,
- Hematoksilen-eozin boyası,
- Ksilen,
- EtOH,
- Asit alkol,
- Lityum karbonat,
- Amonyak çözeltisi,
- DNA izolasyon kiti,
- Sodyum klorür,
- Potasyum klorür,
- Potasyum dihidrojen fosfat dihidrat,
- Disodyum hidrojen fosfat 12 hidrat,
- RNaz A,
- Proteinaz K,
- Agaroz,
- EDTA,
- Deiyonize su,
- Sodyum hidroksit,
- Tris,
- Borik Asit,
- Etidyum bromür,
- 100-1000 bç DNA standardı,
- İnsan tam kanından izole edilen genomik DNA örnekleri,
- SNP primerleri,
- Magnezyum klorür,
- dNTP karışımı,

- PZR tamponu,
- Taq DNA polimeraz,
- Mineral yağ,
- Restriksiyon enzimleri (Bfu I/Bsu I, Ssp I, CviAII, Bgl II),
- Restriksiyon enzimi tamponu,
- Çalışma grubuna ait PZR ürünleri,
- ExoSAP-IT™ PZR ürünü saflaştırma enzimi,
- BigDye terminator v3.1 döngü dizileme kiti,
- TRIzol,
- Kloroform,
- İzopropanol,
- DNaz,
- Mangan II klorür,
- Gen ekspresyon primerleri,
- Taqman prob,
- First strand cDNA sentez kiti,
- Gotaq prob master karışımı,
- Sealing foil,
- Fosfat tamponu,
- Bradford reajanı,
- Çinko sülfat,
- FAD,
- NADPH,
- Nitrat redüktaz,
- Sülfanilamid,
- NEDD,
- Mezür,
- Balon joje,
- Erlenmayer,
- Portüp,
- Spatül,
- Eldiven,

### 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Soğuk zincir buz paketi,
- Sıvı azot tankı,
- Mikropipet seti (0,2-2 µL, 1-10 µL, 10-100 µL, 20-200 µL, 10-100 µL, 100-1000µL),
- Işık mikroskobu,
- Soğutmalı santrifüj,
- Derin dondurucu (-80 °C),
- Vorteks,
- Isı bloğu,
- Manyetik karıştırıcı,
- Çeker ocak,
- Mikrodalga fırın,
- Yatay jel elektroforez tankı,
- Yatay jel elektroforez cihazı ekipmanları (jel tepsi, taraklar),
- Güç kaynağı,
- Jel görüntüleme cihazı,
- Nanodrop,
- Termal döngü cihazı,
- Sanger dizileme cihazı,
- Su banyosu,
- Etüv,
- Light cyclers,
- Hassas terazi,
- Spektrofotometre,
- ELISA okuyucu

### 3.3. Hasta ve Kontrol Grubunun Nitelikleri

Bu çalışma kapsamına Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahi Ünitesi'ne 2 Aralık 2015-27 Ekim 2017 tarihleri arasında başvuran, DSÖ Evre II-III-IV supratentorial glial tümör tanısı konmuş, ancak radyoterapi/kemoterapi tedavisine başlanmamış 96 erişkin hasta ve 104 sağlıklı erişkin birey dahil edilmiştir. Gazi

Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahi Ünitesi'ne başvuran, patoloji raporları ile Diffüz Astroitik ve Oligodendroglial Tümör teşhisi konulmuş, ancak radyoterapi ya da kemoterapi tedavisine başlanmamış, 18 yaşın üstünde olan hastalar ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 18 yaşın üstünde olan sağlıklı kontroller araştırmaya dahil edilmiştir. Tüm gönüllülerin, çalışma hakkında bilgilendirilmesi yapılmış ve çalışmaya dahil edildiklerine dair yazılı onamları alınmıştır. Çalışma için Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 04.11.2015 tarihli 2015-12/189 nolu karar ile onay alınmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları sırasıyla  $49,09 \pm 1,33$  ve  $48,60 \pm 1,34$ , vücut kitle indeksleri (VKI) sırasıyla  $24,28 \pm 0,34$ ,  $25,57 \pm 0,26$ 'dır. Hasta grubu 68 erkek ve 28 kadından, kontrol grubu 74 erkek ve 30 kadından oluşmaktadır. Çalışmaya dahil edilen hastaların patoloji raporları ile onaylanmış gliom tipi, evresi ve sayısı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

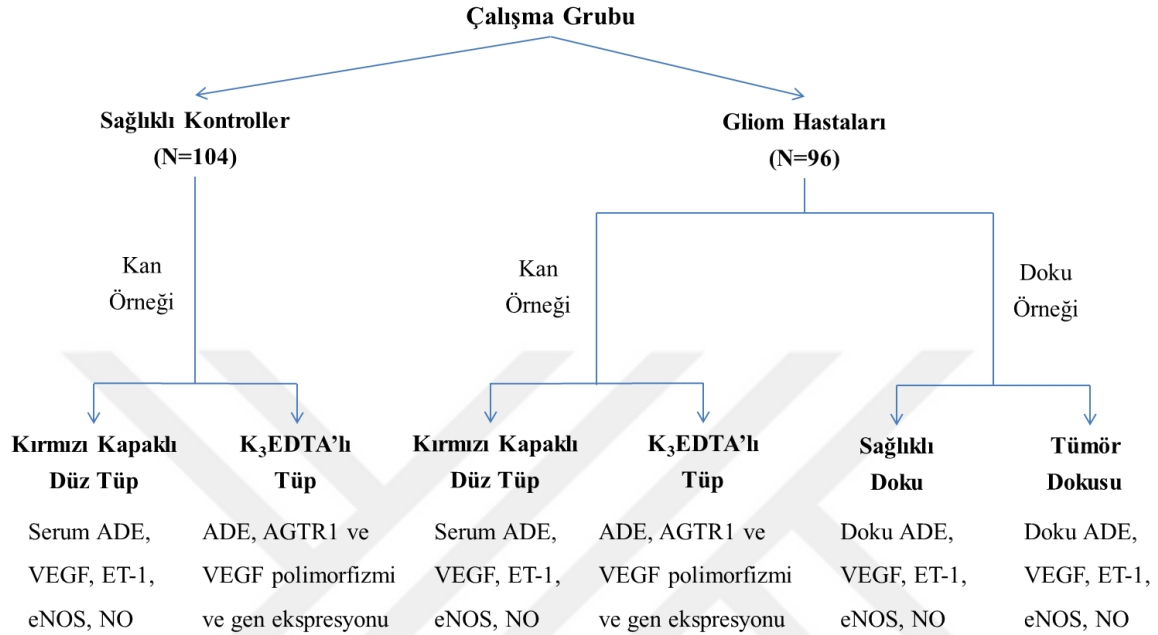
Çizelge 3.1. Çalışma grubundaki hastaların gliom tipi, evresi ve sayısı

Gliom Tipi	Evre	Hasta Sayısı
Difüz Astroitom	II	19
Anaplastik Astroitom	III	9
Glioblastom	IV	50
Oligodendrogliom	II	6
Anaplastik Oligodendrogliom	III	4
Oligoastroitom	II	5
Anaplastik Oligoastroitom	III	3

#### 3.4. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması, Operasyon Sonrası Çıkarılan Dokunun Sağlıklı ve Tümörlü Kısımlarının Mikroskop Altında Ayırımı

Çalışma grubunu oluşturan bireylerden alınan kan örneklerinin bir kısmı kırmızı kapaklı düz serum tüplerine diğer bir kısmı  $K_3EDTA$ 'lı tüplere toplanarak, soğuk zincir ile araştırma laboratuvarına transfer edilmiştir. Kırmızı kapaklı tüplere toplanan kan örnekleri, 4500 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO ölçümleri için ayrılan serum örnekleri  $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de dondurularak çalışılacak güne kadar saklanmıştır.  $K_3EDTA$ 'lı tüplere alınan kan örnekleri ise DNA ve

RNA izolasyonu için kullanılmıştır. Hasta ve kontrollerden biyolojik materyallerin alınması ve bu materyallerde parametrelerin ölçümü ile ilgili protokol aşağıda şematize edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Örnek toplama protokolü

Çalışmada, tüm gliyal tümör cerrahisi aynı ekip tarafından mikrocerrahi tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tümör rezeksiyonu sırasında histopatolojik inceleme için yeterli hacimde doku ayrıldığından emin olunduktan sonra, hastalardan alınan bu doku örnekleri, dokunun tümörü temsil edip etmediğinin teyidi için intraoperatif olarak incelenmek üzere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Bölümü'ne gönderilmiştir. Frozen cihazında kesit almak üzere hazırlanan dokular, -30 °C'de dondurulduktan sonra 4-5 mikron kalınlığında alınan kesitler, kısa hematoxilen-eozin boyama yöntemi ile boyanmıştır. Işık mikroskobu altında incelenen ve tanı teyidi yapılan doku örneklerinin yarısı, ependorf tüplerine konarak tez kapsamında yapılacak çalışmalar için ayrılmıştır. Normal beyin parankimi olarak alınan kısımlar mikroskop altında, subkortikal yerleşimli tümörlerde lezyona ulaşabilmek için yapılan kortisektomi sırasında çıkartılmak zorunda olan alanlardan, kortikal yerleşimli tümörlerde ise tümörün çevresinin dönülmesi sırasında çıkarılan hassas beyin bölgelerine yakın olmayan taraftan ve tümör ile normal doku sınırından seçilmiştir. Dolayısıyla doku örneklerinin kontrol grubunu oluşturmak için, operasyon sırasında cerrah tarafından çıkarılan tümör dokusunun çevresindeki tümörsüz ve nörolojik hasar yaratmayacak güvenli alandan bir



kısım kullanılmıştır. Bu araştırmada hastanın sağlığı için gerekli operasyon dışında herhangi bir işlem yapılmamış olup, sadece operasyon esnasında çıkarılan dokular kullanılmıştır. Histopatolojik incelemeler neticesinde patoloji raporları ile çalışmaya dahil edilecek tümör grubu içerisinde olduğu kesinleşen ve gönüllü olur formunu imzalayan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalara ait tümör dokusu ve sağlıklı doku örnekleri -196 C’de bulunan sıvı azot içerisinde transfer edilerek deneysel aşamaya kadar -80 C’de muhafaza edilmiştir.

### 3.5. Kan rneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

Çalışma popülasyonunda bulunan örneklerin ADE I/D, AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A bölgelerine ait gen polimorfizmlerinin belirlenebilmesi amacıyla DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu için, GeneMatrix Quick kandan DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Kite ait protokol aşağıda verilmiştir.

✓ Kitin kutusunda bulunan spin kolonlar çıkarılarak, 40 L QB Tamponu ilavesiyle kolonların aktifleştirilmesi sağlanır ve kan transfer edilinceye kadar oda sıcaklığında bekletilir.

✓ Yeni bir ependorf tüpüne (1,5-2 mL), K<sub>3</sub>EDTA’lı tüpte bulunan kan örneğinden 200 L alınır. Eğer downstream uygulamalar için RNA’sız DNA gerekli ise, 2 L RNaz A ilave edilir.

✓ Karışım iyice vortekslenir ve 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.

✓ Karışıma 10 L Proteinaz K eklenir ve daha sonra 200 mL Sol QB Tamponu ilave edilir.

✓ Karışım iyice vortekslenir ve 10 dk 70 C’de kuru ısı bloğunda inkübe edilir.

✓ 200 L % 96’lık etanol eklenerek dikkatlice karıştırılır. Karışım iyice vortekslenir.

✓ Daha sonra 1 dk 12 000 rpm’de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası elde edilen lizat, toplama tüpünün içerisinde yer alan ve QB Tamponu ile aktifleştirilen spin kolana transfer edilir.

✓ 2 dk 12 000 rpm’de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası alt fazdaki sıvı dökülür ve kolon, toplama tüpüne yeniden yerleştirilir.

✓ Kolon 500 L Yıkama Tamponu QBX<sub>1</sub> ile yıkanır ve 1 dk 12 000 rpm’de santrifüj edilir.

- ✓ Santrifüj beklenirken, Elüsyon Tamponunun ısınması amacıyla 70 °C'de bulunan kuru ısı bloğuna koyulur.
- ✓ Santrifüj sonrası elüent atılır ve kolon tekrar toplama tüpüne yerleştirilir.
- ✓ Kolon bu kez 500 µL Yıkama Tamponu QBX<sub>2</sub> ile yıkanır ve 2 dk 12 000 rpm'de santrifüj edilir.
- ✓ Santrifüj sonrası elüent atılır ve kolon yeni bir 1,5 mL'lik ependorf içine yerleştirilir.
- ✓ Kolonda bağlı olan DNA'yı membrandan ayırmak amacıyla önceden 70 °C'de ısıtılan Elüsyon Tamponundan 50-200 µL kolona eklenir ve 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
- ✓ 1 dk 12 000 rpm'de santrifüj edilir. Kolondan DNA eldesini arttırmak amacıyla, elüent pipetle çekilerek tekrar kolona bırakılır ve tekrar 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
- ✓ 1 dk 12 000 rpm'de santrifüj edilir. Kolon ependorfun üzerinden alınarak, ependorfun kapağı kapatılır. Elde edilen DNA analiz için hazırdır ve -20 °C'de uzun süre saklanabilir.

### 3.5.1. Agaroz jel elektroforezi ve spektrofotometrik ölçüm

Hasta ve kontrollere ait genomik DNA'ların izolasyonunu takiben, hem izolasyonun görsel kontrolünü sağlamak, hem de izole edilen DNA örneğinin kalitesini ve miktarını tespit etmek amacıyla Agaroz Jel Elektroforezi ile analiz yapılmış ve Nanodrop ND-1000 Spektrofotometre ile de kantitasyon yapılmıştır. Bu ölçümler, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü bünyesinde, aşağıdaki prosedüre göre gerçekleştirilmiştir.

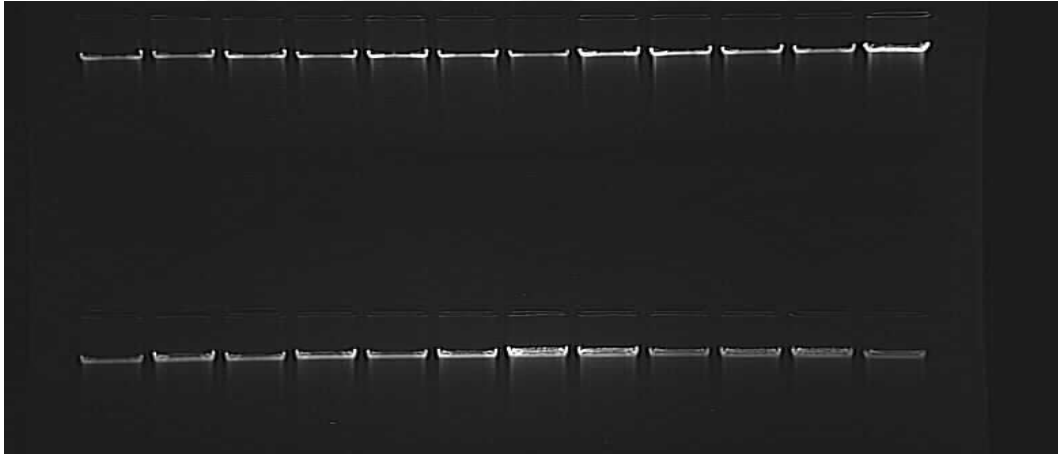
Agaroz Jelin Hazırlanması ;

- ✓ 1 gr agaroz tartılarak erlene koyulur. Üzerine 100 mL hacimde 1X TBE (Tris-borate-EDTA) Tampon ilave edilir. Hafifçe çalkalanıp mikrodalga fırına koyulur.
- ✓ Mikrodalga fırın örnek kaynamaya başlayana kadar yüksek ayarda çalıştırılır. Kaynadıktan sonra erlen mikrodalgadan çıkarılır.
- ✓ Çözelti muslukta biraz soğutulur.
- ✓ Etidyum bromür (EtBr) eklenir ve çalkalayarak tüm çözeltiliye dağılması sağlanır.
- ✓ Agaroz jel yavaş bir şekilde jel tepsisine dökülür, uygun taraflar takılır ve jelin polimerize olması için en az yarım saat beklenir.

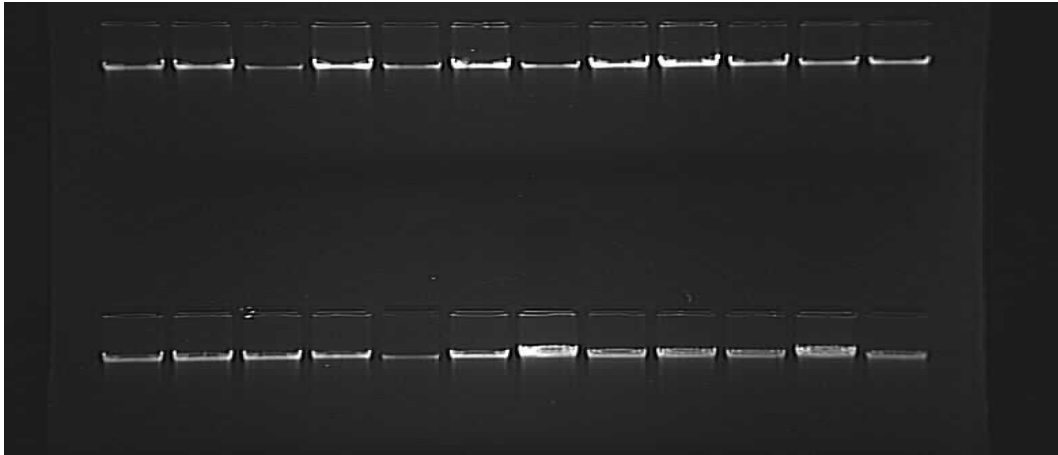
### Örneklerin Jele Yüklenmesi ;

- ✓ Jel tanka yerleştirilir.
- ✓ Tank jelin üstünü kapatacak kadar TBE ile doldurulur.
- ✓ PZR ürünlerinde bir kuyucuğa da DNA standardı koyulur.
- ✓ 80-100 V'da 30-60 dk yürütülür.

DNA örneklerinin görüntülenmesi SYNGENE (Gene GeniusBioImagingSystem) marka UV cihazında yapılmıştır. Jel görüntüleme sistemi ile elde edilen bant görüntüleri bilgisayara aktarılarak yorumlanmış ve siyah beyaz olarak fotoğraflanmıştır. Elde edilen izole DNA örneklerinin saflığının ve konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla Nanodrop ND-1000 kullanılmıştır. Kontrol ve hasta gruplarına ait örnek jel görüntüleri Resim 3.1 ve 3.2'de gösterilmiştir.



Resim 3.1. Kontrol grubuna ait örnek DNA izolasyon görüntüsü



Resim 3.2. Hasta grubuna ait örnek DNA izolasyon görüntüsü

### 3.5.2. PZR-RFLP ve PZR-DNA dizi analizi

ADE geni I/D, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A bölgelerine ait polimorfizmleri tayin etmek amacıyla kullanılacak uygun primer setleri literatür araştırması yapılarak belirlenmiş ve Çizelge 3.2’de verilmiştir. AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T ve AGTR1 -825T/A bölgelerine ait polimorfizmleri belirlemek amacıyla ise her bir bölge için National Center for Biotechnology Information (NCBI)’da yer alan referans dizileri dikkate alınarak PZR’de kullanılacak olan forward ve reverse primerler tasarlanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Çalışılacak gen bölgelerine ait primer setleri

ADE I/D Geni Primerleri	T <sub>m</sub> (°C)
<b>Primer F:</b> 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3' (24mer)	<b>67,0</b>
<b>Primer R:</b> 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3' (25mer)	<b>66,0</b>
AGTR1 -168A/G Primerleri	
<b>Primer F:</b> 5'-GCA ACT TGG GTA GCA TGT CC-3' (20mer)	<b>60,5</b>
<b>Primer R:</b> 5'-CTC CCC ATC GAT CAC CGC-3' (18mer)	<b>60,7</b>
AGTR1 -535C/T Primerleri	
<b>Primer F:</b> 5'-GGC ATC AAC CTC ACT TGA CC-3' (20mer)	<b>60,5</b>
<b>Primer R:</b> 5'-GAG CTG GGG GTA CAG GAG TA-3' (20mer)	<b>62,5</b>
AGTR1 -825T/A Primerleri	
<b>Primer F:</b> 5'-AAA TTC GGA GCT GCC TCC TC-3' (20mer)	<b>60,5</b>
<b>Primer R:</b> 5'-GGA CAT GCT ACC CAA GTT GC-3' (20mer)	<b>60,5</b>
VEGF +936C/T Primerleri	
<b>Primer F:</b> 5'-ACC CCA GCC TTT GTT TTC CA-3' (20mer)	<b>58,4</b>
<b>Primer R:</b> 5'-CCC TCC CAA CTC AAG TCC AC-3' (20mer)	<b>62,5</b>
VEGF -2578C/A Primerleri	
<b>Primer F:</b> 5'-GAT GGA AAG GGA GGG TTG GG-3' (20mer)	<b>62,5</b>
<b>Primer R:</b> 5'-GCC AGC ACT AAG GAA CGT CT-3' (20mer)	<b>60,5</b>

ADE geni I/D, AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A bölgelerine ait PZR; 20-150 ng DNA, 5 pmol forward primer, 5 pmol reverse primer, 0,5 mM toplam dNTP, 0,5 U Taq DNA Polymeraz, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 µL tampon (5X Tampon) olmak üzere toplam 25 µL’de gerçekleştirilmiştir.

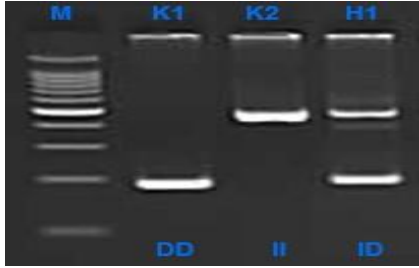
PZR için kullanılan PZR programı (Touchdown PZR):

1. 94 °C'de 3 dk,
2. 94 °C'de 1 dk
3. 68 °C'den, 59 °C'ye 1 dk 45sn
4. 72 °C'de 2 dk

5. 72 °C'de 10 dk olmak üzere toplam 21 döngü olarak uygulanmıştır. PZR sonrası genotiplere ait PZR ürünleri % 2'lik agaroz jel elektroforezde görüntülenerek bant profilleri belirlenmiştir ve amplifikasyon ürünleri görsel olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bantların kaç bç'ye karşılık geldiğini belirleyebilmek amacıyla 100–1000 bç arasındaki bantları içeren DNA standardı (Solis BioDyne 100 base pair DNA Ladder) kullanılmıştır.

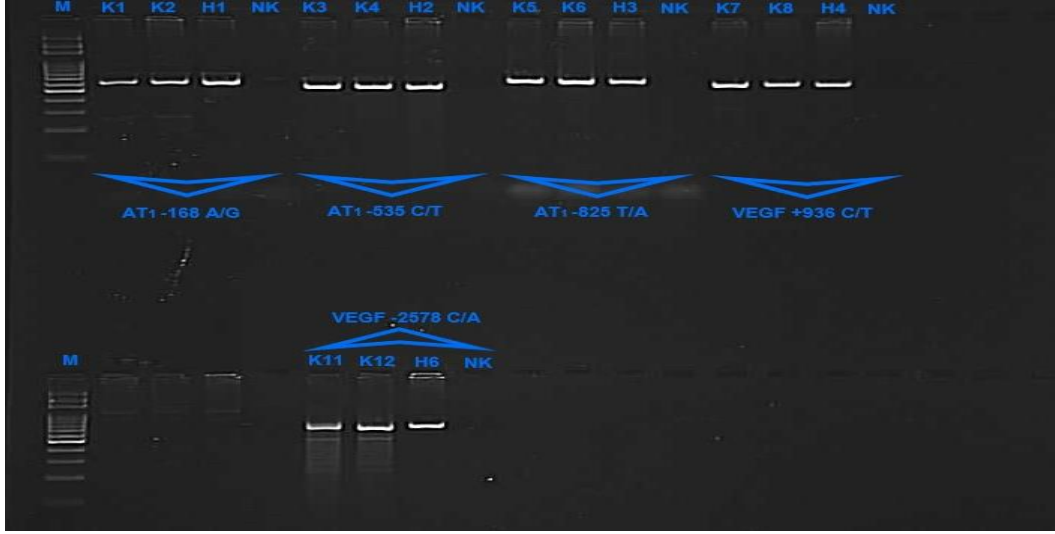
#### Primerlerin optimizasyonu

ADE geninde, Touchdown PZR yöntemi ile II, ID ve DD genotiplerinde optimizasyon reaksiyonları çeşitli bağlanma sıcaklıkları aralıklarında gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon görüntüsü Resim 3.3'te verilmiştir.



Resim 3.3. ADE geninde Touchdown PZR (67 °C-58 °C) bant profilleri (M: Markır, K1, K2: Kontrol Örnekleri, H1: Hasta Örneği)

Diğer primerlerin optimizasyonunu sağlamak amacıyla her bir primer için birbirlerinden farklı 2 kontrol, 1 hasta ve 1 negatif kontrol örneği kullanılarak Touchdown 68 °C'de, 25 µL'de PZR gerçekleştirilmiştir. PZR sonrası % 2'lik jel dökülerek, jel 100V 300 mA'de 50 dk yürütülmüş ve görüntülenmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.4. Primerlerin optimizasyonu, Touchdown PZR (68 °C-59 °C) bant profilleri (M: Markır, K1-K12: Kontrol Örnekleri, H1-H6: Hasta Örnekleri, NK: Negatif Kontrol)

Sonuç olarak, ADE geni I/D PZR'nin Touchdown 67 °C'de, AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A bölgelerine ait PZR'nin ise Touchdown 68 °C'de gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

AGTR1 ve VEGF gen bölgelerine ait polimorfizm tayininde kullanılan her bir primerin çoğalttığı gen bölgesinin uzunluğu, kesimde kullanılan Restriksiyon Enzimi (RE) ve RE ile kesim reaksiyonu sonunda oluşan bant sayıları ve uzunlukları Çizelge 3.3'de verilmektedir.

Kesim öncesinde, PZR ile çoğaltılan gen bölgesinin agaroz jel elektroforez ile kontrolü yapıldıktan sonra uygun ticari RE'ler ile kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir ve elde edilen ürünler tekrar % 2'lik jele yüklenip, sonuçlar değerlendirilmiştir. Kesim reaksiyonlarına ait deneysel protokol aşağıdadır.

RE ile kesim protokolü ;

Tampon (10X)	→ 0,5 µL	37 °C'de	16 saat
Su (PZR)	→ 4,5 µL	80 °C'de	20 dk (Enzim inaktivasyonu)
RE	→ 0,25 µL	10 °C'de	∞
PZR Ürünü	→ 2,75 µL	termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir.	

Çizelge 3.3. RE'ler, kesim sonrası bant uzunlukları ve sayıları

Gen Bölgesi	Primerin Çoğalttığı Gen Bölgesinin Uzunluğu	Kullanılan Restriksiyon Enzimi	Normal Durumda Oluşan Bant Sayısı ve Uzunlukları	Polimorfik Durumda Oluşan Bant Sayısı ve Uzunlukları
AGTR1 -168A/G	588 bç	Bfu I / Bsu I	Kesim yok. Tek bant (588 bç)	Tek kesim var. İki bant (240 + 348 bç)
AGTR1 -535C/T	513 bç	Ssp I	İki kesim var. Üç bant (103 + 142 + 268 bç)	Tek kesim var. İki bant (103 + 410 bç)
AGTR1 -825T/A	599 bç	TthHB27I	Kesim yok. Tek bant (599 bç)	Tek kesim var. İki bant (273 + 326 bç)
VEGF +936C/T	559 bç	CviAII	Kesim yok. Tek bant (559 bç)	Tek kesim var. İki bant (287 + 272 bç)
VEGF -2578C/A	676 bç	Bgl II	Tek kesim var. İki bant (258 + 418 bç)	Kesim yok. Tek bant (676 bç)

AGTR1 -825T/A bölgesindeki SNP'den kaynaklı genotip farklılıklarını belirlemeye yönelik kullanılacak RE'nin ticari olarak piyasada bulunamaması sebebiyle bu bölgeye ait polimorfizm, bölgenin PZR ile çoğaltılması ve jelde görüntülenmesini takiben DNA dizi analizi ile belirlenmiştir. PZR ürününün saflaştırılması için, "ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent" (ThermoFisher Scientific, USA) saflaştırma enzimi kullanılarak kit prosedürüne uygun bir şekilde saflaştırma gerçekleştirilmiştir. Gliom hastaları ve sağlıklı kontrollere ait örneklerin DNA dizi analizleri, Sanger Dizileme yöntemi ile MacroGen Hollanda laboratuvarında ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Applied Biosystems, Foster City, CA).

### 3.6. Kan Örneklerinden Total RNA'nın İzolasyonu

Çalışma grubunda bulunan örneklere ait ADE, AGTR1 ve VEGF gen ekspresyonlarının belirlenebilmesi amacıyla total RNA izolasyonu yapılmıştır. Bunun için K<sub>3</sub>EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri kullanılmıştır. Kandan RNA izolasyonu, TRIzol ile manuel metot kullanılarak yapılmıştır. Metoda ait protokol aşağıdadır:

- ✓ K<sub>3</sub>EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri ve trizol -80 °C'den çıkarılarak oda sıcaklığında çözülmesi beklenir.

✓ Eriyen örneklerden 1 mL kan temiz 2 mL'lik bir ependorf tüpe alınarak üzerine 1/1 oranında (1 mL) TRIZOL ilave edilir.

✓ Daha sonra herbir örnek tüpü içerisine 200 µL kloroform eklenir ve tüpler hafifçe çalkalanır.

✓ Tüpler oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.

✓ 10 dk sonrasında tüpler +4 °C'de 12 000 g'de 13-15 dk santrifüj edilir.

✓ Santrifüj sonrası tüplerde 3 ayrı katman oluştuğu gözlenir.

✓ En üstteki katman RNA kısmı olup, pipet yardımıyla yeni, temiz bir ependorf tüpüne aktarılır.

✓ Daha sonra bu tüplere 500 µL izopropanol eklenir ve tüpler 1 dk kadar hafifçe aşağı yukarı çalkalanır.

✓ Çalkalama işleminden sonra tüpler oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.

✓ 10 dk sonra tüpler +4 °C'de 12 000 g'de 8 dk santrifüj edilir. Dipte oluşan beyaz pellet RNA'dır.

✓ Pellete dikkat etmek suretiyle yavaşça dökerek ya da pipet yardımıyla izopropanol uzaklaştırılır.

✓ Ardından tüplere 1 mL % 75'lik EtOH (Kawamura ve diğerleri, 2018) eklenerek pellet kaldırılır. Alkol kullanılarak yapılan bu aşama yıkama amaçlıdır.

✓ Yıkamayı takiben tüpler +4 °C'de 7 500 g'de 5 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası dipte beyaz pellet oluşur.

✓ Benzer şekilde pellete dikkat etmek suretiyle yavaşça dökerek ya da pipet yardımıyla EtOH uzaklaştırılır.

✓ Tüpler kurumunun tamamen olması amacıyla kapağı açık bir şekilde temiz bir yüzey üzerinde kurumaya bırakılır.

✓ Alkol uçunca tüplere içindeki pelletin büyüklüğüne göre 35-50 µL RNA içermeyen su eklenir ve pellet çözülür.

✓ Elde edilen RNA örneğinden 2 µL nanodrop ölçümü için 10 µL de agaroz jel elektroforezde görebilmek amacıyla kullanılarak, geriye kalan RNA stoğu Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (GZ-PZR) çalışmalarında kullanılmak üzere -80 °C'ye kaldırılır.

RNA'nın kalite ve miktar ölçümleri için % 1'lik Agaroz Jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılmıştır. Daha sonrasında GZ-PZR gerçekleştirilmiştir.



### 3.6.1. GZ-PZR

GZ-PZR uygulama reaksiyonları, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'ndaki Roche Light Cycler 480 cihazında gerçekleştirilmiştir. Denemeler ihtiyaç duyulduğunda (RNA izolasyonu, GZ-PZR uygulamaları vb) gerekli sayıda tekrar edilmiştir.

ADE, AGTR1 ve VEGF genlerinin göreceli ekspresyonlarını belirlemek amacıyla her bir gen için NCBI'da yer alan referans dizileri dikkate alınarak, GZ-PZR'de kullanılacak olan forward ve reverse primerler ile uygun probler tasarlanmış ve Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Gen ekspresyonlarını belirlemeye yönelik primer ve prob setleri

#### ADE Gen Ekspresyonuna Yönelik Primer ve Prob Setleri

Primer F: 5'-TCG GCC ATG TTG AGC TAC TTC-3'

Primer R: 5'-TCC CCA TGC AGC TCG TTC-3'

Taqman probe: 5'-FAM-AGC CGC TGC TGG ACT GGC TCC- TAMRA-3'

#### AGTR1 Gen Ekspresyonuna Yönelik Primer ve Prob Setleri

Primer F: 5'-TTG GAA ACA GCT TGG TGG TG-3'

Primer R: 5'-GAC AGC CCA TAG TGG CAA AG-3'

Taqman probe: 5'-FAM-ACA CTG GCC ACA GTC TTC AGC TTC A-TAMRA-3'

#### VEGF Gen Ekspresyonuna Yönelik Primer ve Prob Setleri

Primer F: 5'-CAG CTA CTG CCA TCC AAT CG-3'

Primer R: 5'-CAC ACA GGA TGG CTT GAA GA-3'

Taqman probe: 5'-FAM-ACC CTG GTG GAC ATC TTC CAG GAG T-TAMRA-3'

#### Housekeeping Gene ( $\beta$ -Actin)

Primer F: 5'-TCA CCC ACA CTG TGC CCA T-3',

Primer R: 5'-TCC TTA ATG TCA CGC ACG ATT T-3'

Taqman Probe : 5'-FAM-ATC CTG CGT CTG GAC CTG GCT-TAMRA-3'

### 3.6.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi

GZ-PZR'nin ilk aşaması olarak, örneklere ait cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA sentezi için ticari amaçla hazırlanmış First Strand cDNA sentez kiti kullanılmıştır.

#### RNA-Primer karışımının hazırlanması

RNA-primer karışımı protokolü Çizelge 3.5'de yer almaktadır.

Çizelge 3.5. RNA-Primer karışımı

İçerik	Hacim
RNA (1000ng)	Değişken
Oligo (dt) Primer (50pmol/μl)	0,5 μL
Su (PZR)	Değişken
<b>Toplam</b>	<b>13 μL</b>

Hazırlanan karışım termal döngü cihazında 65 °C'de 10 dk denatüre edilip hemen buza alınmıştır. Takip eden aşamada hazırlanan Ters Transkripsiyon karışımı eklenerek, toplam 20 μL'lik hacimde, belirtilen reaksiyon koşullarında ters transkripsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

#### Ters transkripsiyon karışımının hazırlanması

Ters transkripsiyon karışımı protokolü Çizelge 3.6'da yer almaktadır.

Çizelge 3.6. Ters transkripsiyon karışımı

İçerik	Hacim
Transkriptör Ters Transkriptaz Reaksiyon Tamponu (5X)	4,0 μL
RNase İnhibitör (40 U/μL)	0,5 μL
dNTP Karışımı (10 mM)	2,0 μL
Transkriptör Ters Transkriptaz Enzimi (20 U/μL)	0,5 μL
<b>Toplam</b>	<b>7,0 μL</b>

Ters transkripsiyon karışımı hazırlandıktan sonra aşağıda verilen reaksiyon koşulları uygulanmıştır.

### Reaksiyon Koşulları

25 °C'de 10 dk

55 °C'de 10 dk

85 °C'de 5 dk

cDNA sentezi sonrası % 2'lik agaroz jel elektroforezde görüntüleme yapıp, Nanodrop ND-1000 spektrofotometre ile elde edilen cDNA miktarı ölçülerek miktar tayini yapılmıştır.

Her bir primere ait örnekleri içeren cDNA'lar optimize edilen koşullara göre hazırlanan Gotaq probe master karışımı ile karıştırılarak cihaza ait 384'lük plate'lere yerleştirilmiş ve plate 14 000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında sealing foil ile plate kaplanarak Roche Light Cycler 480 cihazında optimize edilen sıcaklıklar seçilerek, protokole uygun hidroliz problemler için kullanılan PZR programı koşullarında amplifikasyon reaksiyonları gerçekleştirilmiştir.

### Verilere ait analizler

GZ-PZR işlemi sonrasında, analiz edilen her gen için, tüm hasta ve kontrol örneklerine ait pik profilleri belirlenmiştir. Pik profillerinden yararlanarak Cycle Threshold ( $C_T$ ) değerleri oluşturulmuştur. GZ-PZR sonuçlarına göre her bir örnek için elde edilen 3 farklı  $C_T$  değerinin ortalaması alınmıştır. Daha sonra hedef genin  $C_T$  değerinden referans genin  $C_T$  değeri çıkarılarak hasta ve kontrol grupları için ayrı ayrı  $\Delta C_T$  değerleri bulunmuştur. Benzer şekilde hasta ve kontrol  $\Delta C_T$  değerleri arasındaki farkın hesaplanmasıyla da  $\Delta\Delta C_T$  değeri bulunmuş ve bu değerden yararlanarak  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  metoduna göre (Livak ve Schmittgen, 2001) göreceli ekspresyon değerleri hesaplanmıştır.

### **3.7. ELISA Ölçümleri**

Hasta ve kontrollerden alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir. Bu serum örnekleri -80 °C'de derin dondurucuda çalışılacak güne kadar saklanmıştır. Serum ve doku örneklerinde anjiyogenez ile ilişkili parametreler olan serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri ticari amaçla hazırlanmış ELISA kitleri kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak ölçülmüştür.

Hasta grubundan elde edilen tümör dokuları ve komşu sağlıklı dokular mikrosantrifüj tüp içerisine alınarak, çalışılacak güne kadar -80 °C’de saklanmıştır. Doku homojenizasyonu aşağıdaki protokole göre gerçekleştirilmiştir:

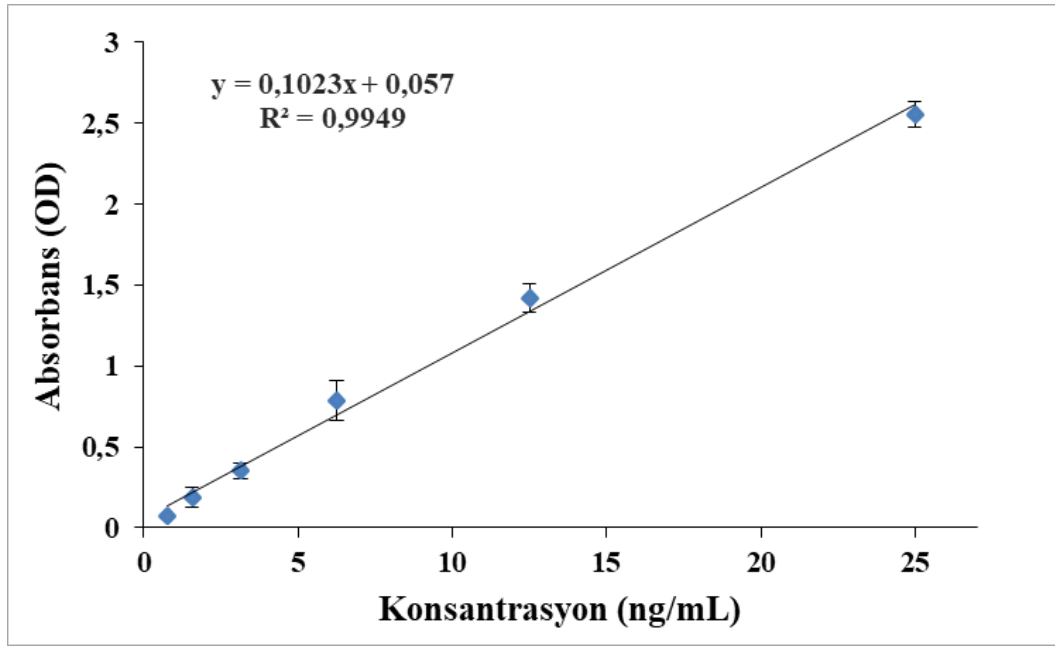
Tümör dokuları ve sağlıklı dokular -80 °C’den buz üzerine alınarak, yeterli hacimde soğuk Fosfat Tamponu (PBS) (0,01M, pH=7,4) ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonunda dokular hızlı bir şekilde, içerisinde sıvı azot bulunan havan içerisinde ezilmiştir. Daha sonra mikrosantrifüj tüplere alınarak tartılmış ve tekrar buza saplanmıştır. 1 gr dokuya doku ağırlığı (g):PBS (mL) olacak şekilde PBS ilave edilmiştir. Ultrasonik homojenizatör kullanılarak 3 kez 1’er dk aralıklarla 15 sn homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu aşamada dokunun ısınmaması ve proteinlerin denatüre olmamasına dikkat edilmiştir. Tüm dokuların ultrasonik homojenizatör ile homojenize edilmesinden sonra örnekler, 5 000 g’de 10 dk 4 °C’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant (homojenat), çöz/dondur döngüsünden kaçınmak amacıyla, küçük hacimlerde porsiyonlanarak yeni mikrosantrifüj tüplerine alınmıştır ve doku homojenizasyonu aşaması tamamlanmıştır. Her bir doku için Bradford yöntemi ile protein miktar tayini yapılmıştır (Bradford, 1976).

### **3.7.1. Serum ve doku ADE ölçümü**

Serum ve doku ADE düzeyleri Elabscience kiti (USA) kullanılarak ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir. İlk olarak her bir kuyucuğa 100 µL standart/kontrol/örnek ilave edilerek plağın üstü kapatılmış ve etüvde 37 °C’de 90 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklarda bulunan sıvı dökülerek her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Deteksiyon Antikoru ilave edilmiş ve tekrar plağın üstü kapatılıp etüvde 37 °C’de 60 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkanmıştır. Her kuyucuğa 200 µL ADE konjugatı ilave edilerek 30 dk etüvde 37 °C’de inkübe edildikten sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkanmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa 90 µL substrat solüsyonu eklenerek alüminyum folyo ile kapatılmış, 15 dk etüvde 37 °C’de bekletilmiştir. Reaksiyon, 50 µL stop solüsyonu ilavesi ile sonlandırılmıştır. ELISA okuyucuda 450 nm’de absorbanslar ölçülmüştür. Konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans ölçümlerinden kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Absorbansı bilinmeyen numunelerin konsantrasyonları bu kalibrasyon grafiğinden belirlenmiştir (Çizelge 3.7). Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleriyle oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. ADE standartlarının konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/mL)	Absorbans
25,00	2,5570
12,50	1,4175
6,25	0,7845
3,13	0,3525
1,57	0,1925
0,78	0,0725



Şekil 3.2. Serum/doku ADE kalibrasyon grafiği

Yöntem kesinliği (Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik)

ADE serum ve doku düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılan gün içi çalışmalarında üç farklı örnek seçilmiş ve bu örnekler üçer kez analiz edilmiştir. Ölçüm sonuçlarının standart sapması hesaplanarak tekrarlanabilirlikleri kontrol edilmiştir (Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9). Günler arası yapılan çalışmada ise üç farklı örnek üç gün analiz edilmiştir (Çizelge 3.10 ve Çizelge 3.11).

Çizelge 3.8. Serum ADE için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (ng/mL)	174,73	196,61	137,93
2. Ölçüm (ng/mL)	170,97	185,84	147,21
3. Ölçüm (ng/mL)	167,63	184,94	142,57
<b>Ortalama</b>	<b>171,11</b>	<b>189,13</b>	<b>142,69</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>3,55</b>	<b>6,50</b>	<b>4,82</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,08</b>	<b>3,43</b>	<b>3,38</b>

Çizelge 3.9. Doku ADE için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (ng/mL)	143,80	213,70	183,92
2. Ölçüm (ng/mL)	156,83	216,08	186,82
3. Ölçüm (ng/mL)	149,11	201,81	180,92
<b>Ortalama</b>	<b>149,91</b>	<b>210,53</b>	<b>183,89</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>6,55</b>	<b>7,64</b>	<b>2,95</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>4,37</b>	<b>3,63</b>	<b>1,60</b>

Çizelge 3.10. Serum ADE için günler arası tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
<b>I. Gün çalışması (ng/mL)</b>	<b>133,43</b>	<b>190,78</b>	<b>142,77</b>
<b>II. Gün çalışması (ng/mL)</b>	<b>136,75</b>	<b>193,65</b>	<b>129,52</b>
<b>III. Gün çalışması (ng/mL)</b>	<b>141,01</b>	<b>188,69</b>	<b>131,96</b>
<b>Ortalama</b>	<b>137,06</b>	<b>191,04</b>	<b>134,75</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>3,80</b>	<b>2,49</b>	<b>7,05</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,77</b>	<b>1,30</b>	<b>5,23</b>

Çizelge 3.11. Doku ADE için günler arası tekrarlanabilirlik

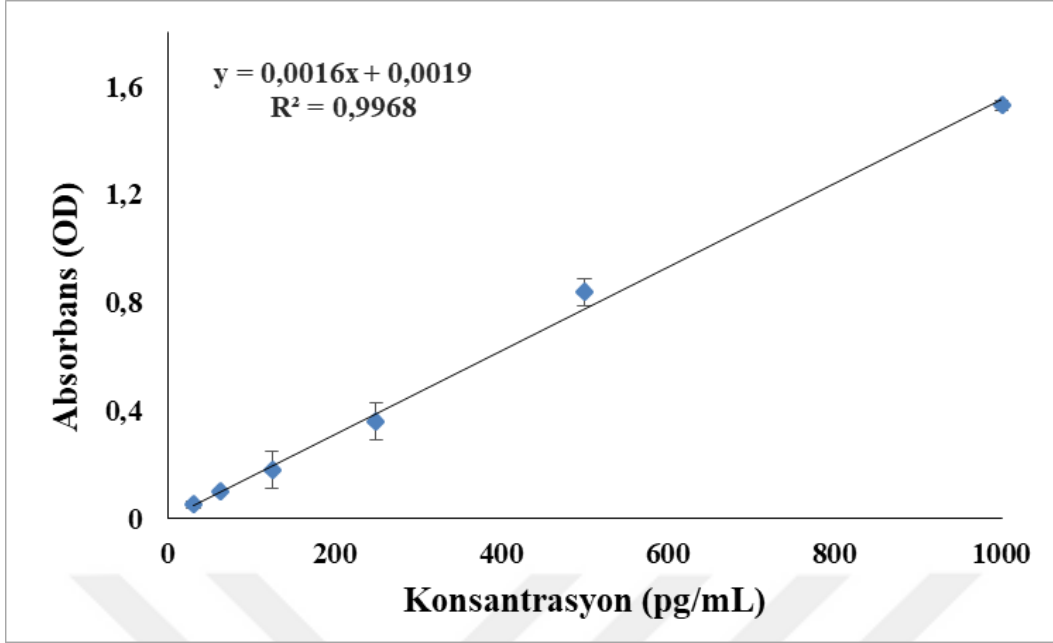
	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
<b>I. Gün çalışması (ng/mL)</b>	<b>150,31</b>	<b>159,27</b>	<b>176,11</b>
<b>II. Gün çalışması (ng/mL)</b>	<b>157,14</b>	<b>159,20</b>	<b>171,41</b>
<b>III. Gün çalışması (ng/mL)</b>	<b>156,83</b>	<b>164,37</b>	<b>170,99</b>
<b>Ortalama</b>	<b>154,76</b>	<b>160,95</b>	<b>172,84</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>3,86</b>	<b>2,96</b>	<b>2,84</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,49</b>	<b>1,84</b>	<b>1,64</b>

### 3.7.2. Serum ve doku VEGF ölçümü

Serum ve doku VEGF düzeyleri Elabscience kiti (USA) kullanılarak ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir. İlk olarak her bir kuyucuğa 100 µL standart/kontrol/örnek ilave edilerek plağın üstü kapatılmış ve etüvde 37 °C'de 90 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklarda bulunan sıvı dökülerek her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Deteksiyon Antikoru ilave edilmiş ve tekrar plağın üstü kapatılarak etüvde 37 °C'de 60 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkanmıştır. Her kuyucuğa 200 µL VEGF konjugatı ilave edilmiştir. 30 dk etüvde 37 °C'de inkübasyon yapıldıktan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkanmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa 90 µL substrat solüsyonu eklenmiş ve alüminyum folyoyla kapatılarak 15 dk etüvde 37 °C'de bekletilmiştir. Reaksiyon, 50 µL stop solüsyonu ilavesi ile sonlandırılmıştır. ELISA okuyucuda 450 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Absorbansı bilinmeyen numunelerin konsantrasyonları bu kalibrasyon grafiğinden belirlenmiştir (Çizelge 3.12). Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleriyle oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 3.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.12. VEGF standartlarının konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
1000,00	1,5310
500,00	0,8390
250,00	0,3600
125,00	0,1830
62,50	0,1000
31,25	0,0520



Şekil 3.3. Serum/doku VEGF kalibrasyon grafiği

#### Yöntem kesinliği (Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik)

VEGF serum ve doku düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılan gün içi çalışmalarında üç farklı örnek seçilmiş ve bu örnekler üçer kez analiz edilmiştir (Çizelge 3.13 ve Çizelge 3.14). Ölçüm sonuçlarının standart sapması hesaplanarak tekrarlanabilirlikleri kontrol edilmiştir (Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9). Günler arası yapılan çalışmada ise üç farklı örnek üç gün analiz edilmiştir (Çizelge 3.15 ve Çizelge 3.16).

Çizelge 3.13. Serum VEGF için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (pg/mL)	55,06	47,56	63,81
2. Ölçüm (pg/mL)	53,19	53,88	70,06
3. Ölçüm (pg/mL)	52,56	51,32	71,38
<b>Ortalama</b>	<b>53,60</b>	<b>50,92</b>	<b>68,42</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>1,30</b>	<b>3,18</b>	<b>4,04</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,43</b>	<b>6,24</b>	<b>5,91</b>



Çizelge 3.14. Doku VEGF için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (ng/mL)	2,87	2,39	1,89
2. Ölçüm (ng/mL)	2,66	2,63	2,06
3. Ölçüm (ng/mL)	2,42	2,36	2,07
<b>Ortalama</b>	<b>2,65</b>	<b>2,46</b>	<b>2,01</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,23</b>	<b>0,15</b>	<b>0,10</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>8,50</b>	<b>6,02</b>	<b>5,04</b>

Çizelge 3.15. Serum VEGF için günler arası tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
I. Gün çalışması (pg/mL)	54,13	49,44	46,94
II. Gün çalışması (pg/mL)	53,88	53,88	48,88
III. Gün çalışması (pg/mL)	51,31	52,56	47,56
<b>Ortalama</b>	<b>53,11</b>	<b>51,96</b>	<b>47,79</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>1,56</b>	<b>2,28</b>	<b>0,99</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,94</b>	<b>4,39</b>	<b>2,07</b>

Çizelge 3.16. Doku VEGF için günler arası tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
I. Gün çalışması (ng/mL)	2,68	2,38	2,00
II. Gün çalışması (ng/mL)	2,77	2,12	1,90
III. Gün çalışması (ng/mL)	2,65	2,06	2,06
<b>Ortalama</b>	<b>2,70</b>	<b>2,19</b>	<b>1,99</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,06</b>	<b>0,17</b>	<b>0,08</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,31</b>	<b>7,78</b>	<b>4,07</b>

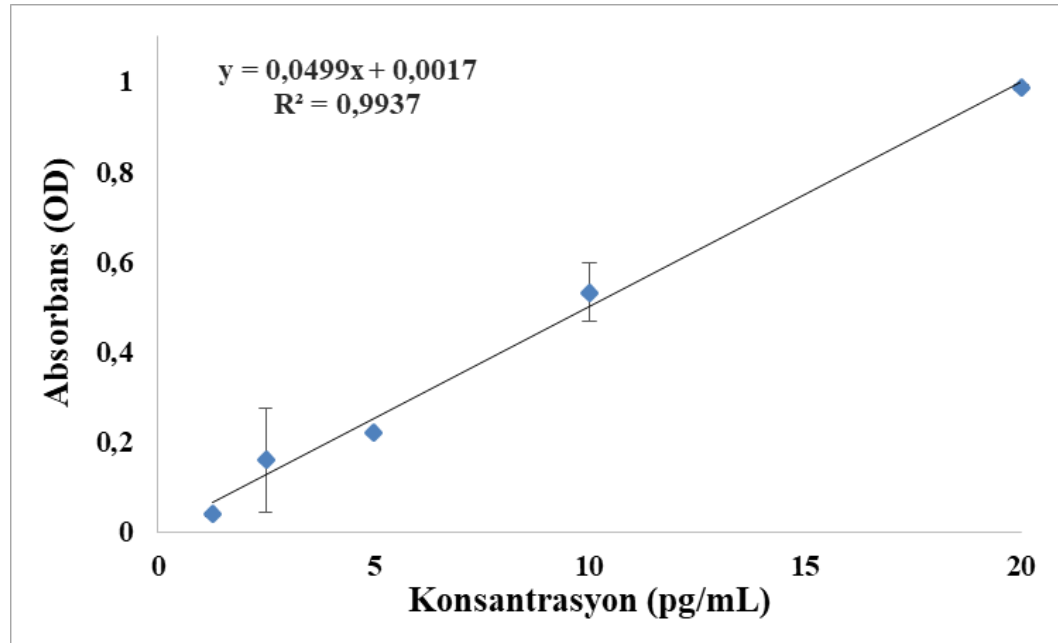
### 3.7.3. Serum ve doku ET-1 ölçümü

Serum ve doku ET-1 düzeyleri Elabscience kiti (USA) kullanılarak ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir. İlk olarak her bir kuyucuğa 100 µL standart/kontrol/örnek ilave edilerek plağın üstü kapatılmış ve etüvde 37 °C'de 90 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklarda bulunan sıvı dökülerek her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Deteksiyon Antikoru ilave edilmiştir ve tekrar plağın üstü kapatılarak etüvde 37 °C'de 60 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 3 kez

yıkanmıştır. Her kuyucuğa 200 µL ET-1 konjugatı ilave edilmiştir. 30 dk etüvde 37 °C’de inkübasyon yapıldıktan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkanmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa 90 µL substrat solüsyonu eklenmiş ve alüminyum folyoyla kapatılarak 15 dk etüvde 37 °C’de bekletilmiştir. Reaksiyon, 50 µL stop solüsyonu ilavasi ile sonlandırılmıştır. ELISA okuyucuda 450 nm’de absorbanlar ölçülmüştür. Konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorban değerlerinden kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Absorbansı bilinmeyen numunelerin konsantrasyonları bu kalibrasyon grafiğinden belirlenmiştir (Çizelge 3.17). Konsantrasyonlara karşılık gelen absorban değerleriyle oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 3.4’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.17. ET-1 standartlarının konsantrasyonlarına karşılık gelen absorban değerleri

Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
20,00	0,9875
10,00	0,5325
5,00	0,2220
2,50	0,1590
1,25	0,0395



Şekil 3.4. Serum/doku ET-1 tayini için kalibrasyon grafiği

Yöntem kesinliği (Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik)

ET-1 serum ve doku düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılan gün içi çalışmalarında üç farklı örnek seçilmiş ve bu örnekler üçer kez analiz edilmiştir. Ölçüm sonuçlarının standart sapması hesaplanarak tekrarlanabilirlikleri kontrol edilmiştir (Çizelge 3.18 ve Çizelge 3.19). Günler arası yapılan çalışmada ise üç farklı örnek üç gün analiz edilmiştir (Çizelge 3.20 ve Çizelge 3.21).

Çizelge 3.18. Serum ET-1 tayini için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (pg/mL)	15,89	17,13	17,45
2. Ölçüm (pg/mL)	14,88	18,24	19,2
3. Ölçüm (pg/mL)	15,21	15,9	18,7
<b>Ortalama</b>	<b>15,33</b>	<b>17,09</b>	<b>18,45</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,52</b>	<b>1,17</b>	<b>0,90</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>3,36</b>	<b>6,85</b>	<b>4,89</b>

Çizelge 3.19. Doku ET-1 tayini için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (pg/mL)	34,61	22,45	26,95
2. Ölçüm (pg/mL)	29,71	20,16	24,56
3. Ölçüm (pg/mL)	35,84	21,77	25,67
<b>Ortalama</b>	<b>33,39</b>	<b>21,46</b>	<b>25,73</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>3,24</b>	<b>1,18</b>	<b>1,20</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>9,71</b>	<b>5,48</b>	<b>4,65</b>

Çizelge 3.20. Serum ET-1 tayini için günler arası tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
<b>I. Gün çalışması (pg/mL)</b>	<b>15,55</b>	<b>17,09</b>	<b>18,45</b>
<b>II. Gün çalışması (pg/mL)</b>	<b>14,63</b>	<b>18,98</b>	<b>17,45</b>
<b>III. Gün çalışması (pg/mL)</b>	<b>14,88</b>	<b>17,27</b>	<b>19,18</b>
<b>Ortalama</b>	<b>15,02</b>	<b>17,78</b>	<b>18,36</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,48</b>	<b>1,04</b>	<b>0,87</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>3,17</b>	<b>5,87</b>	<b>4,73</b>

Çizelge 3.21. Doku ET-1 tayini için günler arası tekrarlanabilirlik

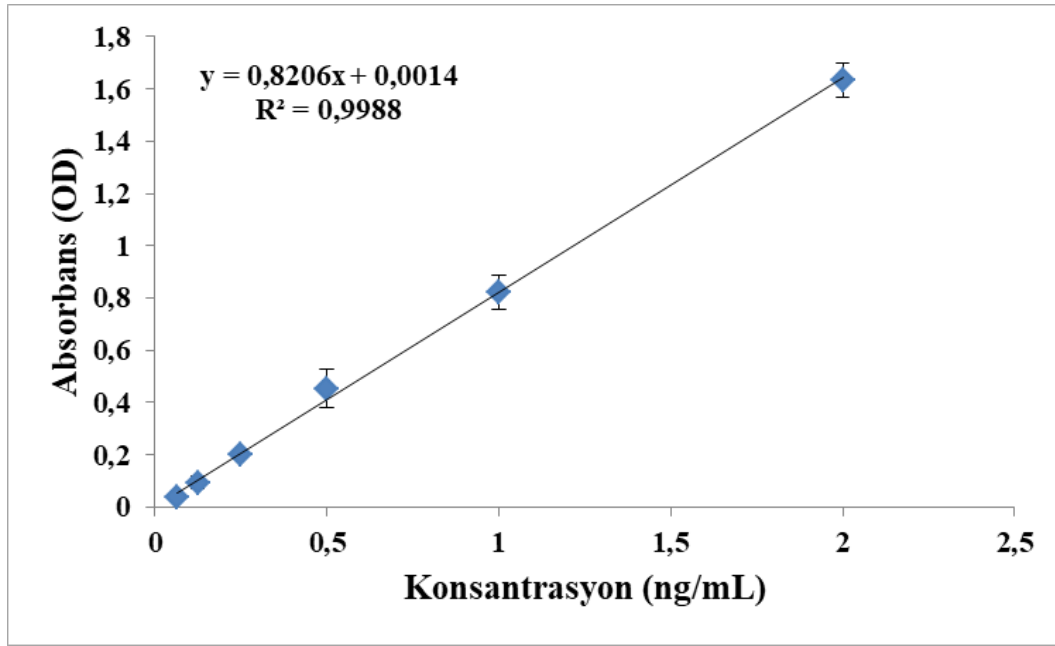
	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
<b>I. Gün çalışması (pg/mL)</b>	33,12	21,46	25,73
<b>II. Gün çalışması (pg/mL)</b>	36,65	23,22	26,90
<b>III. Gün çalışması (pg/mL)</b>	34,62	22,77	26,35
<b>Ortalama</b>	<b>34,80</b>	<b>22,48</b>	<b>26,33</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>1,77</b>	<b>0,91</b>	<b>0,59</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>5,09</b>	<b>4,07</b>	<b>2,22</b>

#### 3.7.4. Serum ve doku eNOS ölçümü

Serum ve doku eNOS düzeyleri Elabscience kiti (USA) kullanılarak ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir. İlk olarak her bir kuyucuğa 100 µL standart/kontrol/örnek ilave edilerek plağın üstü kapatılmış ve etüvde 37 °C’de 90 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklarda bulunan sıvı dökülerek her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Deteksiyon Antikoru ilave edilmiştir ve tekrar plağın üstü kapatılarak etüvde 37 °C’de 60 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkanmıştır. Her kuyucuğa 200 µL eNOS konjugatı ilave edilmiştir. 30 dk etüvde 37 °C’de inkübasyon yapıldıktan sonra kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkanmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa 90 µL substrat solüsyonu eklenmiş ve alüminyum folyoyle kapatılarak 15 dk etüvde 37 °C’de bekletilmiştir. Reaksiyon, 50 µL stop solüsyonu ilavesi ile sonlandırılmıştır. ELISA okuyucuda 450 nm’de absorbanslar ölçülmüştür. Konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Absorbansı bilinmeyen numunelerin konsantrasyonları bu kalibrasyon grafiğinden belirlenmiştir (Çizelge 3.22). Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleriyle oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 3.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.22. eNOS standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/mL)	Absorbans
2,00	1,6335
1,00	0,8235
0,50	0,4535
0,25	0,1990
0,13	0,0930
0,06	0,0370



Çizelge 3.23. Serum eNOS tayini için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (ng/mL)	2,72	2,39	3,41
2. Ölçüm (ng/mL)	2,67	2,66	2,99
3. Ölçüm (ng/mL)	2,76	2,75	3,26
<b>Ortalama</b>	<b>2,72</b>	<b>2,60</b>	<b>3,22</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,05</b>	<b>0,19</b>	<b>0,21</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>1,66</b>	<b>7,21</b>	<b>6,61</b>

Çizelge 3.24. Doku eNOS tayini için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (ng/mL)	2,69	5,88	8,09
2. Ölçüm (ng/mL)	2,67	6,21	8,49
3. Ölçüm (ng/mL)	2,67	6,14	9,17
<b>Ortalama</b>	<b>2,68</b>	<b>6,08</b>	<b>8,58</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,01</b>	<b>0,17</b>	<b>0,55</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>0,43</b>	<b>2,86</b>	<b>6,36</b>

Çizelge 3.25. Serum eNOS tayini için günler arası tekrarlanabilirlik

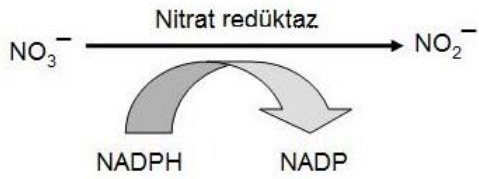
	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
<b>I. Gün çalışması (ng/mL)</b>	2,72	2,77	3,21
<b>II. Gün çalışması (ng/mL)</b>	2,69	2,67	3,14
<b>III. Gün çalışması (ng/mL)</b>	2,57	2,66	3,26
<b>Ortalama</b>	<b>2,66</b>	<b>2,70</b>	<b>3,20</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,08</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,98</b>	<b>2,25</b>	<b>1,88</b>

Çizelge 3.26. Doku eNOS tayini için günler arası tekrarlanabilirlik

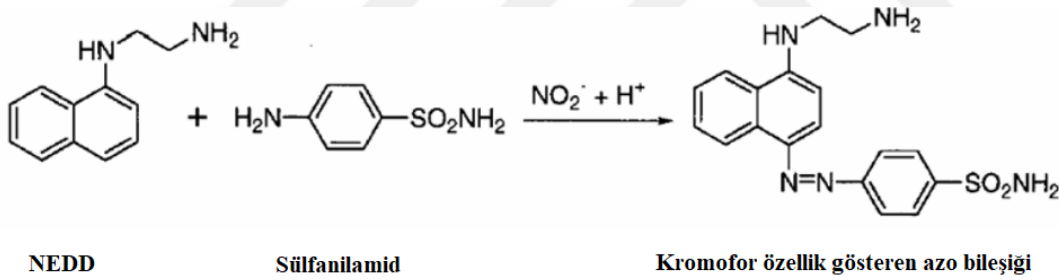
	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
<b>I. Gün çalışması (ng/mL)</b>	2,67	6,07	8,58
<b>II. Gün çalışması (ng/mL)</b>	2,64	5,94	7,92
<b>III. Gün çalışması (ng/mL)</b>	2,76	6,29	8,06
<b>Ortalama</b>	<b>2,69</b>	<b>6,10</b>	<b>8,19</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,06</b>	<b>0,18</b>	<b>0,35</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,32</b>	<b>2,90</b>	<b>4,25</b>

### 3.7.5. Serum ve doku NO ölçümü

NO ölçümünün göstergesi, numunede bulunan nitrit ve nitratın birlikte ölçülmesidir. NO ölçümü için nitrat, nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenmekte ve ortamdaki total nitrit miktarı ölçülmektedir (Şekil 3.6) (Taskiran, Kutay, Sozmen ve Pogun, 1997). Griess yöntemi, nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamid ile diazotizasyonu ve N-(1-naftil)etilendiamin (NEDD) ile mor renkli bir azo ürünü oluşturması esasına dayanmaktadır (Şekil 3.7) (Tsikas, 2007).



Şekil 3.6. Nitratın nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenmesi



Şekil 3.7. Griess reaksiyonu

Doku örnekleri homojenize edildikten sonra deproteinizasyon işlemi aşağıdaki protokole göre gerçekleştirilmiştir:

100  $\mu\text{L}$  doku homojenatı üzerine 300  $\mu\text{L}$   $\text{dH}_2\text{O}$  ilave edilerek homojenat dört kat seyreltilmiştir. Üzerine 100  $\mu\text{L}$  0,3 M NaOH eklenerek karıştırıldıktan sonra, 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra 100  $\mu\text{L}$  % 5'lik  $\text{ZnSO}_4$  ilave edilerek 3 000 g'de 20 dk +4  $^\circ\text{C}$ 'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant total nitrit/nitrat ölçümü için kullanılmıştır.

Total nitrit/nitrat ölçümü için örnekler Çizelge 3.27'deki şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.27. Total nitrit/nitrat ölçümü için örneklerin hazırlanması

Serum ve doku NO tayini	Örnek	Blank
Proteinsizleştirilmiş örnek ya da standart	100 µL	-
0,1 M PBS	250 µL	250 µL
0,2 mM FAD	50 µL	50 µL
24 mM NADPH	10 µL	10 µL
0,25U/ml Nitrat Redüktaz	50 µL	-
dH <sub>2</sub> O	50 µL	200 µL
<b>Toplam</b>	<b>510 µL</b>	<b>510 µL</b>

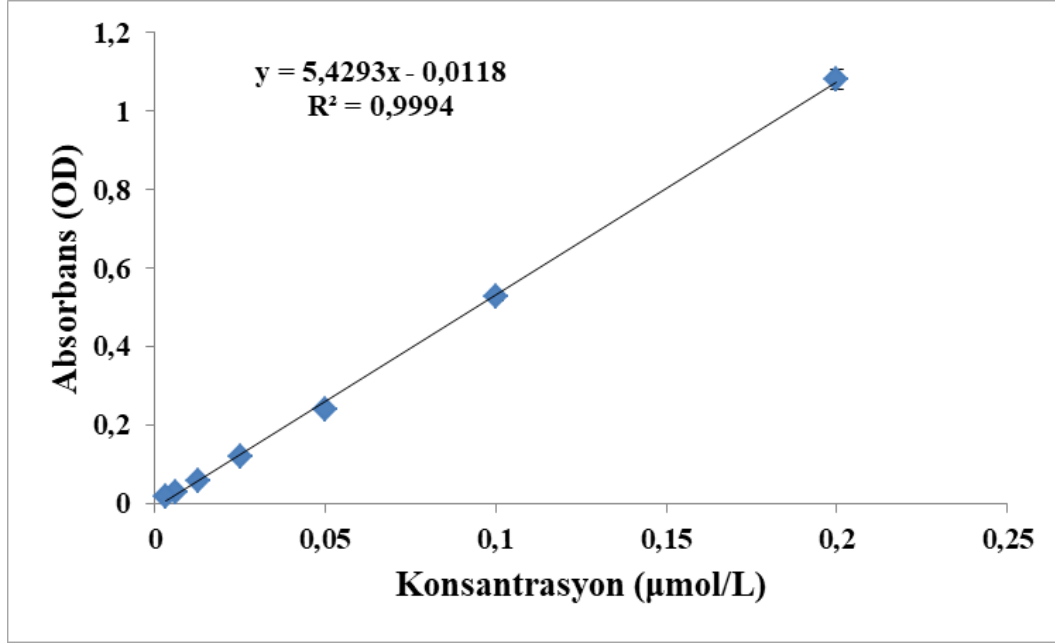
Örnekler hazırlandıktan sonra karıştırılarak karanlıkta, oda sıcaklığında 90 dk inkübe edilmiştir. 1/1 oranında ölçümden hemen önce hazırlanmış % 2,0'lik Sülfanilamid ve % 0,2'lik NEDD karışımından 510 µl ilave edilerek karıştırılmıştır. 10 dk sonra spektrofotometrede 546 nm'de ölçüm yapılmıştır.

Konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Absorbansı bilinmeyen numunelerin konsantrasyonları bu kalibrasyon grafiğinden belirlenmiştir (Çizelge 3.28). Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleriyle oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.28. NO standartlarının konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (µmol/L)	Absorbans
200,00	1,0800
100,00	0,5285
50,00	0,2410
25,00	0,1205
12,50	0,0565
6,25	0,0295





Şekil 3.8. Serum ve doku NO tayini için kalibrasyon grafiği

Yöntem kesinliği (Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik)

NO serum ve doku düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılan gün içi çalışmalarında üç farklı örnek seçilmiş ve bu örnekler üçer kez analiz edilmiştir. Ölçüm sonuçlarının standart sapması hesaplanarak tekrarlanabilirlikleri kontrol edilmiştir (Çizelge 3.29 ve Çizelge 3.30). Günler arası yapılan çalışmada ise üç farklı örnek üç gün analiz edilmiştir (Çizelge 3.31 ve Çizelge 3.32).

Çizelge 3.29. Serum NO tayini için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm (µmol/L)	15,91	8,73	15,36
2. Ölçüm (µmol/L)	16,46	9,28	14,81
3. Ölçüm (µmol/L)	15,91	10,50	15,36
<b>Ortalama</b>	<b>16,09</b>	<b>9,50</b>	<b>15,18</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,32</b>	<b>0,91</b>	<b>0,32</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>1,97</b>	<b>9,53</b>	<b>2,09</b>

Çizelge 3.30. Doku NO tayini için gün içi tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
1. Ölçüm ( $\mu\text{mol/L}$ )	28,59	36,69	27,85
2. Ölçüm ( $\mu\text{mol/L}$ )	31,53	35,22	33,01
3. Ölçüm( $\mu\text{mol/L}$ )	29,32	30,80	28,95
<b>Ortalama</b>	<b>29,81</b>	<b>34,24</b>	<b>29,94</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>1,53</b>	<b>3,07</b>	<b>2,72</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>5,13</b>	<b>8,95</b>	<b>9,08</b>

Çizelge 3.31. Serum NO tayini için günler arası tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
I. Gün çalışması ( $\mu\text{mol/L}$ )	16,10	9,47	15,18
II. Gün çalışması ( $\mu\text{mol/L}$ )	15,91	9,28	15,91
III. Gün çalışması ( $\mu\text{mol/L}$ )	16,06	8,73	14,25
<b>Ortalama</b>	<b>16,34</b>	<b>9,16</b>	<b>15,11</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,59</b>	<b>0,38</b>	<b>0,83</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>3,63</b>	<b>4,20</b>	<b>5,51</b>

Çizelge 3.32. Doku NO tayini için günler arası tekrarlanabilirlik

	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3
I. Gün çalışması ( $\mu\text{mol/L}$ )	37,06	31,53	30,80
II. Gün çalışması ( $\mu\text{mol/L}$ )	36,32	30,80	28,95
III. Gün çalışması ( $\mu\text{mol/L}$ )	35,20	30,06	29,69
<b>Ortalama</b>	<b>36,19</b>	<b>30,80</b>	<b>29,81</b>
<b>Standart sapma</b>	<b>0,94</b>	<b>0,74</b>	<b>0,93</b>
<b>Varyasyon katsayısı</b>	<b>2,59</b>	<b>2,39</b>	<b>3,12</b>

### 3.8. İstatistiksel Analiz

Çalışmaya dahil edilecek hasta ve kontrol örnek sayısının belirlenmesinde, varyasyonu en fazla olan parametre olarak VEGF baz alınarak, Tip I( $\alpha$ )=0.05, testin gücü (power) 0,85 alındığında çalışmanın örneklem genişliğinin her bir grup için en az 89’ar denekten oluşması gerektiği hesaplanmıştır. Bu analiz için “PASS 11 paket programı” kullanılmıştır.

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 22 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart hata değerleri ile verilmiştir. Verilerin dağılımları Kolmogorov-Smirnov normallik testi ile incelenmiştir. Bağımsız iki grup ortalamaları arasındaki analizlerde “student t-testi”, ikiden çok grubun karşılaştırılmasında ise “tek yönlü varyans analizi” (ANOVA) uygulanmıştır. Bir değişken üzerinde birden çok faktörün etkisi “çoklu varyans analizi” ile incelenmiştir. 0,05’ten küçük olan p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO serum ve doku düzeyleri ve ADE, AGTR1 ve VEGF gen ekspresyonları arasındaki ilişki için “pearson korelasyon katsayısı” kullanılmıştır. Genotip ve alel frekanslarının değerlendirildiği SNP çalışmaları ise “Ki-Kare testi” ile incelenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Karakteristik Özellikleri

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Ünitesi'nde 2 Aralık 2015-27 Ekim 2017 tarihleri arasında, DSÖ evre II, III, IV supratentorial glial tümör tanısı alan ancak radyoterapi/kemoterapi tedavisine başlanmamış 96 erişkin hasta ve 104 erişkin sağlıklı birey çalışma grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubu ile hasta grubunda serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri tayin edilmiştir. Ayrıca hasta grubundan alınan sağlıklı doku ve tümör dokusunda da bu parametreler ölçülmüştür.

Çalışma grubunun karakteristik özellikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yaş, cinsiyet yönünden hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) Ancak vücut kitle indeksi açısından gruplar arası  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı farklılık bulunmaktadır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Çalışma grubunun karakteristik özellikleri

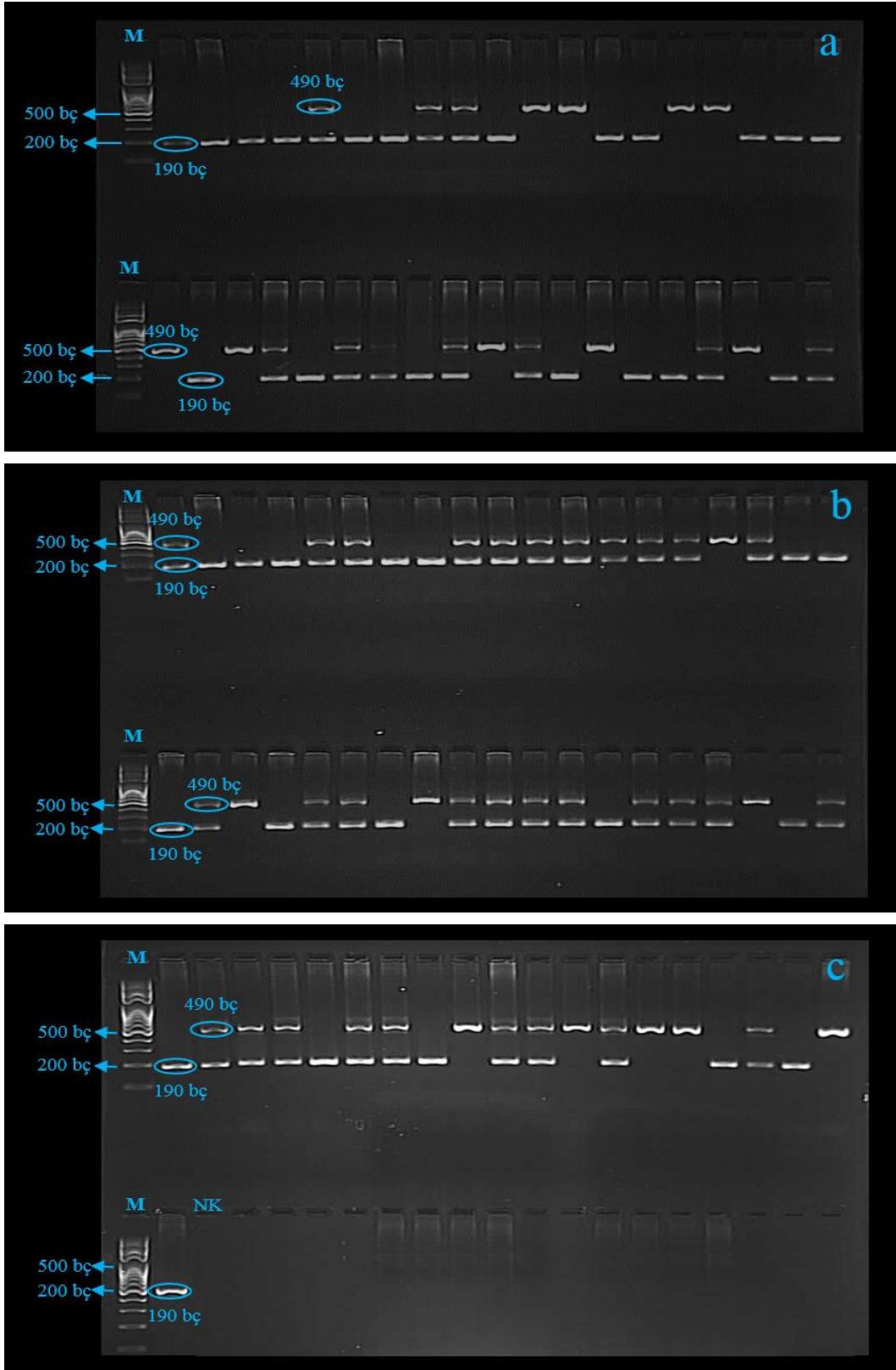
	Kontrol (N=104) X±SE	Hasta (N=96) X±SE
<b>Yaş Ort. (yıl)</b>	48,60±1,34	49,09±1,33
<b>Yaş</b>	19-39 yaş	29
	40-55 yaş	46
	> 55 yaş	29
<b>Cinsiyet</b>	Kadın	30
	Erkek	74
<b>VKI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,57±0,26	24,28±0,34*
<b>VKI</b>	< 20	2
	20,01-25	36
	24,01≥	66
<b>Tümör Evresi (DSÖ sınıflandırmasına göre)</b>	Kontrol	104
	Evre II	-
	Evre III	-
	Evre IV	-

\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

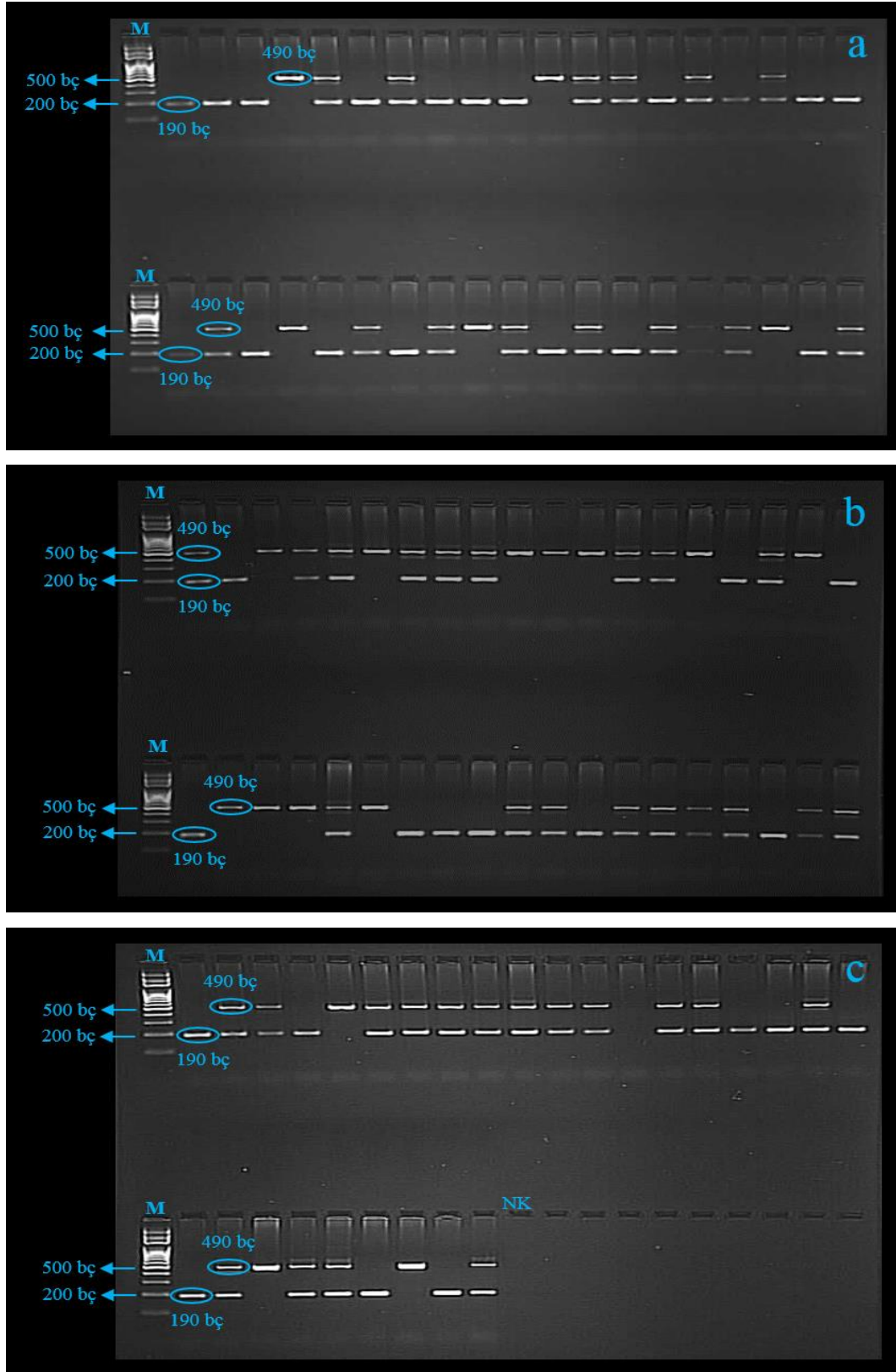
## 4.2. Polimorfizmler

### 4.2.1. ADE I/D polimorfizmi (NCBI referans SNP ID: rs1799752)

Optimizasyonu yapılan primerler ile örneklerin Touchdown 67 °C'de PZR'leri gerçekleştirilmiştir. ADE geninin intron 16 bölgesindeki 287 bç Alu tekrar dizisinin varlığı alel I veya yokluğu alel D, PZR amplifikasyonundan sonra DNA fragmanlarının büyüklüğünün ölçülmesiyle belirlenmiştir (Resim 4.1a, b, c ve Resim 4.2a, b, c). Beklenen PZR ürünü, delesyon (D) alelinin varlığında 190 bç'lik bir fragman, insersiyon (I) alelinin varlığında ise 490 bç'lik bir fragmandır. Bu nedenle, her bir DNA örneği, elektroforezden sonra üç olası paternden birini ortaya çıkarmıştır: 490 bç içeren PZR ürünü genotip II'yi, 190 bç içeren PZR ürünü genotip DD'yi ya da her ikisini de yani hem 490 bç hem de 190 bç'yi birlikte içeren PZR ürünü ise genotip ID'yi göstermektedir.



Resim 4.1. ADE I/D polimorfizminde hasta grubuna ait PZR sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-38 no'lu hastalar, b) 39-76 no'lu hastalar, c) 77-96 no'lu hastalar



Resim 4.2. ADE I/D polimorfizminde kontrol grubuna ait PZR sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-38 no'lu kontrollere, b) 39-76 no'lu kontrollere, c) 77-104 no'lu kontrollere

Hasta ve kontrol gruplarına ait ADE I/D genotiplerinin dağılımı Çizelge 4.2’de yer almaktadır. PZR sonuçlarına göre, ADE I/D genotip dağılımı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda DD homozigotların oranı % 33,65 iken, I homozigotların oranı % 18,27 ve ID heterozigotların oranı % 48,08’dir. Hasta grubunda ise D homozigotların oranı % 37,50 iken, I homozigotların oranı % 19,79 ve ID heterozigotların oranı % 42,71’dir. Bu sonuçlara göre, yapılan ki kare analizinde, ADE I/D polimorfizmi için, genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ).

ADE geni I/D polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki incelendiğinde; ID referans genotipine göre, DD ya da II genotipine sahip olan hastalar ile gliom riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.2). Alel frekansları ve gliom riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çizelge 4.2. Çalışma grubuna ait ADE I/D genotip ve alel dağılımları ve ADE geni I/D polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi

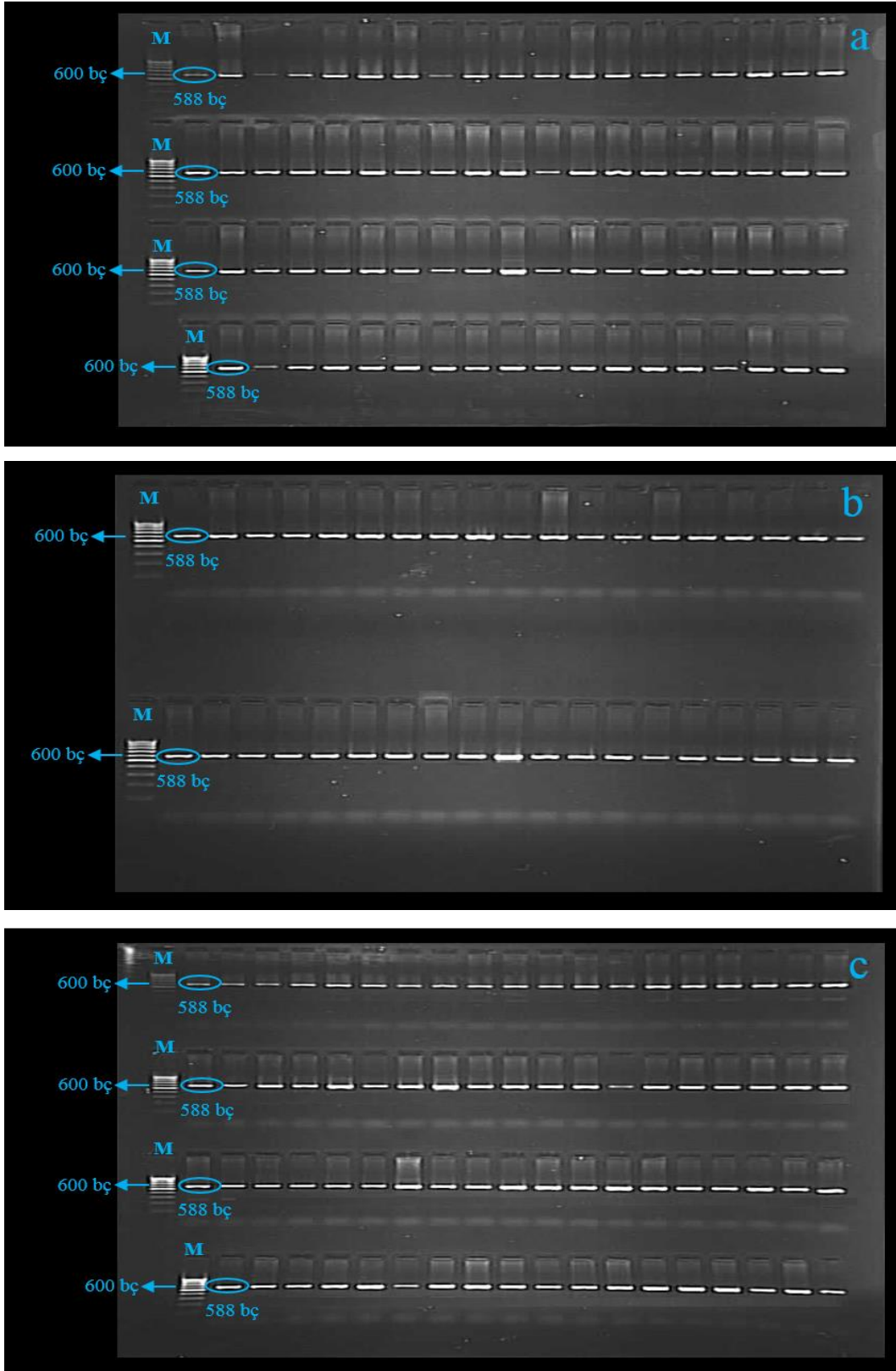
		Kontrol Grubu (N=104)	Hasta Grubu (N=96)	$\chi^2$ Test	OR (95% GA)*	p
Genotip Dağılımı	DD	35 (% 33,65)	36 (% 37,50)	$\chi^2=0,585$ $p>0,05$	1,25 (0,67-2,34)	$p>0,05$
	ID	50 (% 48,08)	41 (% 42,71)		1,00 (Reference)	
	II	19 (% 18,27)	19 (% 19,79)		1,22 (0,57-2,60)	
Alel Frekansı	D	120 (% 57,69)	113 (% 58,85)	$\chi^2=0,055$ $p>0,05$	1,05 (0,70-1,56)	$p>0,05$
	I	88 (% 42,31)	79 (% 41,15)		1,00 (Reference)	

\* OR: olasılıklar oranı lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır, GA: Güven aralığı

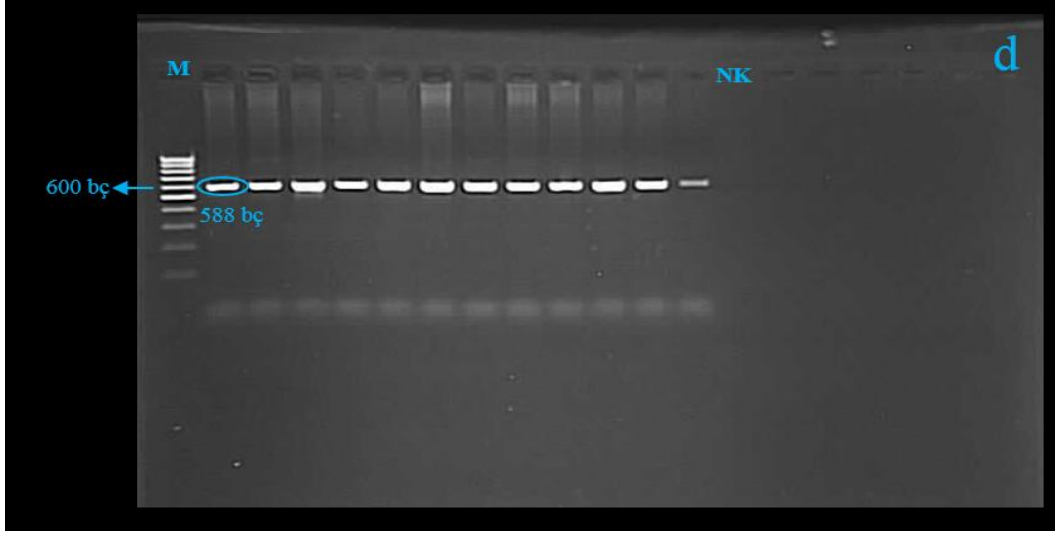
#### 4.2.2. AGTR1 -168A/G polimorfizmi (NCBI referans SNP ID: rs275653)

AGTR1 -168A/G polimorfizminde, optimizasyonu yapılan primerler ile örneklerin Touchdown 68 °C’de PZR’leri tamamlanmıştır. Restriksiyon Enzimi ile kesim öncesinde beklenen 588 bç’lik bant uzunluğu % 2’lik agaroz jel elektroforez ile gösterilmiştir (Resim 4.3a, b, c, d).



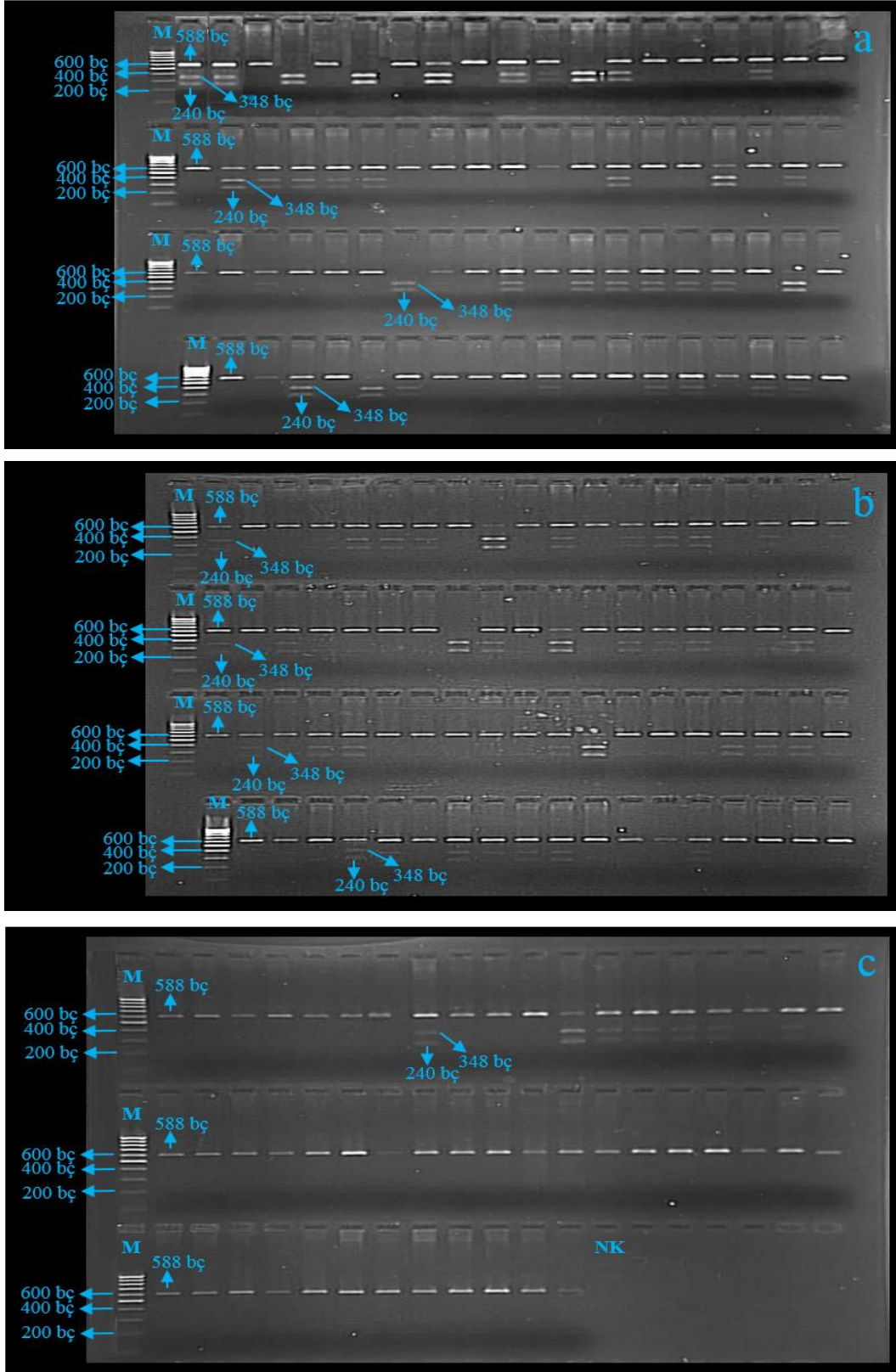


Resim 4.3. AGTR1 -168A/G polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar, b) 76-96 no'lu hastalar, 1-17 no'lu kontroller, c) 18-92 no'lu kontroller



Resim 4.3. (devamı) AGTR1 -168A/G polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); d) 93-104 no'lu kontrollere

PZR ile çoğaltılan hasta ve kontrol örneklerinin 588 bç'lik DNA bölgesi için *Bfu I* (*Bci VI*) restriksiyon enzimi kullanılarak uygun reaksiyon ortamı sağlanmış ve kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. EtBr ile boyanan % 2'lik agaroz jel elektroforezinde DNA kesim ürünleri gözlenmiştir. Kesim sonucunda adeninden guanine (A→G) bir nükleotit değişimi olmayan normal bireylerde kesim olmadığı için 588 bç'lik tek bir bant, tek alelinde değişimi olan heterozigot bireylerde 588, 348 ve 240 bç'lik üç adet bant ve her iki alelinde de değişim görülen homozigot bireylerde ise 348 ve 240 bç'lik 2 adet bant gözlenmektedir (Resim 4.4a, b, c).



Resim 4.4. AGTR1 -168A/G polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar, b) 76-96 no'lu hastalar, 1-54 no'lu kontrollere, c) 55-104 no'lu kontrollere

Hasta ve kontrol gruplarına ait AGTR1 -168A/G genotiplerinin dağılımı Çizelge 4.3’de yer almaktadır. PZR sonuçlarına göre, AGTR1 -168A/G genotip dağılımı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda A homozigotların oranı % 69,23 iken, G homozigotların oranı % 1,92 ve AG heterozigotların oranı % 28,85’dir. Hasta grubunda ise A homozigotların oranı % 46,88 iken, G homozigotların oranı % 8,33 ve AG heterozigotların oranı % 44,79’dur. Bu sonuçlara göre, yapılan ki kare analizinde AGTR1 -168A/G polimorfizmi için, genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (sırasıyla,  $p<0,01$ ,  $p<0,01$ ).

AGTR1 -168A/G polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki incelendiğinde; AG referans genotipine göre, AA genotipine sahip olan bireylerin gliom riski azalmaktadır ( $p<0,01$ ). Bu sonuçlara göre, AA genotipi gliom riski için korucuyu genotip konumundadır. (Çizelge 4.3). G alelini taşıyan bireylerin gliom riski, A alelini taşıyanlara kıyasla 2,27 kat artmaktadır ( $p<0,01$ ).

Çizelge 4.3. AGTR1 -168A/G polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, AGTR1 -168A/G polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi

		Kontrol Grubu (N=104)	Hasta Grubu (N=96)	$\chi^2$ Test	OR (95% GA)*	p
Genotip Dağılımı	AA	72 (% 69,23)	45 (% 46,88)	$\chi^2=7,555$ $p<0,01^*$	0,44 (0,24-0,79)	$p<0,01$
	AG	30 (% 28,85)	43 (% 44,79)		1,00 (Reference)	
	GG <sup>ψ</sup>	2 (% 1,92)	8 (% 8,33)		2,79 (0,55-14,08)	
Alel Frekansı	A	174 (% 83,65)	133 (% 69,27)	$\chi^2=11,575$ $p<0,01^*$	1,00 (Reference)	$p<0,01$
	G	34 (% 16,35)	59 (% 30,73)		2,27 (1,41-3,66)	

\* OR: olasılıklar oranı lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır, GA: Güven aralığı

<sup>ψ, ω</sup> GG genotipi için veri setinde analiz yapabilecek kadar yeterli veri olmadığından, bu genotip ki kare ve lojistik regresyon analizlerinde değerlendirme dışı bırakılmıştır

\* Genotip ve alel frekansları ki kare analizi ile hesaplanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur, sırasıyla  $p<0,01$ ,  $p<0,01$

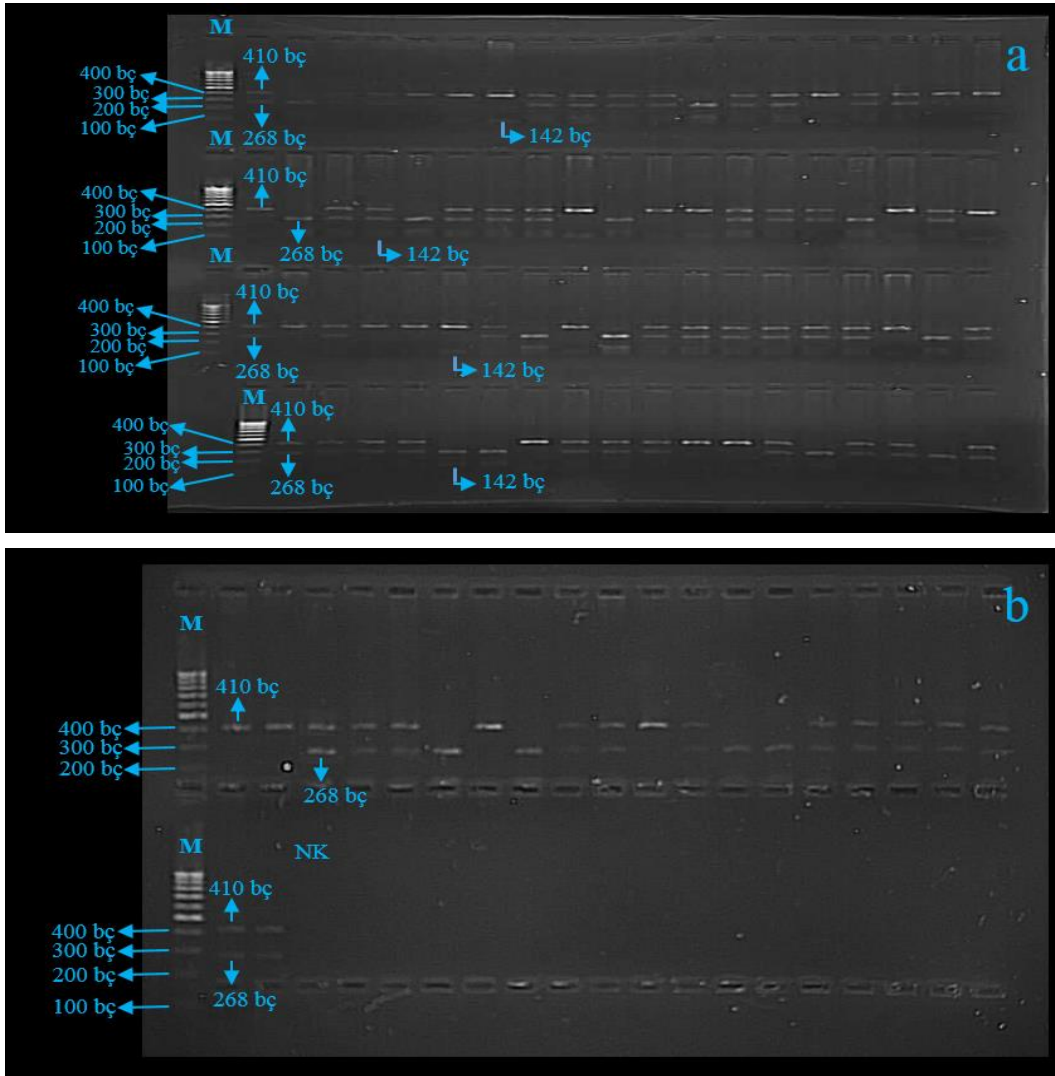
#### 4.2.3. AGTR1 -535C/T polimorfizmi (NCBI referans SNP ID: rs1492078)

AGTR1 -535C/T polimorfizminde optimizasyonu yapılan primerler ile örneklerin Touchdown 68 °C’de PZR’leri tamamlanmıştır. RE ile kesim öncesinde beklenen 513 bç’lik bant uzunluğu % 2’lik agaroz jel elektroforez ile gösterilmiştir (Resim 4.5a, b, c).

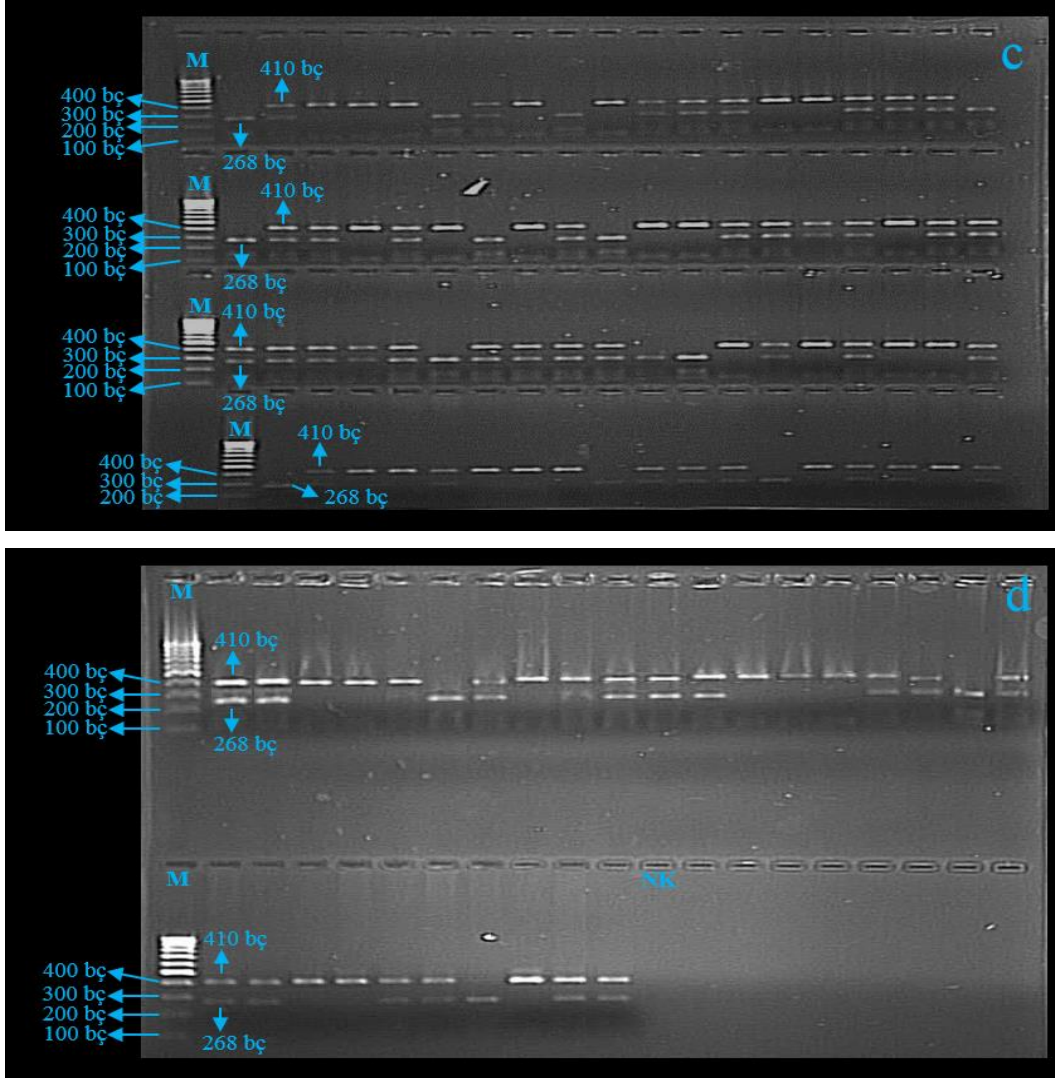


Resim 4.5. AGTR1 -535C/T polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar, b) 76-96 no'lu hastalar, 1-54 no'lu kontrolller, c) 55-104 no'lu kontrolller

PZR ile çoğaltılan hasta ve kontrol örneklerinin 513 bç'lik DNA bölgesi için *Ssp I* restriksiyon enzimi kullanılarak uygun reaksiyon ortamı sağlanmış ve kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. EtBr ile boyanan % 2'lik agaroz jel elektroforezinde DNA kesim ürünleri gözlenmiştir. Kesim sonucunda timinden sitozine (T→C) bir nükleotit değişimi olan polimorfik bireylerde 410 ve 103 bç'lik iki adet bant, tek alelinde değişimi olan heterozigot bireylerde 410, 268, 142 ve 103 bç'lik dört adet bant, her iki alelinde değişim görülen homozigot bireylerde ise 268, 142 ve 103 bç'lik 3 adet bant beklenmektedir (Resim 4.6a, b, c, d). 103 bç'lik bant 142 bç'lik banda çok yakın olduğundan dolayı jelde görüntülenememiştir.



Resim 4.6. AGTR1 -535C/T polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar, b) 76-96 no'lu hastalar



Resim 4.6. (devamı) AGTR1 -535C/T polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); c) 1-75 no'lu kontroller d) 76-104 no'lu kontroller

Hasta ve kontrol gruplarına ait AGTR1 -535C/T genotiplerinin dağılımı Çizelge 4.4'de yer almaktadır. PZR sonuçlarına göre, AGTR1 -535C/T genotip dağılımı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda C homozigotların oranı % 32,69 iken, T homozigotların oranı % 15,39 ve CT heterozigotların oranı % 51,92'dir. Hasta grubunda ise C homozigotların oranı % 26,04 iken, T homozigotların oranı % 17,71 ve CT heterozigotların oranı % 56,25'tir. Bu sonuçlara göre, yapılan ki kare analizinde AGTR1 -535C/T genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ).

AGTR1 -535C/T polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki incelendiğinde; CT referans genotipine göre, CC ya da TT genotipine sahip olan hastalar ile gliom riski

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.4). Alel frekansları ve gliom riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

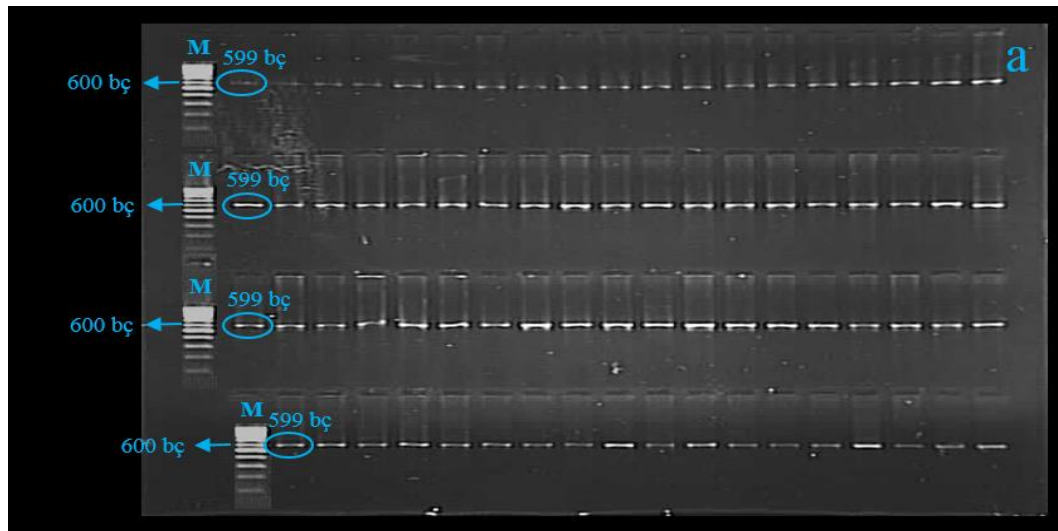
Çizelge 4.4. AGTR1 -535C/T polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, AGTR1 -535C/T polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi

		Kontrol Grubu (N=104)	Hasta Grubu (N=96)	$\chi^2$ Test	OR (95% GA)*	p
Genotip Dağılımı	CC	34 (% 32,69)	25 (% 26,04)	$\chi^2=1,085$ $p>0,05$	0,74 (0,39-1,39)	$p>0,05$
	CT	54 (% 51,92)	54 (% 56,25)		1,00 (Reference)	
	TT	16 (% 15,39)	17 (% 17,71)		1,06 (0,49-2,32)	$p>0,05$
Alel Frekansı	C	122 (% 58,65)	104 (% 54,17)	$\chi^2=0,818$ $p>0,05$	0,83(0,56-1,24)	$p>0,05$
	T	86 (% 41,35)	88 (% 45,83)		1,00 (Reference)	

\* OR: olasılıklar oranı lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır, GA: Güven aralığı

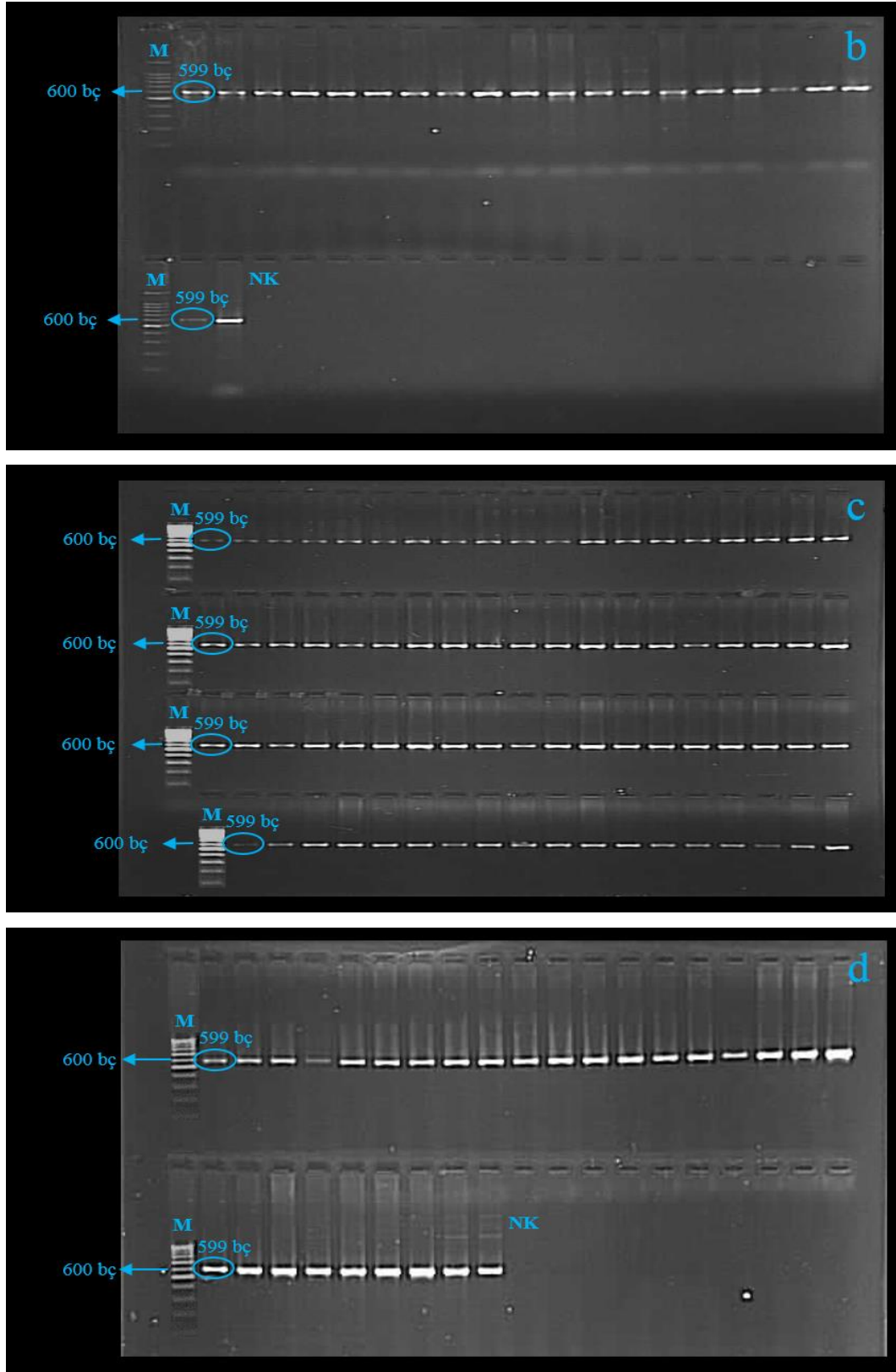
#### 4.2.4. AGTR1 -825T/A polimorfizmi (NCBI referans SNP ID: rs275651)

AGTR1 -825T/A polimorfizminde, optimizasyonu yapılan primerler ile örneklerin Touchdown 68 °C'de PZR'leri tamamlanmıştır. RE ile kesim öncesinde beklenen 599 bç'lik bant uzunluğu % 2'lik agaroz jel elektroforez ile gösterilmiştir (Resim 4.7a, b, c, d).



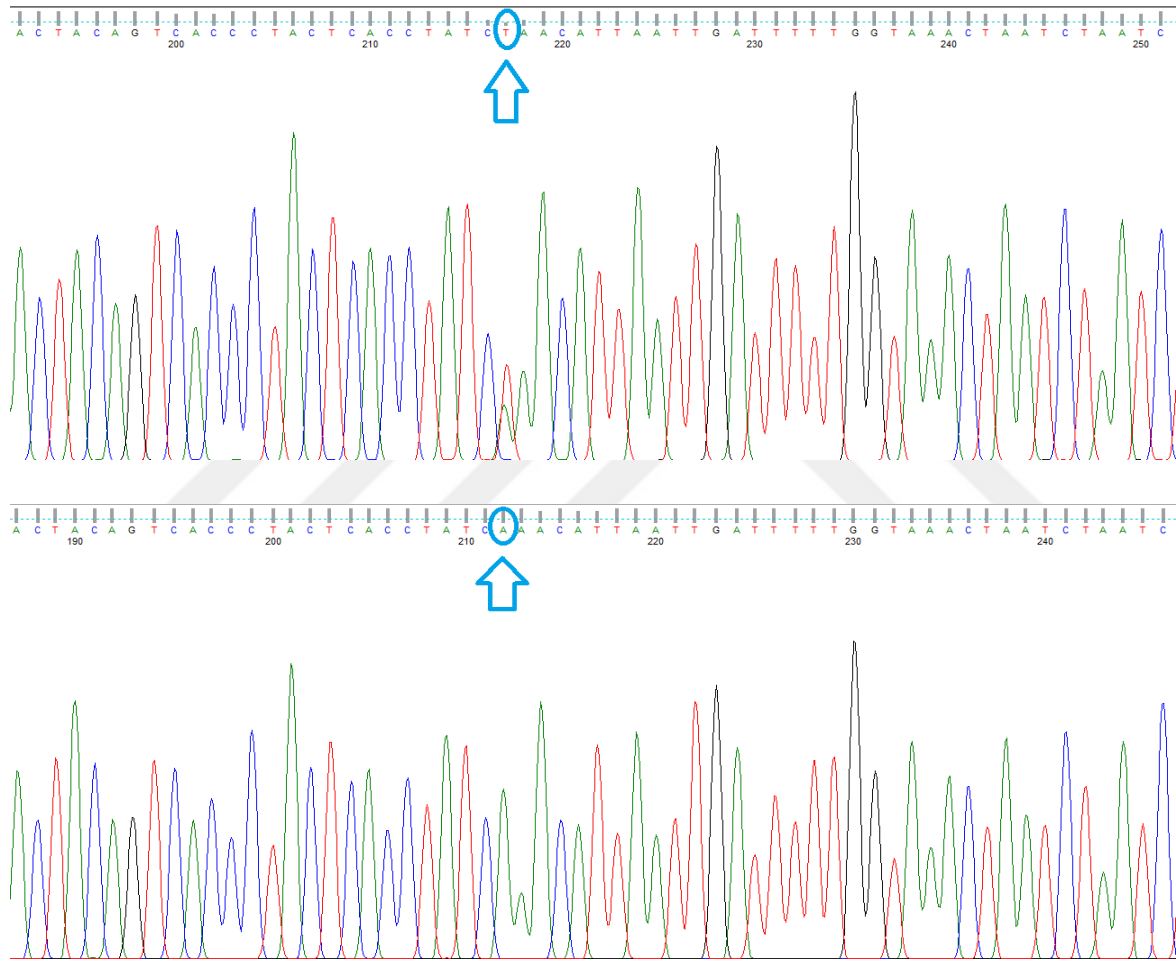
Resim 4.7. AGTR1 -825T/A polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar



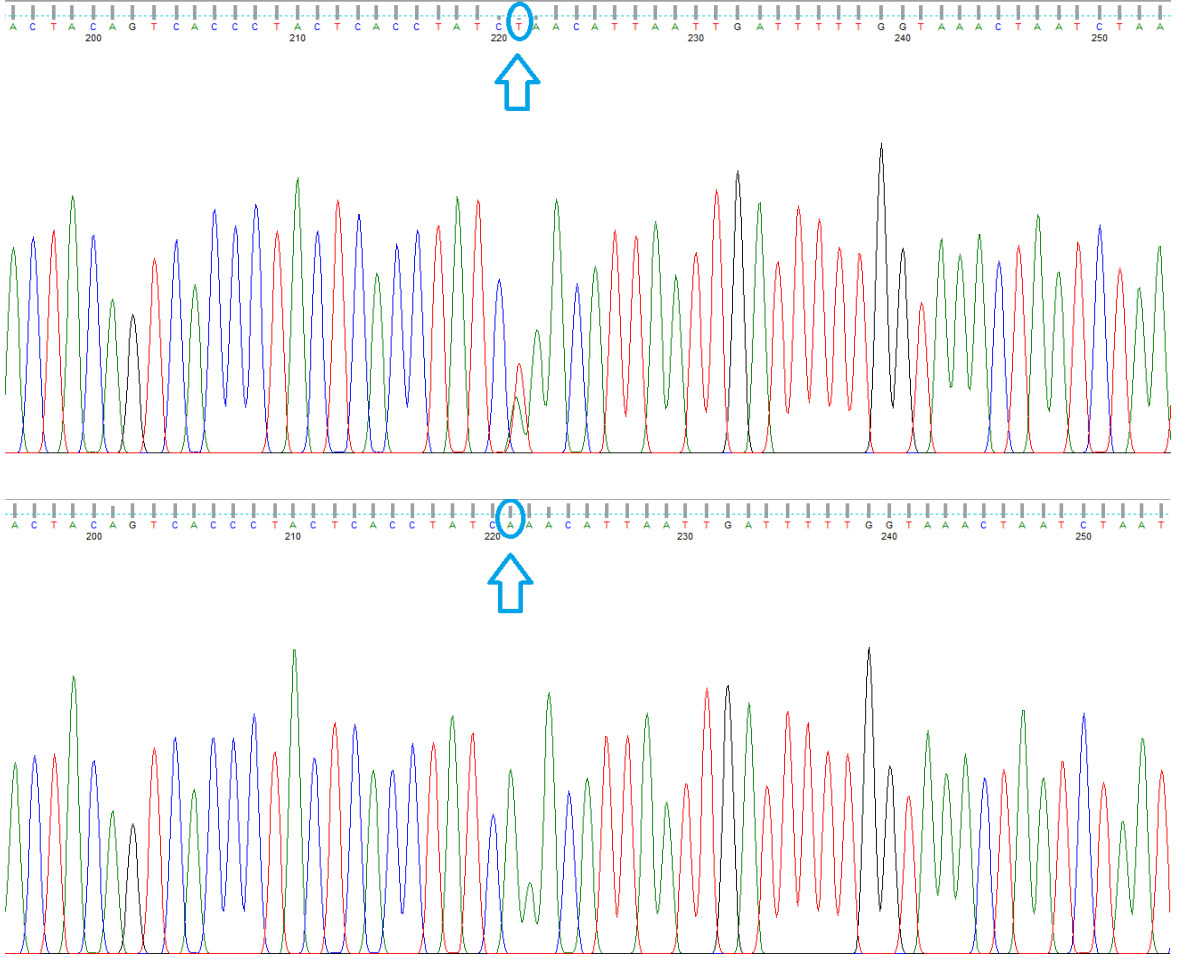


Resim 4.7. (devamı) AGTR1 -825T/A polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); b) 76-96 no'lu hastalar, c) 1-76 no'lu kontroller, d) 77-104 no'lu kontroller

AGTR1 -825T/A polimorfizmini belirlemek için, TthHB27I kesim enziminin ticari olarak üretilmemesi nedeniyle, alel tayini amacıyla DNA dizi analizi yapılmıştır. Sonuçlar NCBI insan genomik dizisi veri tabanı ile karşılaştırılmıştır ve hasta ve kontrol gruplarına ait dizi analizi sonuçları FinchTV programı kullanılarak değerlendirilmiştir. AGTR1 geni -825. pozisyonda sırasıyla T aleli taşıyan hasta, A aleli taşıyan hasta, T aleli taşıyan kontrol ve A aleli taşıyan kontrol için DNA dizi analizi kromatogram örnekleri Şekil 4.1a, b, c, d'de verilmiştir.

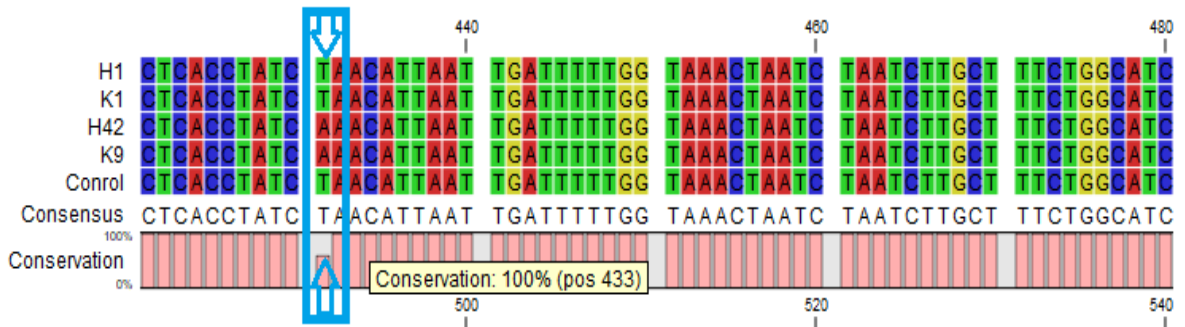


Şekil 4.1. AGTR1 geni -825. pozisyonda T aleli-A aleli taşıyan hasta ve kontrollere ait örnek DNA dizi analizi kromatogramları; a) T aleli taşıyan hasta, b) A aleli taşıyan hasta



Şekil 4.1. (devamı) AGTR1 geni -825. pozisyonda T aleli-A aleli taşıyan hasta ve kontrollere ait örnek DNA dizi analizi kromatogramları; c) T aleli taşıyan kontrol d) A aleli taşıyan kontrol

Hasta ve kontrollere ait diziler CLC Sequence Viewer 8.0 programı ile üstüste karşılaştırılarak AGTR1 geni -825. pozisyonundaki alel farklılıkları belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. CLC Sequence Viewer 8.0 programında AGTR1 -825T/A polimorfizmi için 2 hasta ve 2 kontrole ait alelin belirlenmesi

Hasta ve kontrol gruplarına ait AGTR1 -825T/A alellerin dağılımı Çizelge 4.5’de yer almaktadır. PZR sonuçlarına göre AGTR1 -825T/A alel dağılımı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda T aleli oranı % 96,15, A aleli % 3,85, hasta grubunda ise T aleli % 93,75, A aleli ise % 6,25’dir. (Çizelge 4.5). Bu sonuçlara göre, yapılan ki kare analizinde AGTR1 -825T/A alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ).

AGTR1 -825T/A polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki incelendiğinde; A aleli için veri setinde analiz yapabilecek yeterli veri olmadığından, bu alel değerlendirme dışı bırakılmıştır. (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. AGTR1 -825T/A polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında alel frekanslarının karşılaştırılması, AGTR1 -825T/A polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi

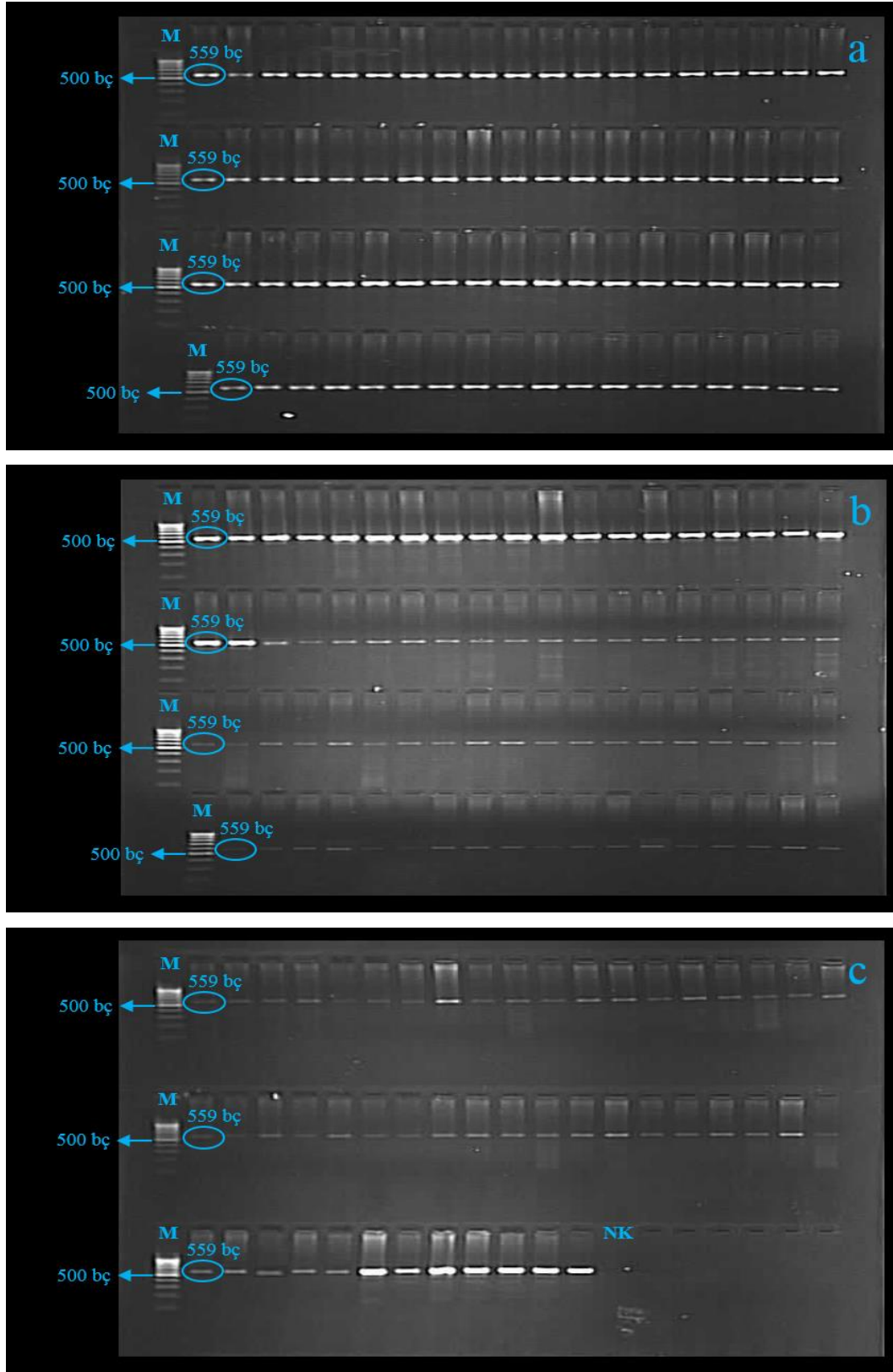
		Kontrol Grubu (N=104)	Hasta Grubu (N=96)	$\chi^2$ Test	OR (95% GA)*	p
Alel Frekansı	T	100 (% 96,15)	90 (% 93,75)	$\chi^2=0,607$	1,00 (Reference)	
	A	4 (% 3,85)	6 (% 6,25)	$p>0,05$	1,67 (0,46-6,10)	<sup>ω</sup>

\* OR: olasılıklar oranı lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır, GA: Güven aralığı

<sup>ω</sup> A aleli için veri setinde analiz yapabilecek kadar yeterli veri olmadığından, bu alel lojistik regresyon analizinde değerlendirme dışı bırakılmıştır

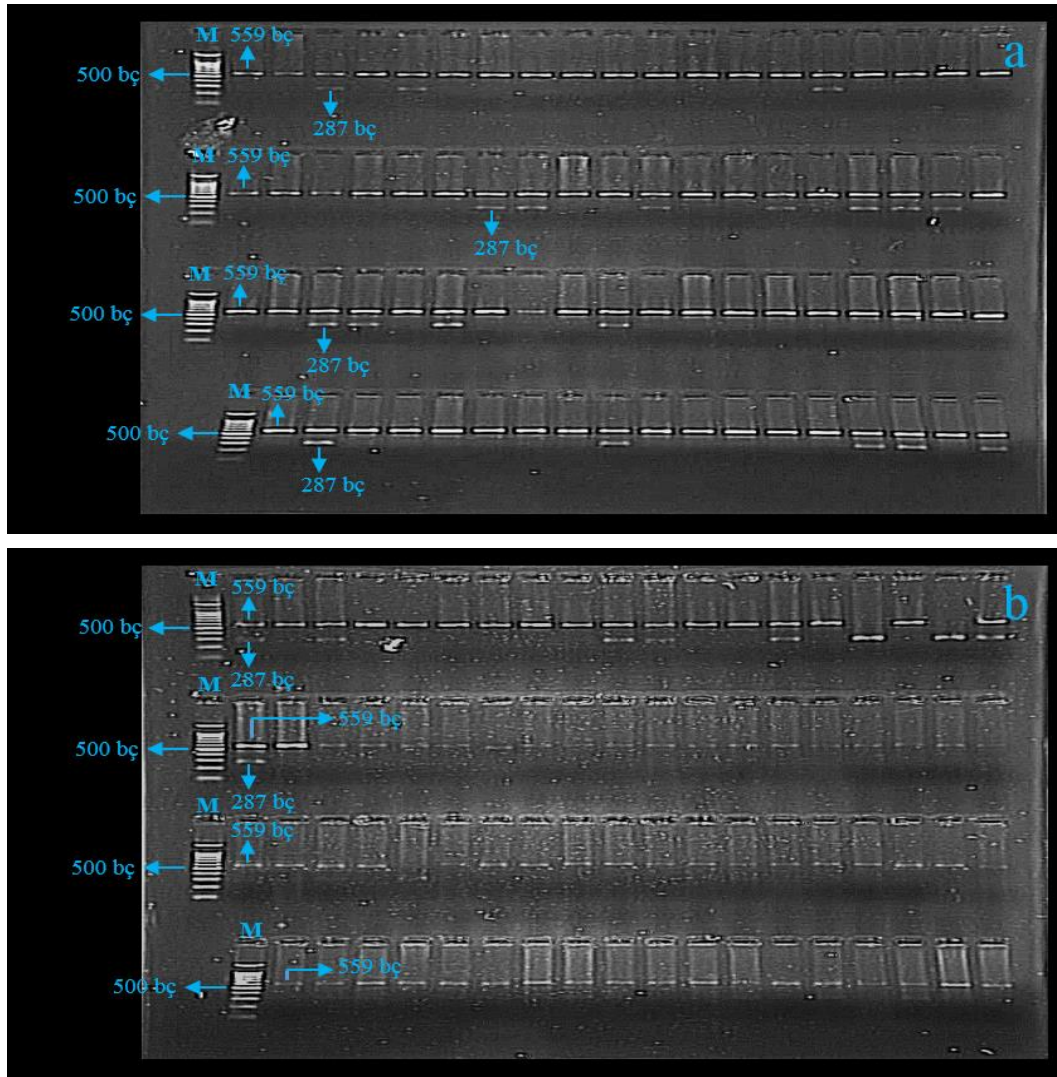
#### 4.2.5. VEGF +936C/T polimorfizmi (NCBI referans SNP ID: rs3025039)

VEGF +936C/T polimorfizminde, optimizasyonu yapılan primerler ile örneklerin Touchdown 68 °C’de PZR’leri tamamlanmıştır. RE ile kesim öncesinde beklenen 559 bç’lik bant uzunluğu % 2’lik agaroz jel elektroforez ile gösterilmiştir (Resim 4.8a, b, c).

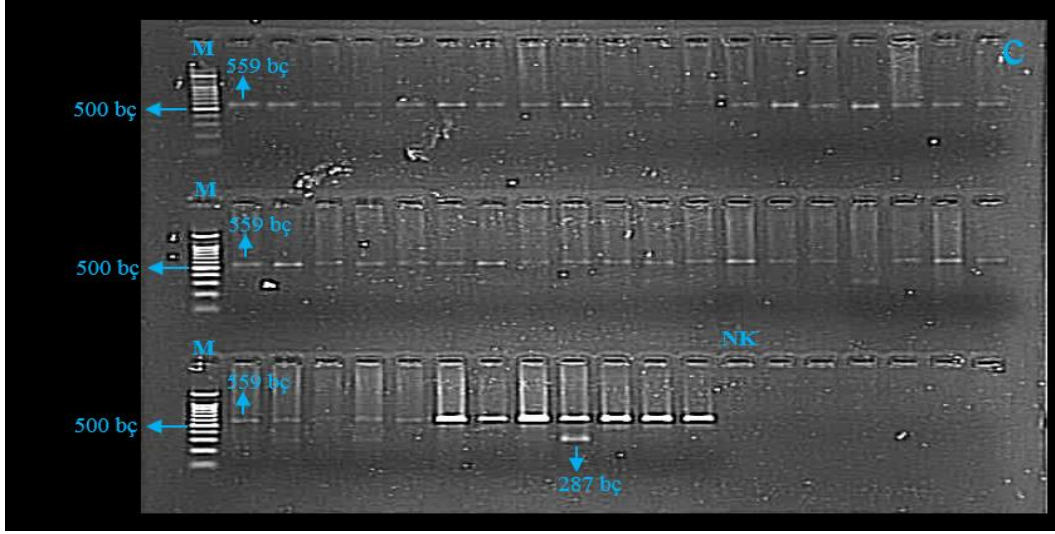


Resim 4.8. VEGF +936C/T polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar, b) 76-96 no'lu hastalar, 1-54 no'lu kontroller, c) 55-104 no'lu kontroller

PZR ile çoğaltılan hasta ve kontrol örneklerinin 559 bp'lik DNA bölgesi için *CviAII* restriksiyon enzimi kullanılarak kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. EtBr ile boyanan % 2'lik agaroz jel elektroforezinde DNA kesim ürünleri gözlenmiştir. Kesim sonucunda sitozinden timine (C→T) tek bir nükleotit değişimi olan polimorfik bireylerde 559 bp'lik tek bir bant, tek alelinde değişimi olan heterozigot bireylerde 559, 287 ve 272 bp'lik üç adet bant, her iki alelinde değişim görülen homozigot bireylerde ise 287 ve 272bp 'lik 2 adet bant gözlenmektedir (Resim 4.9a, b, c).



Resim 4.9. VEGF +936C/T polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar, b) 76-96 no'lu hastalar, 1-55 no'lu kontroller



Resim 4.9. (devamı) VEGF +936C/T polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); c) 76-104 no'lu kontrolller

Hasta ve kontrol gruplarına ait VEGF +936C/T genotiplerinin dağılımı Çizelge 4.6'da yer almaktadır. PZR sonuçlarına göre VEGF +936C/T genotip dağılımı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda C homozigotların oranı % 99,04 iken, CT heterozigotların oranı % 0,96'dır. Kontrol grubunda T homozigot taşıyan birey tespit edilememiştir. Hasta grubunda ise C homozigotların oranı % 70,83 iken, T homozigotların oranı % 2,08 ve CT heterozigotların oranı % 27,09'dur. Bu sonuçlara göre, TT ve CT genotipleri için veri setinde analiz yapabilecek kadar yeterli veri olmadığından, ki kare analizinde VEGF +936C/T polimorfizmi için, genotip dağılımı bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.6).

VEGF +936C/T polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki incelendiğinde; TT ve CT genotipleri ve T aleli için veri setinde analiz yapabilecek kadar yeterli veri olmadığından, lojistik regresyon analizi yapılamamıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. VEGF +936C/T polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, VEGF +936C/T polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi

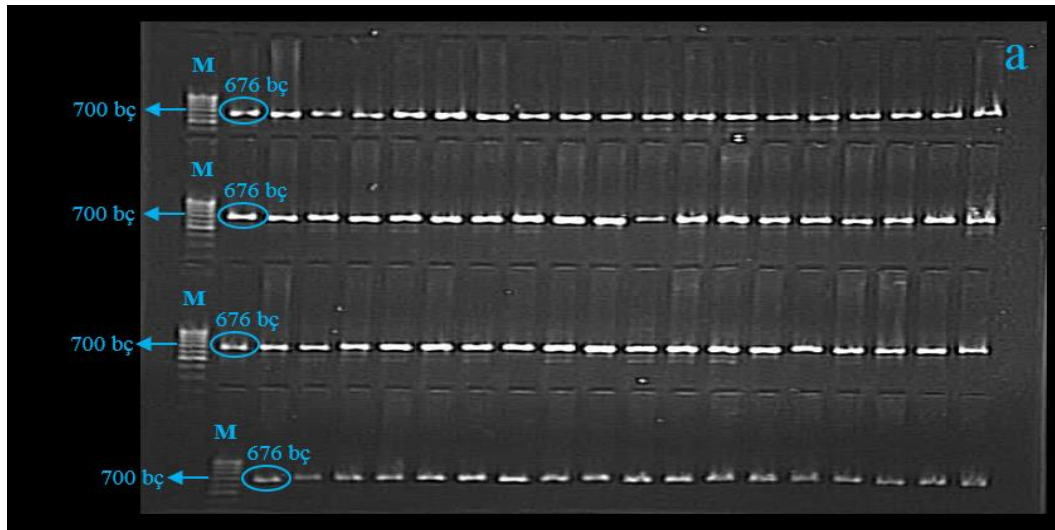
	Kontrol Grubu (N=104)	Hasta Grubu (N=96)	$\chi^2$ Test	OR (95% GA)*	p
<b>Genotip Dağılımı</b>	CC	103 (% 99,04)	$\chi^2=1,778$ $p>0,05$	0,03 (0,01-0,19)	$p>0,05$
	CT <sup>ψ</sup>	1 (% 0,96)		1,00 (Reference)	ω
	TT <sup>ψ</sup>	0 (% 0)		2 (% 2,08)	ω
<b>Alel Frekansı</b>	C	207 (% 99,52)		1,00 (Reference)	
	T <sup>ψ</sup>	1 (% 0,48)		38,33 (5,17-284,09)	ω

\* OR: olasılıklar oranı lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır, GA: Güven aralığı

<sup>ψ</sup>, <sup>ω</sup> TT ve CT genotipi ile T aleli için veri setinde analiz yapabilecek kadar yeterli veri olmadığından, ki kare ve lojistik regresyon analizlerinde değerlendirme dışı bırakılmışlardır

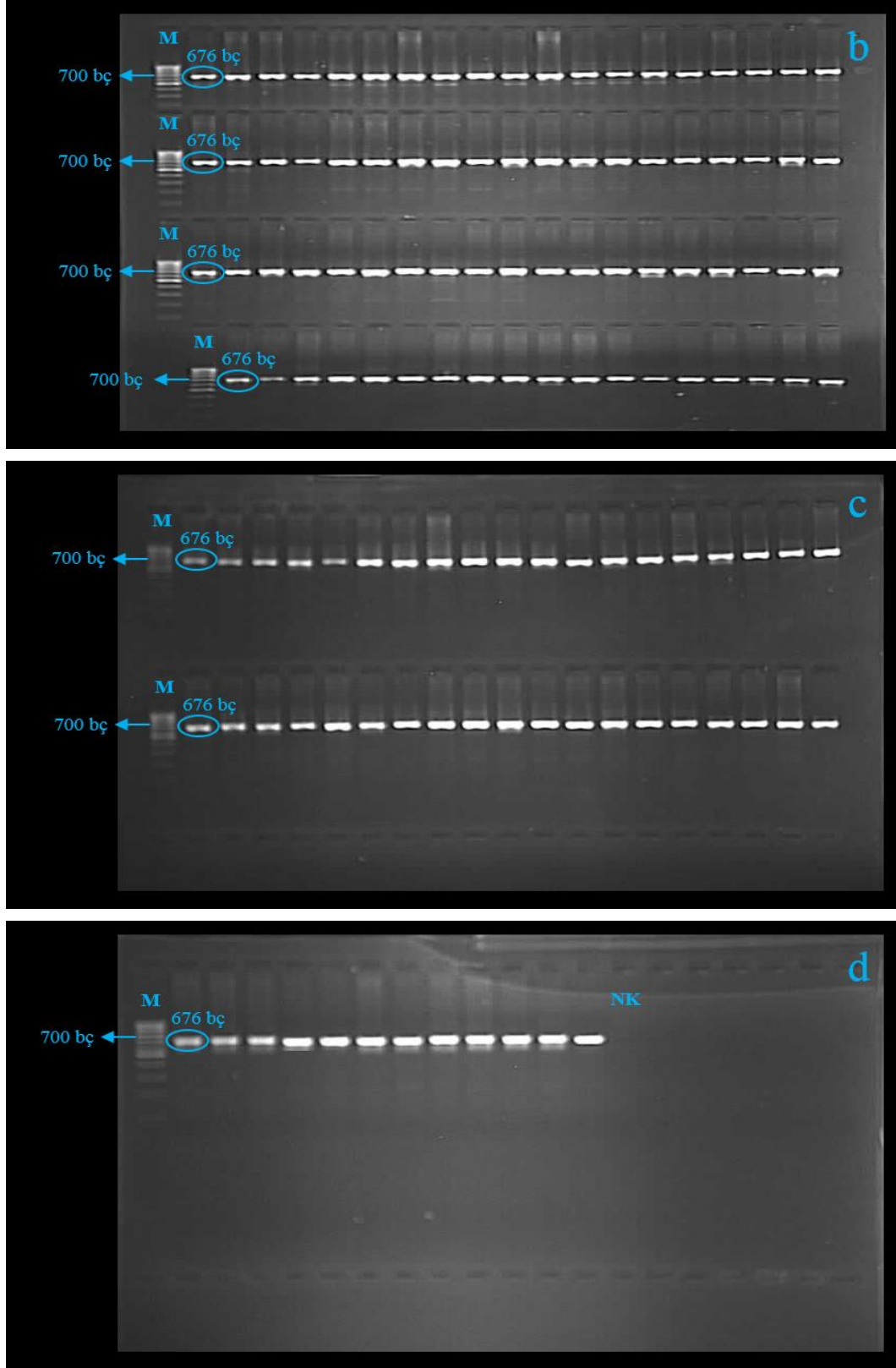
#### 4.2.6. VEGF -2578C/A polimorfizmi (NCBI referans SNP ID: rs699947)

VEGF -2578C/A polimorfizminde, optimizasyonu yapılan primerler ile örneklerin Touchdown 68 °C'de PZR'leri gerçekleştirilmiştir. RE ile kesim öncesinde beklenen 676 bç'lik bant uzunluğu % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile gösterilmiştir (Resim 4.10a, b, c, d).



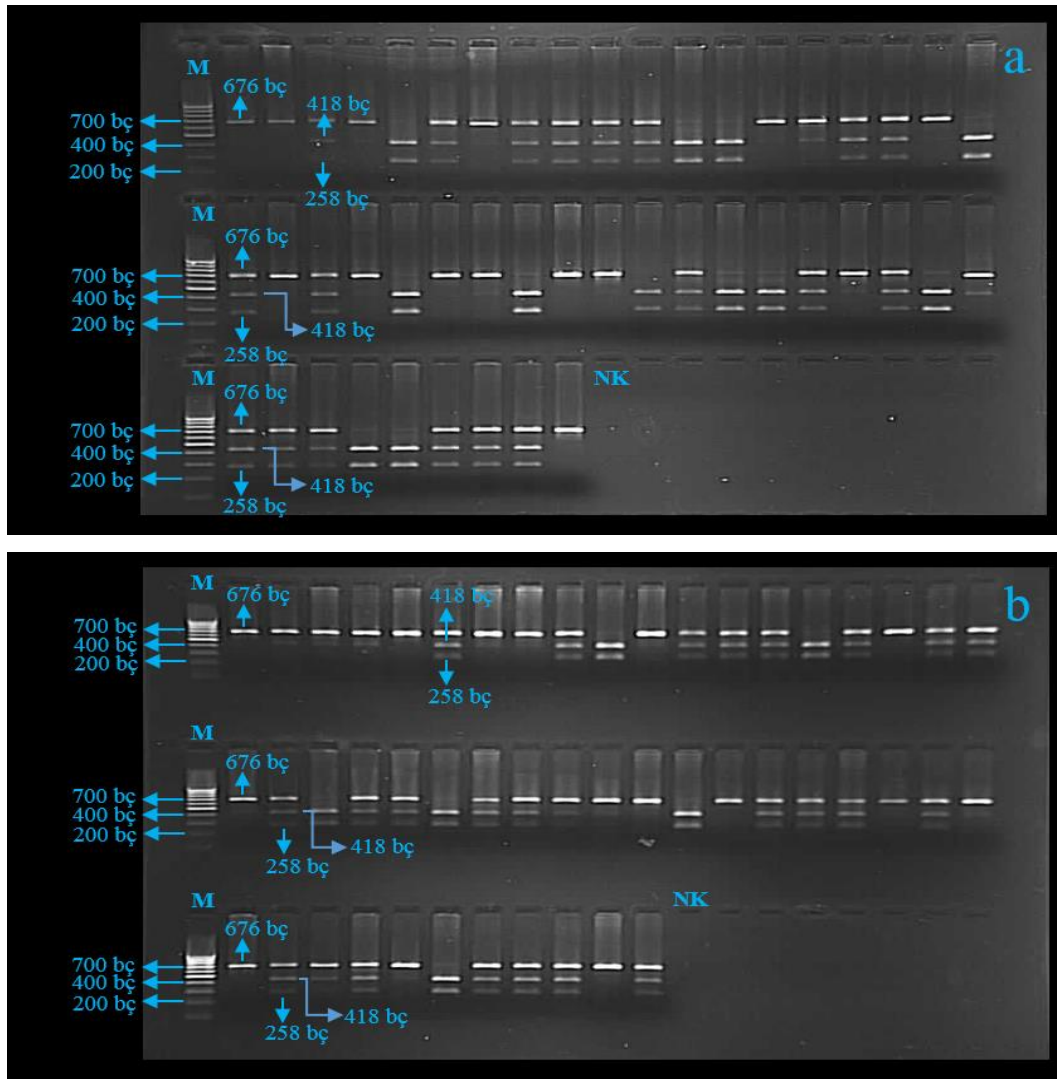
Resim 4.10. VEGF -2578C/A polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-75 no'lu hastalar



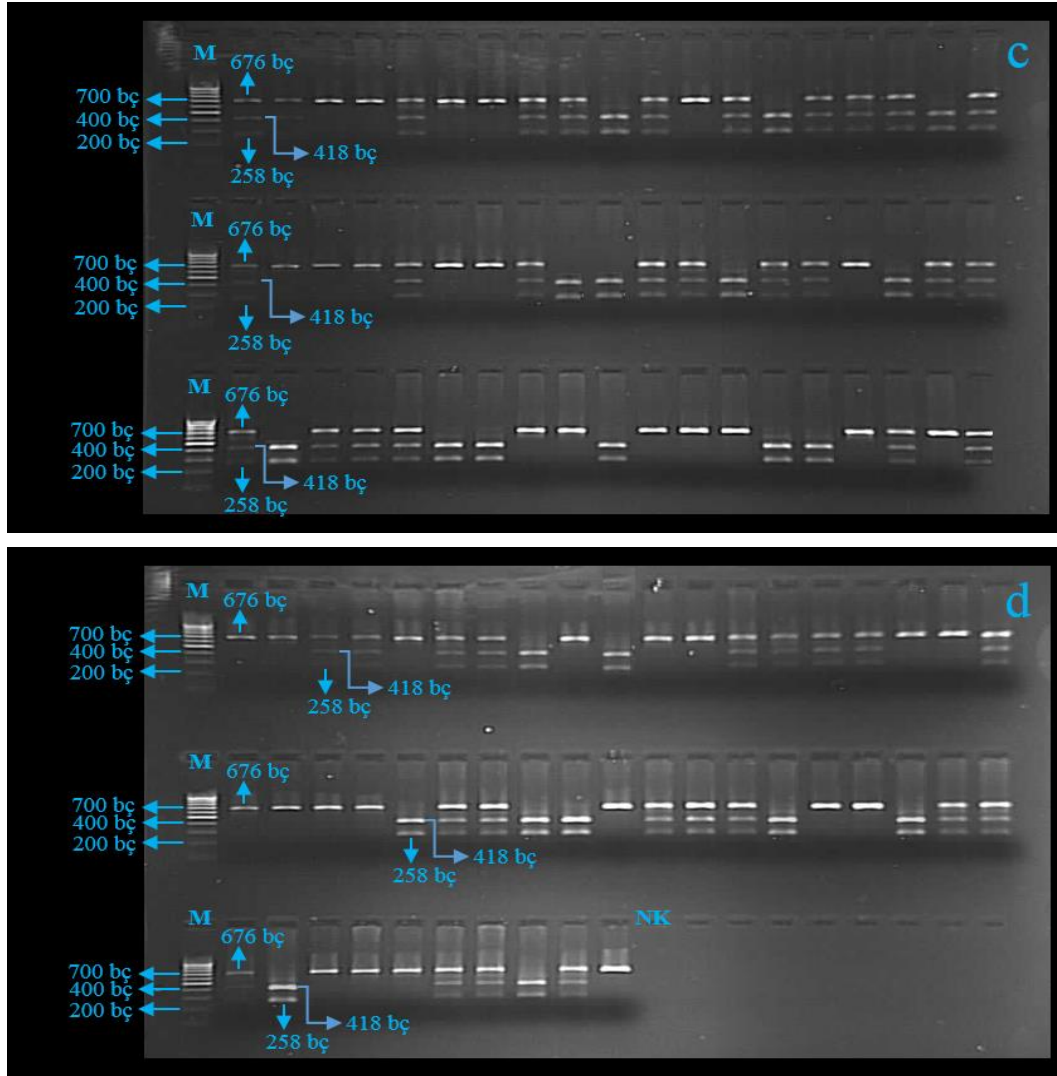


Resim 4.10. (devamı) VEGF -2578C/A polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim öncesi jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); b) 76-96 no'lu hastalar, 1-54 no'lu kontrollere, c) 55-92 no'lu kontrollere, d) 93-104 no'lu kontrollere

PZR ile çoğaltılan hasta ve kontrol örneklerinin 676 bç'lik DNA bölgesi için *Bgl II* restriksiyon enzimi kullanılarak kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. EtBr ile boyanan % 2'lik agaroz jel elektroforezinde DNA kesim ürünleri gözlenmiştir. Kesim sonucunda adeninden sitozine (A→C) tek bir nükleotit değişimi olan polimorfik bireylerde 676 bç'lik tek bant, tek alelinde değişimi olan heterozigot bireylerde 676, 418 ve 258 bç'lik üç adet bant, her iki alelinde değişim görülen homozigot bireylerde ise 418 ve 258 bç'lik 2 adet bant gözlenmektedir (Resim 4.11a, b, c, d).



Resim 4.11. VEGF -2578C/A polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); a) 1-47 no'lu hastalar, b) 48-96 no'lu hastalar



Resim 4.11. (devamı) VEGF -2578C/A polimorfizminde hasta ve kontrol gruplarına ait kesim sonrası jel görüntüleri (M: Markır, NK: Negatif Kontrol); c) 1-56 no'lu kontrollere, d) 57-104 no'lu kontrollere

Hasta ve kontrol gruplarına ait VEGF -2578C/A genotiplerinin dağılımı Çizelge 4.7'de yer almaktadır. PZR sonuçlarına göre, VEGF -2578C/A genotip dağılımı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda A homozigotların oranı % 21,15 iken, C homozigotların oranı % 36,54 ve CA heterozigotların oranı % 42,31'dir. Hasta grubunda ise A homozigotların oranı % 18,75 iken, C homozigotların oranı % 30,21 ve CA heterozigotların oranı % 51,04'dür. Bu sonuçlara göre, yapılan ki kare analizinde VEGF -2578C/A genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.7).

VEGF geni -2578C/A polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki incelendiğinde; CA referans genotipine göre, CC ya da AA genotipine sahip olan hastalar ile gliom riski

arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.12). Alel frekansları ve gliom riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. VEGF -2578C/A polimorfizminin hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılması, VEGF -2578C/A polimorfizminin gliom riski ile ilişkisi

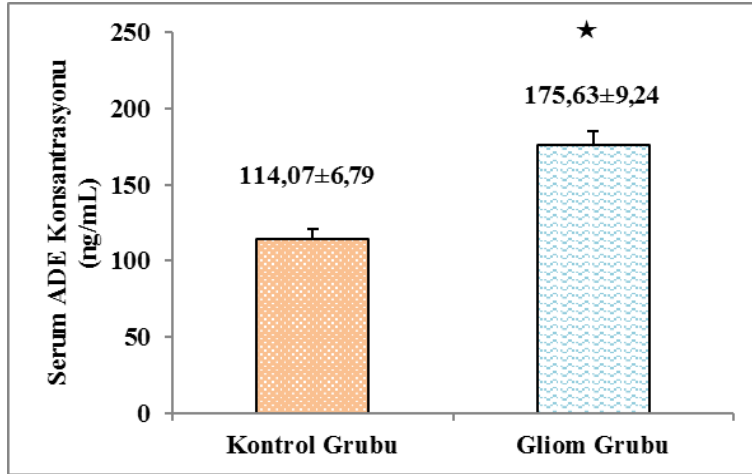
		Kontrol Grubu (N=104)	Hasta Grubu (N=96)	$\chi^2$ Test	OR (95% GA)*	p
<b>Genotip Dağılımı</b>	AA	22 (% 21,15)	18 (% 18,75)	$\chi^2=1,560$ $p>0,05$	0,73 (0,35-1,55)	$p>0,05$
	CA	44 (% 42,31)	49 (% 51,04)		1,00 (Reference)	
	CC	38 (% 36,54)	29 (% 30,21)		0,69 (0,36-1,29)	$p>0,05$
<b>Alel Frekansı</b>	A	88 (% 42,31)	85 (% 44,27)	$\chi^2=0,157$ $p>0,05$	1,00 (Reference)	
	C	120 (% 57,69)	107 (% 55,73)		0,92 (0,62-1,37)	$p>0,05$

\* OR: olasılıklar oranı, lojistik regresyon analizi ile hesaplanmıştır, GA: Güven aralığı

### 4.3. ELISA ve GZ-PZR Çalışmaları

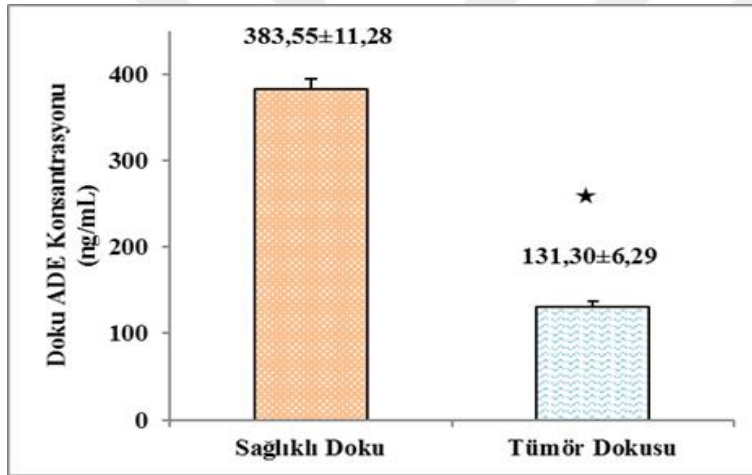
#### 4.3.1. ADE Serum/Doku Düzeyi ve Gen Ekspresyonu

Kontrol ve gliom grubu serum ADE konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; gliom grubunun serum ADE düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.3). Sağlıklı doku ve tümör dokusu ADE konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; tümör dokusu ADE düzeyi sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.4). Kontrol ve gliom grubu göreceli ADE gen ekspresyonları yönünden değerlendirildiğinde; gliom grubunun göreceli ADE gen ekspresyonu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.5).



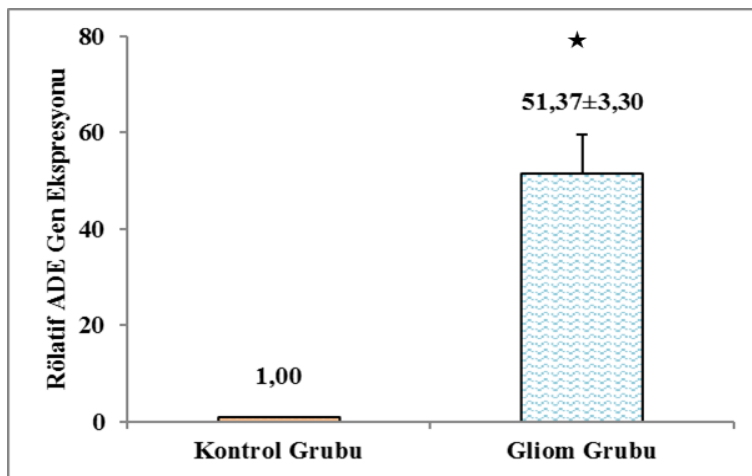
\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p < 0,01$

Şekil 4.3. Kontrol ve gliom grubunun serum ADE konsantrasyonları



\*Sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p < 0,01$

Şekil 4.4. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda ADE konsantrasyonları

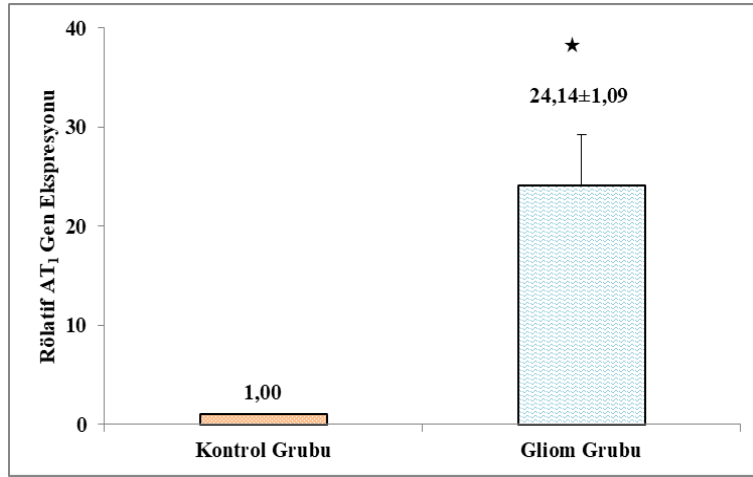


\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p < 0,01$

Şekil 4.5. Kontrol ve gliom grubunun göreceli ADE gen ekspresyonları

### 4.3.2. AGTR1 Gen Ekspresyonu

Kontrol ve gliom grubu göreceli AGTR1 gen ekspresyonları yönünden değerlendirildiğinde; gliom grubunun göreceli AGTR1 gen ekspresyonu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.6).

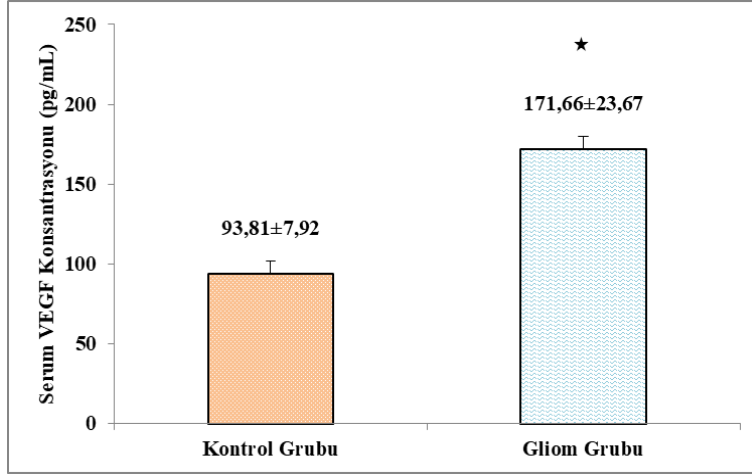


\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,05$

Şekil 4.6. Kontrol ve gliom grubunun göreceli AGTR1 gen ekspresyonları

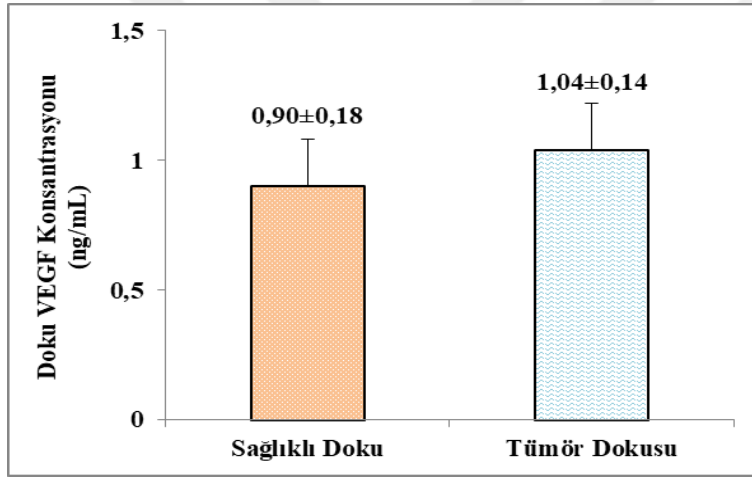
### 4.3.3. VEGF Serum/Doku Düzeyi ve Gen Ekspresyonu

Kontrol ve gliom grubu serum VEGF konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; gliom grubunun VEGF düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.7). Ancak, VEGF doku düzeyleri bakımından sağlıklı doku ve tümör dokusu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.8). Kontrol ve gliom grubu göreceli VEGF gen ekspresyonları yönünden değerlendirildiğinde; gliom grubunun göreceli VEGF gen ekspresyonu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.9).



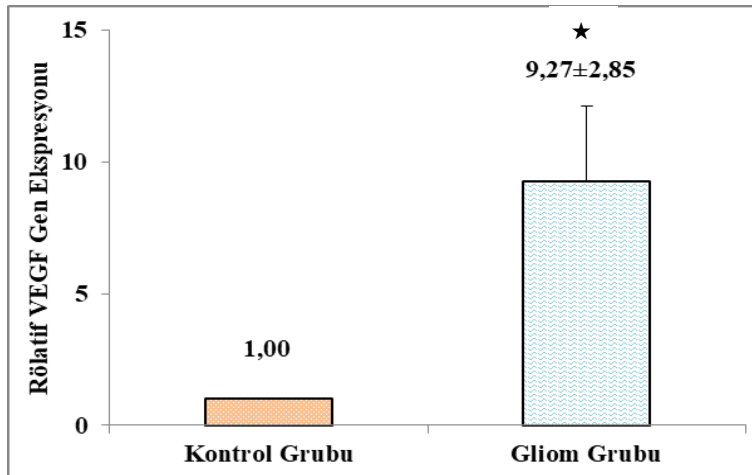
\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.7. Kontrol ve gliom grubunun serum VEGF konsantrasyonları



\* Sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p>0,05$

Şekil 4.8. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda VEGF konsantrasyonları

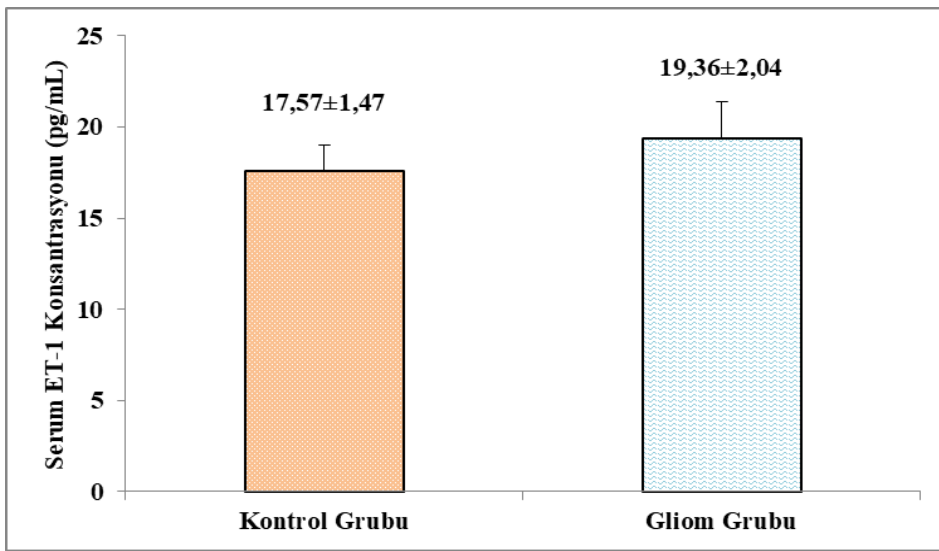


\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.9. Kontrol ve gliom grubunun göreceli VEGF gen ekspresyonları

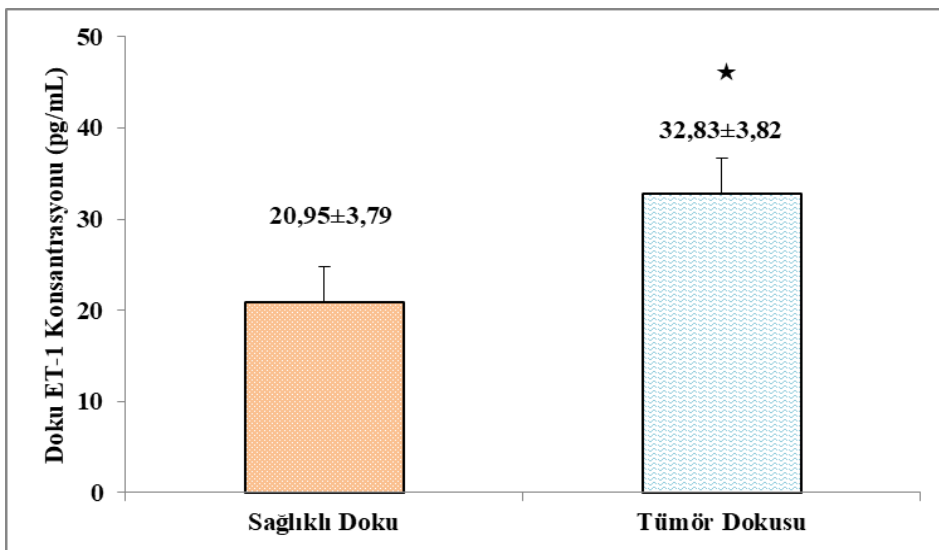
#### 4.3.4. ET-1 Serum/Doku Düzeyi

Kontrol ve gliom grubu serum ET-1 konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; gliom grubunun serum ET-1 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.10). ET-1 doku düzeyleri bakımından sağlıklı doku ve tümör dokusu karşılaştırıldığında, tümör dokusu ET-1 düzeyleri, sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.11).



\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p>0,05$

Şekil 4.10. Kontrol ve gliom grubunun serum ET-1 konsantrasyonları



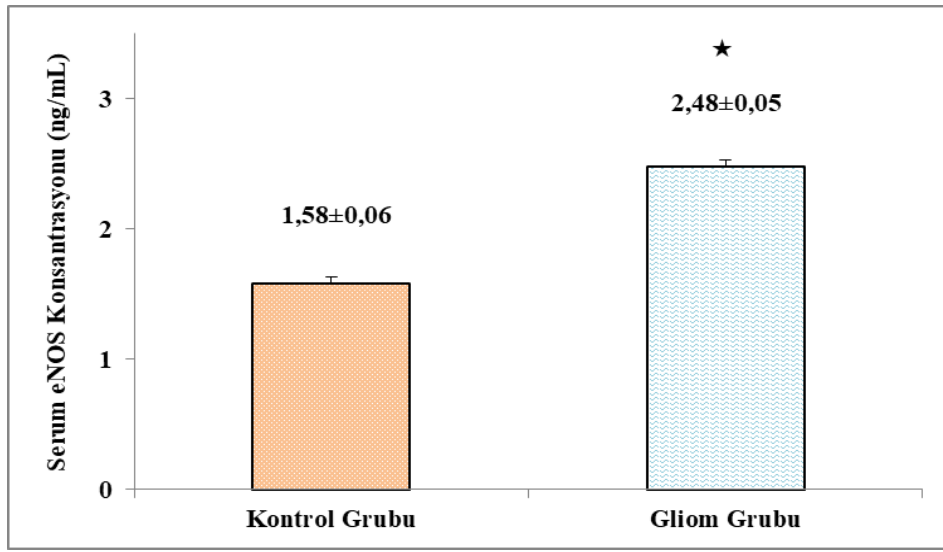
\* Sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,05$

Şekil 4.11. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda ET-1 konsantrasyonları



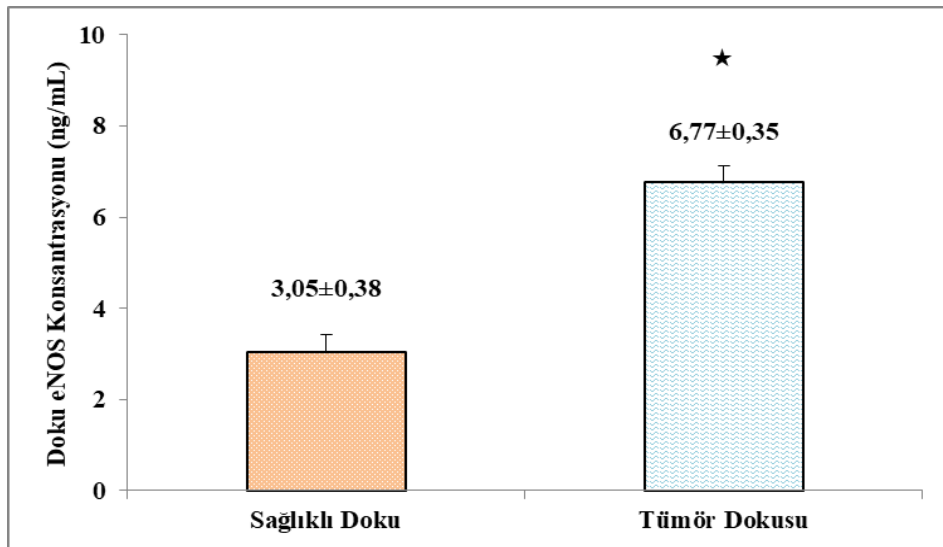
#### 4.3.5. eNOS Serum/Doku Düzeyi

Kontrol ve gliom grubu serum eNOS konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; gliom grubunun serum eNOS düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.12). Sağlıklı doku ve tümör dokusu doku eNOS konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; tümör dokusu doku eNOS düzeyi sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.13).



\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.12. Kontrol ve gliom grubunun serum eNOS konsantrasyonları

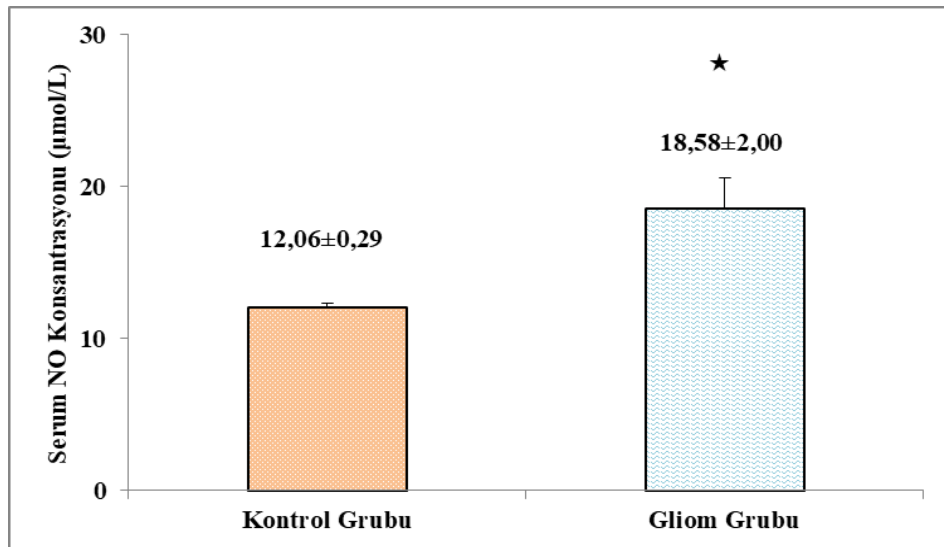


\* Sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.13. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda eNOS konsantrasyonları

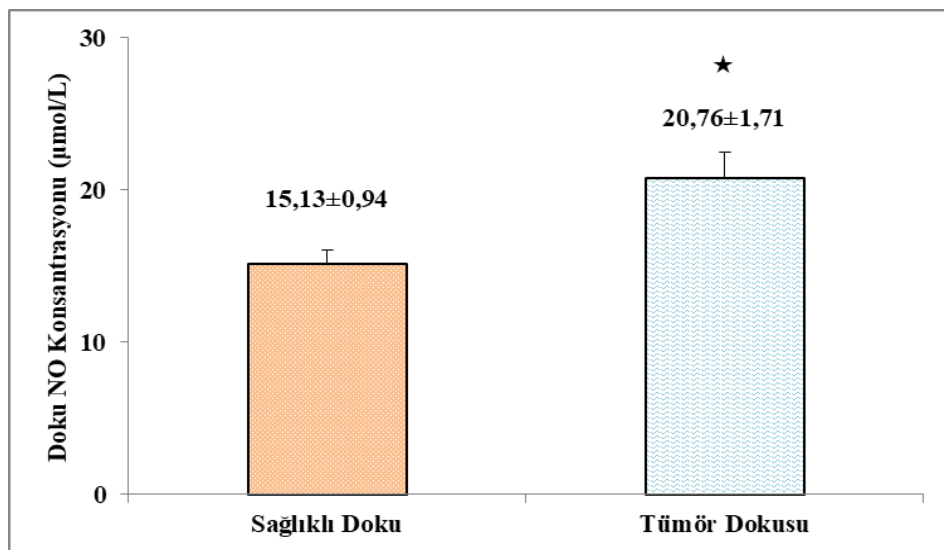
#### 4.3.6. NO Serum/Doku Düzeyi

Kontrol ve gliom grubu serum NO konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; gliom grubunun serum NO düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.14). Sağlıklı doku ve tümör dokusu doku NO konsantrasyonları yönünden karşılaştırıldığında; tümör dokusu doku NO düzeyi sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.15).



\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.14. Kontrol ve gliom grubunun serum NO konsantrasyonları



\* Sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık,  $p<0,01$

Şekil 4.15. Gliom hastalarında sağlıklı doku ve tümör dokusunda NO konsantrasyonları

Gliom hastalarında cinsiyete göre yapılan değerlendirmede, kadın hastaların serum ET-1 düzeyleri, erkek hastaların serum ET-1 düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.8).

Serum ADE, VEGF, eNOS ve NO, tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO, sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri ve ADE, VEGF ve AGTR1 gen ekspresyonları bakımından hasta grubunda cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Gliom hastalarında cinsiyete göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması

	Cinsiyet	N	X±SH	p
sADE (ng/mL)	Erkek	68	179,26±87,20	p>0,05
	Kadın	28	166,82±99,44	
sVEGF (pg/mL)	Erkek	68	151,90±199,52	p>0,05
	Kadın	28	219,66±295,03	
sET-1 (pg/mL)	Erkek	68	16,36±16,56	<sup>a</sup> Erkek hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p<0,05$
	Kadın	28	26,63±25,35 <sup>a</sup>	
seNOS (ng/mL)	Erkek	68	2,47±0,52	p>0,05
	Kadın	28	2,51±0,55	
sNO (µmo/L)	Erkek	68	17,78±20,14	p>0,05
	Kadın	28	20,51±18,51	
TdADE (ng/mL)	Erkek	68	124,13±56,60	p>0,05
	Kadın	28	148,70±70,62	
SdADE (ng/mL)	Erkek	68	390,23±111,21	p>0,05
	Kadın	28	367,31±108,99	
TdVEGF (ng/mL)	Erkek	68	1,08±1,53	p>0,05
	Kadın	28	0,93±0,84	
SdVEGF (ng/mL)	Erkek	68	0,82±1,90	p>0,05
	Kadın	28	1,10±1,61	
TdET-1 (pg/mL)	Erkek	68	28,79±22,60	p>0,05
	Kadın	28	42,65±59,38	
SdET-1 (pg/mL)	Erkek	68	19,54±21,55	p>0,05
	Kadın	28	24,36±60,65	
TdeNOS (ng/mL)	Erkek	68	7,11±2,97	p>0,05
	Kadın	28	5,95±4,39	

Çizelge 4.8. (devamı) Gliom hastalarında cinsiyete göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması

<b>SdeNOS (ng/mL)</b>	Erkek	68	2,82±3,75	p>0,05
	Kadın	28	3,60±3,82	
<b>TdNO (µmo/L)</b>	Erkek	68	21,01±18,52	p>0,05
	Kadın	28	20,15±11,61	
<b>SdNO (µmo/L)</b>	Erkek	68	15,03±10,21	p>0,05
	Kadın	28	15,36±6,49	
<b>ADE Gen Eks.</b>	Erkek	68	69,37±383,49	p>0,05
	Kadın	28	7,66±13,22	
<b>VEGF Gen Eks.</b>	Erkek	68	28,19±122,93	p>0,05
	Kadın	28	14,32±46,21	
<b>AGTR1 Gen Eks.</b>	Erkek	68	9,15±24,85	p>0,05
	Kadın	28	9,57±34,76	

s: Serum, Td: Tümör dokusu, Sd: Sağlıklı doku, Gen Eks.:Gen Ekspresyonu

Gliom hastalarında yaşa göre yapılan değerlendirmede, 19-39 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında serum ADE düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 19-39 yaş grubu ile 40-55 yaş grubu, 40-55 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında yapılan karşılaştırmada serum ADE düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9).

Yaşa göre yapılan değerlendirmede, 19-39 yaş grubu hastaların serum eNOS düzeyleri, >55 yaş grubu hastaların serum eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 19-39 yaş grubu ile 40-55 yaş grubu, 40-55 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında yapılan karşılaştırmada serum eNOS düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9).

Gliom hastalarında yaşa göre yapılan değerlendirmede, 19-39 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında tümör dokusu VEGF düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p<0,01$ ). 19-39 yaş grubu ile 40-55 yaş grubu, 40-55 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında yapılan karşılaştırmada tümör dokusu VEGF düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9).

Yaşa göre yapılan değerlendirmede, 40-55 yaş grubu hastaların tümör dokusu ET-1 düzeyleri, >55 yaş grubu hastaların tümör dokusu ET-1 düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 19-39 yaş grubu ile 40-55 yaş grubu, 19-39 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında yapılan karşılaştırmada tümör dokusu ET-1 düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9).

Yaşa göre yapılan değerlendirmede, 19-39 yaş grubu hastaların tümör dokusu eNOS düzeyleri, 40-55 yaş grubu hastaların tümör dokusu eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 19-39 yaş grubu ile >55 yaş grubu, 40-55 yaş grubu ile >55 yaş grubu arasında yapılan karşılaştırmada tümör dokusu eNOS düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9).

Serum VEGF, ET-1 ve NO, tümör dokusu ADE ve NO, sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeylerinin ve ADE, VEGF ve AGTR1 gen ekspresyonlarının hasta grubunda yaşa göre anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Gliom hastalarında yaşa göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması

	Yaş	N	X±SH	p
sADE (ng/mL)	19-39	23	141,59±20,04	<sup>a</sup> 19-39 yaş grubuna göre farklılık $p<0,05$
	40-55	37	175,36±13,67	
	>55	36	197,66±14,99 <sup>a</sup>	
sVEGF (pg/mL)	19-39	23	175,39±34,02	$p>0,05$
	40-55	37	131,21±23,11	
	>55	36	210,86±54,16	
sET-1 (pg/mL)	19-39	23	19,78±3,99	$p>0,05$
	40-55	37	17,39±2,60	
	>55	36	21,11±4,03	
seNOS (ng/mL)	19-39	23	2,30±0,11	<sup>b</sup> 19-39 yaş grubuna göre farklılık $p<0,05$
	40-55	37	2,45±0,08	
	>55	36	2,63±0,09 <sup>b</sup>	
sNO ( $\mu$ mo/L)	19-39	23	14,13±0,85	$p>0,05$
	40-55	37	20,19±2,83	
	>55	36	19,76±4,45	
TdADE (ng/mL)	19-39	23	133,07±16,19	$p>0,05$
	40-55	37	139,07±10,61	
	>55	36	122,18±7,64	

Çizelge 4.9. (devamı) Gliom hastalarında yaşa göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması

<b>SdADE (ng/mL)</b>	19-39	23	394,90±22,13	p>0,05
	40-55	37	385,66±21,47	
	>55	36	374,12±15,21	
<b>TdVEGF (ng/mL)</b>	19-39	23	0,43±0,09	°19-39 yaş grubuna göre farklılık p<0,01
	40-55	37	0,97±0,32	
	>55	36	1,49±0,12°	
<b>SdVEGF (ng/mL)</b>	19-39	23	0,99±0,34	p>0,05
	40-55	37	0,88±0,37	
	>55	36	0,86±0,24	
<b>TdET-1 (pg/mL)</b>	19-39	23	31,21±5,27	°40-55 yaş grubuna göre farklılık p<0,05
	40-55	37	22,99±3,05	
	>55	36	43,98±8,85 <sup>d</sup>	
<b>SdET-1 (pg/mL)</b>	19-39	23	30,51±13,25	p>0,05
	40-55	37	17,37±3,64	
	>55	36	18,51±4,15	
<b>TdeNOS (ng/mL)</b>	19-39	23	7,97±0,58°	°40-55 yaş grubuna göre farklılık p<0,05
	40-55	37	5,89±0,61	
	>55	36	6,92±0,57	
<b>SdeNOS (ng/mL)</b>	19-39	23	3,30±0,88	p>0,05
	40-55	37	2,85±0,61	
	>55	36	3,09±0,61	
<b>TdNO (µmo/L)</b>	19-39	23	19,97±2,93	p>0,05
	40-55	37	18,29±1,96	
	>55	36	24,43±3,60	
<b>SdNO (µmo/L)</b>	19-39	23	14,53±1,31	p>0,05
	40-55	37	16,25±2,10	
	>55	36	14,35±1,01	
<b>ADE Gen Eks.</b>	19-39	23	6,11±2,60	p>0,05
	40-55	37	30,96±15,72	
	>55	36	101,25±86,60	
<b>VEGF Gen Eks.</b>	19-39	23	8,02±2,77	p>0,05
	40-55	37	44,37±26,86	
	>55	36	13,65±8,17	
<b>AGTR1 Gen Eks.</b>	19-39	23	12,60±8,47	p>0,05
	40-55	37	9,88±4,22	
	>55	36	6,52±3,28	

s: Serum, Td: Tümör dokusu, Sd: Sağlıklı doku, Gen Eks.:Gen Ekspresyonu

Vücut kitle indeksine göre yapılan değerlendirmede, <20 VKI grubu, 20-25 VKI grubu ve >25 VKI grubu hastaların serum NO düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Ancak <20 VKI grubu ile 20-25 VKI grubu, <20 VKI grubu ile >25 VKI grubu ve 20-25 VKI grubu ile >25 VKI grubu hastalar arasında yapılan karşılaştırmada serum NO düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10).

Gliom hastalarında vücut kitle indeksine göre yapılan değerlendirmede, 20-25 VKI grubu ile >25 VKI grubu arasında tümör dokusu ADE düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 20-25 VKI grubu ile <20 VKI grubu, >25 VKI grubu ile <20 VKI grubu arasında yapılan karşılaştırmada tümör dokusu ADE düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10).

20-25 VKI grubu hastaların tümör dokusu eNOS düzeyleri >25 VKI grubu hastaların tümör dokusu eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ). 20-25 VKI grubu ile <20 VKI grubu, >25 VKI grubu ile <20 VKI grubu arasında yapılan karşılaştırmada tümör dokusu eNOS düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10).

20-25 VKI grubu hastaların sağlıklı doku eNOS düzeyleri, >25 VKI grubu hastaların sağlıklı doku eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,01$ ). 20-25 VKI grubu ile <20 VKI grubu, >25 VKI grubu ile <20 VKI grubu arasında yapılan karşılaştırmada sağlıklı doku eNOS düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10).

20-25 VKI grubu hastaların tümör dokusu NO düzeyleri >25 VKI grubu hastaların tümör dokusu NO düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,01$ ). 20-25 VKI grubu ile <20 VKI grubu, >25 VKI grubu ile <20 VKI grubu arasında yapılan karşılaştırmada tümör dokusu NO düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10).

Serum ADE, VEGF, ET-1 ve eNOS, tümör dokusu VEGF ve ET-1, sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1 ve NO düzeylerinin ve ADE, VEGF ve AGTR1 gen ekspersyonlarının hasta

grubunda vücut kitle indeksine göre istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Gliom hastalarında vücut kitle indeksine göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması

	VKI	N	X±SH	p
sADE (ng/mL)	<20	5	215,34±62,40	p>0,05
	20-25	53	171,57±12,07	
	>25	38	176,08±14,39	
sVEGF (pg/mL)	<20	5	177,94±69,84	p>0,05
	20-25	53	126,94±18,29	
	>25	38	233,22±52,25	
sET-1 (pg/mL)	<20	5	22,22±10,69	p>0,05
	20-25	53	16,81±2,73	
	>25	38	22,54±3,17	
seNOS (ng/mL)	<20	5	2,87±0,24	p>0,05
	20-25	53	2,42±0,07	
	>25	38	2,52±0,08	
sNO (µmo/L)	<20	5	47,38±31,30	p<0,01
	20-25	53	15,86±1,77	
	>25	38	18,57±1,63	
TdADE (ng/mL)	<20	5	155,67±30,79	<sup>a</sup> 20-25 VKI grubuna göre farklılık p<0,05
	20-25	53	118,14±7,02	
	>25	38	146,45±1,49 <sup>a</sup>	
SdADE (ng/mL)	<20	5	358,52±57,10	p>0,05
	20-25	53	400,73±15,78	
	>25	38	362,88±16,30	
TdVEGF (ng/mL)	<20	5	1,61±0,34	p>0,05
	20-25	53	0,91±0,11	
	>25	38	1,14±0,32	
SdVEGF (ng/mL)	<20	5	0,59±0,48	p>0,05
	20-25	53	0,87±0,28	
	>25	38	0,99±0,26	
TdET-1 (pg/mL)	<20	5	34,07±7,07	p>0,05
	20-25	53	37,07±6,05	
	>25	38	26,77±4,55	



Çizelge 4.10. (devamı) Gliom hastalarında vücut kitle indeksine göre yapılan serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu düzeyleri ve gen ekspresyonlarının kıyaslanması

<b>SdET-1 (pg/mL)</b>	<20	5	26,34±8,69	p>0,05
	20-25	53	25,68±6,36	
	>25	38	13,64±3,20	
<b>TdeNOS (ng/mL)</b>	<20	5	4,42±2,15	<sup>b</sup> 20-25 VKI grubuna göre farklılık p<0,01
	20-25	53	8,08±0,32	
	>25	38	5,26±0,63 <sup>b</sup>	
<b>SdeNOS (ng/mL)</b>	<20	5	2,80±1,30	<sup>c</sup> 20-25 VKI grubuna göre farklılık p<0,01
	20-25	53	1,54±0,36	
	>25	38	5,19±0,69 <sup>c</sup>	
<b>TdNO (µmo/L)</b>	<20	5	24,55±6,83	<sup>d</sup> 20-25 VKI grubuna göre farklılık p<0,01
	20-25	53	14,89±1,44	
	>25	38	28,44±3,36 <sup>d</sup>	
<b>SdNO (µmo/L)</b>	<20	5	12,47±1,51	p>0,05
	20-25	53	14,73±1,36	
	>25	38	16,02±1,45	
<b>ADE Gen Eks.</b>	<20	5	12,68±7,24	p>0,05
	20-25	53	27,64±11,21	
	>25	38	89,55±82,17	
<b>VEGF Gen Eks.</b>	<20	5	51,08±47,93	p>0,05
	20-25	53	35,69±19,04	
	>25	38	4,49±1,54	
<b>AGTR1 Gen Eks.</b>	<20	5	3,12±2,41	p>0,05
	20-25	53	8,51±3,48	
	>25	38	11,14±5,35	

s: Serum, Td: Tümör dokusu, Sd: Sağlıklı doku, Gen Eks.:Gen Ekspresyonu

Sağlıklı kontrollerde cinsiyete göre yapılan değerlendirmede, erkek bireylerin serum ADE düzeyleri kadın bireylerin serum ADE düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,01).

sVEGF, sET-1, seNOS ve sNO düzeyleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde, erkek ve kadın grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Sağlıklı kontrollerde cinsiyete göre yapılan serum düzeyleri kıyaslanması

	Cinsiyet	N	X±SH	p
sADE (ng/mL)	Erkek	74	125,06±7,23	p<0,01
	Kadın	30	86,96±14,40	
sVEGF (pg/mL)	Erkek	74	91,49±8,29	p>0,05
	Kadın	30	99,55±18,54	
sET-1 (pg/mL)	Erkek	74	17,68±1,83	p>0,05
	Kadın	30	17,30±2,43	
seNOS (ng/mL)	Erkek	74	1,56±0,07	p>0,05
	Kadın	30	1,63±0,10	
sNO (µmol/L)	Erkek	74	11,88±0,37	p>0,05
	Kadın	30	12,51±0,47	

s: Serum

Sağlıklı kontrollerde yaşa göre yapılan değerlendirmede, 19-39 ve 40-55 yaş arasındaki kontrollerin serum ET-1 düzeyleri, >55 yaş grubuna sahip kontrollerin serum ET-1 düzeylerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (sırasıyla, p<0,01, p<0,01).

Diğer serum parametrelerinde, yaşa bağlı yapılan değerlendirmede istatistiksel fark bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Sağlıklı kontrollerde yaşa göre yapılan serum düzeyleri kıyaslanması

	Yaş	N	X±SH	p
sADE (ng/mL)	19-39	29	125,60±16,57	p>0,05
	40-55	46	113,17±8,71	
	>55	29	103,97±11,47	
sVEGF (pg/mL)	19-39	29	88,72±17,33	p>0,05
	40-55	46	90,58±8,95	
	>55	29	104,04±17,82	
sET-1 (pg/mL)	19-39	29	13,52±1,56	<sup>a</sup> 19-39 yaş grubuna göre farklılık, p<0,01 <sup>b</sup> >55 yaş grubuna göre farklılık, p<0,01
	40-55	46	14,75±2,19 <sup>b</sup>	
	>55	29	26,09±3,19 <sup>a</sup>	
seNOS (ng/mL)	19-39	29	1,58±0,11	p>0,05
	40-55	46	1,58±0,09	
	>55	29	1,57±0,11	
sNO (µmo/L)	19-39	29	12,33±0,69	p>0,05
	40-55	46	11,72±0,34	
	>55	29	12,33±0,59	

s: Serum

Sağlıklı kontrollerde vücut kitle indeksine göre yapılan değerlendirmede, <20 VKI grubu ile >25 VKI grubu arasında serum ADE düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p<0,05). 20-25 VKI grubu ile <20 VKI grubu, 20-25 VKI grubu ile >25 VKI grubu arasında yapılan karşılaştırmada serum ADE düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.13).

Vücut kitle indeksine göre yapılan değerlendirmede, <20 VKI grubu, 20-25 VKI grubu ve >25 VKI grubu sağlıklı kontrollerin serum VEGF düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p<0,01). Ancak <20 VKI grubu ile 20-25 VKI grubu, <20 VKI grubu ile >25 VKI grubu ve 20-25 VKI grubu ile >25 VKI grubu kontroller arasında yapılan karşılaştırmada serum VEGF düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.13).

Sağlıklı kontrollerde vücut kitle indeksine göre yapılan değerlendirmede, <20 VKI grubu ile >25 VKI grubu ve 20-25 VKI grubu ile >25 VKI grubu arasında eNOS düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (sırasıyla, p<0,05,

$p<0,05$ ).  $<20$  VKI grubu ile  $20-25$  VKI grubu kontroller arasında yapılan karşılaştırmada serum eNOS düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.13).

$20-25$  VKI grubu sağlıklı kontrollerin serum NO düzeyleri  $>25$  VKI grubu kontrollerin serum NO düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).  $20-25$  VKI grubu ile  $<20$  VKI grubu,  $>25$  VKI grubu ile  $<20$  VKI grubu kontroller arasında yapılan karşılaştırmada serum NO düzeylerine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.13).

Serum ET-1 düzeyleri bakımından kontrol grubunda vücut kitle indeksine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Sağlıklı kontrollerde vücut kitle indeksine göre yapılan serum düzeyleri kıyaslanması

		N	X±SH	P
sADE (ng/mL)	<20	2	6,03±4,82 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> VKI>25 grubuna göre farklılık, $p<0,05$
	20-25	36	119,94±13,63	
	>25	66	114,14±7,40	
sVEGF (pg/mL)	<20	2	237,60±158,72	$p<0,01$
	20-25	36	110,36±16,31	
	>25	66	80,43±7,21	
sET-1 (pg/mL)	<20	2	14,87±13,72	$p>0,05$
	20-25	36	20,10±2,73	
	>25	66	16,27±1,74	
seNOS (ng/mL)	<20	2	2,42±0,42 <sup>b</sup>	<sup>b,c</sup> VKI>25 grubuna göre farklılık, $p<0,05$
	20-25	36	1,74±0,11 <sup>c</sup>	
	>25	66	1,45±0,07	
sNO ( $\mu\text{mo/L}$ )	<20	2	10,66±0,83	<sup>d</sup> VKI>25 grubuna göre farklılık, $p<0,05$
	20-25	36	11,28±0,48 <sup>d</sup>	
	>25	66	12,06±0,37	

s: Serum

Yapılan çoklu varyans analizi ile yaşın, cinsiyetin ve vücut kitle indeksinin serum ve doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri üzerine etkisi hesaplanarak düzeltilmiş değerler elde edilmiş, fakat anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde DD, ID ve II genotiplerine göre serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında ID genotipinin serum VEGF düzeyleri, II genotipinin serum VEGF düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük, II genotipinin serum VEGF düzeyleri, DD genotipinin serum VEGF düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). Genotiplere göre yapılan değerlendirmede, ID genotipinin serum ET-1 düzeyleri, II genotipinin serum ET-1 düzeyleri ile karşılaştırıldığında düşük; serum eNOS düzeyleri ise yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). Genotiplere göre serum NO düzeyleri karşılaştırıldığında ID genotipinin serum NO düzeyleri, DD genotipinin serum NO düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO ( $\mu$ mol/L)
		X $\pm$ SH				
DD	36	173,47 $\pm$ 15,29	160,81 $\pm$ 39,28	18,87 $\pm$ 2,75	2,42 $\pm$ 0,09	14,31 $\pm$ 0,96
ID	41	189,57 $\pm$ 15,14	139,21 $\pm$ 23,15 <sup>a</sup>	18,06 $\pm$ 3,62 <sup>c</sup>	2,62 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup>	20,66 $\pm$ 2,48 <sup>e</sup>
II	19	149,65 $\pm$ 16,04	262,27 $\pm$ 78,03 <sup>b</sup>	23,09 $\pm$ 4,33	2,31 $\pm$ 0,11	22,18 $\pm$ 8,41

<sup>a,c,d</sup>II genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ,  $p<0,05$

<sup>b,e</sup>DD genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık,  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ , s: Serum

Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde DD, ID ve II genotiplerine göre tümör dokusu ET-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, DD genotipinin tümör dokusu ET-1 düzeyleri, II genotipinin tümör dokusu ET-1 düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek, II genotipinin tümör dokusu ET-1 düzeyleri, ID genotipinin tümör dokusu ET-1 düzeylerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). Genotiplere göre yapılan değerlendirmede, DD genotipinin tümör dokusu eNOS düzeyleri, II genotipinin tümör dokusu eNOS düzeyleri ile karşılaştırıldığında yüksek; II genotipinin tümör dokusu eNOS düzeyleri, ID genotipinin tümör dokusu eNOS düzeylerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,01$ ,  $p<0,01$ ). Genotiplere göre tümör dokusu NO düzeyleri karşılaştırıldığında, DD genotipinin tümör dokusu NO düzeyleri, II genotipinin tümör dokusu NO düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4. 15. Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	TdADE	TdVEGF	TdET-1	TdeNOS	TdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	(µmol/L)
X±SH						
DD	36	126,27±10,17	1,19±0,33	30,82±3,60 <sup>a</sup>	7,65±0,50 <sup>c</sup>	15,76±1,94 <sup>e</sup>
ID	41	128,05±8,79	0,97±0,12	40,68±8,08	6,93±0,55	23,45±2,26
II	19	147,85±16,90	0,91±0,19	19,73±3,37 <sup>b</sup>	4,78±0,80 <sup>d</sup>	24,42±5,94

<sup>a,c</sup> II genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla p<0,05, p<0,01

<sup>b,d,e</sup> ID genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla p<0,05, p<0,01, p<0,05, Td : tümör dokusu

Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde DD, ID ve II genotiplerine göre sağlıklı doku eNOS düzeyleri karşılaştırıldığında, DD genotipinin sağlıklı doku eNOS düzeyleri, ID genotipinin sağlıklı doku eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0,05). Genotiplere göre yapılan değerlendirmede, II genotipinin sağlıklı doku NO düzeyleri, ID genotipinin sağlıklı doku NO düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0,05) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Gliom hastalarında ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	SdADE	SdVEGF	SdET-1	SdeNOS	SdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	(µmol/L)
X±SH						
DD	36	379,26±14,50	1,18±0,40	28,85±9,17	2,17±0,55 <sup>a</sup>	13,38±0,79
ID	41	392,28±15,99	0,62±0,18	16,29±3,22	3,65±0,64	17,76±1,97
II	19	372,82±37,05	0,98±0,40	16,01±3,60	3,43±0,84	12,76±1,17 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> ID genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla p<0,05, p<0,05, Sd : Sağlıklı doku,

Sağlıklı kontrollerde ADE I/D polimorfizminde DD, ID ve II genotiplerine göre serum ADE düzeyleri karşılaştırıldığında, ID genotipinin serum ADE düzeyleri, II genotipinin serum ADE düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0,01) (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Sağlıklı kontrollerde ADE I/D polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO (µmol/L)
		X±SH				
DD	35	120,00±13,14	97,50±15,89	16,38±2,01	1,57±0,10	12,24±0,46
ID	50	98,21±9,09 <sup>a</sup>	98,67±11,95	18,14±2,04	1,63±0,09	11,83±0,46
II	19	144,88±12,55	74,26±5,92	18,26±4,88	1,44±0,13	12,37±0,64

<sup>a</sup> II genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, p<0,01, s : Serum

Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede, serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.05) (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO (µmol/L)
		X±SH				
AA	45	156,45±13,67	187,76±37,17	20,41±3,14	2,42±0,10	16,89±1,48
AG	43	195,09±13,21	165,75±35,20	19,79±3,08	2,57±0,06	20,83±4,17
GG	8	178,98±33,09	112,95±41,15	11,11±2,98	2,37±0,08	15,94±2,67

s : Serum

Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde AA, AG ve GG genotiplerine göre tümör dokusu eNOS düzeyleri karşılaştırıldığında, AA genotipinin ve AG genotipinin tümör dokusu eNOS düzeyleri, GG genotipinin tümör dokusu eNOS düzeylerine kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur (sırasıyla p<0,05, p<0,05) (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	TdADE (ng/mL)	TdVEGF (ng/mL)	TdET-1 (pg/mL)	TdeNOS (ng/mL)	TdNO (µmol/L)
		X±SH				
AA	45	129,36±8,79	1,07±0,27	34,78±6,82	6,81±0,50 <sup>a</sup>	17,59±1,86
AG	43	138,48±10,48	1,03±0,12	30,50±4,56	6,26±0,56 <sup>b</sup>	24,64±3,14
GG	8	103,59±5,17	0,87±0,26	34,47±7,49	9,38±0,47	17,68±3,75

<sup>a,b</sup> GG genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla p<0,05, p<0,05, Td : Tümör dokusu

Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde AA, AG ve GG genotiplerine göre sağlıklı doku VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, AG genotipinin sağlıklı doku VEGF düzeyleri, AA genotipinin sağlıklı doku VEGF düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Genotiplere göre yapılan değerlendirmede, GG genotipinin sağlıklı doku ET-1 düzeyleri, AA genotipinin sağlıklı doku ET-1 düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede, AA, AG ve GG genotiplerine göre sağlıklı doku eNOS düzeyleri karşılaştırıldığında, GG genotipinin sağlıklı doku eNOS düzeyleri, AG genotipinin sağlıklı doku eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Gliom hastalarında AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	SdADE	SdVEGF	SdET-1	SdeNOS	SdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
AA	45	380,95 $\pm$ 16,08	0,75 $\pm$ 0,31	16,15 $\pm$ 3,10	2,75 $\pm$ 0,53	15,41 $\pm$ 1,73
AG	43	394,46 $\pm$ 18,26	1,07 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	25,87 $\pm$ 7,79	3,80 $\pm$ 0,63	15,27 $\pm$ 1,06
GG	8	339,50 $\pm$ 21,02	0,83 $\pm$ 0,52	21,47 $\pm$ 2,04 <sup>b</sup>	0,67 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	12,76 $\pm$ 1,43

<sup>a,b</sup> AA genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$

<sup>c</sup> AG genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık,  $p<0,05$ , Sd : Sağlıklı doku

Sağlıklı kontrollerde AGTR1 -168A/G polimorfizminde AA, AG ve GG genotiplerine göre serum eNOS düzeyleri karşılaştırıldığında, AG genotipinin serum eNOS düzeyleri, AA genotipinin serum eNOS düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Sağlıklı kontrollerde AGTR1 -168A/G polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE	sVEGF	sET-1	seNOS	sNO
		(ng/mL)	(pg/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
AA	72	115,46 $\pm$ 8,94	104,39 $\pm$ 11,10	15,84 $\pm$ 1,32	1,68 $\pm$ 0,07	12,19 $\pm$ 0,34
AG	30	109,57 $\pm$ 9,72	70,75 $\pm$ 4,19	21,65 $\pm$ 3,95	1,33 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	11,71 $\pm$ 0,58
GG	2	131,31 $\pm$ 26,96	58,88 $\pm$ 5,00	18,38 $\pm$ 3,39	1,68 $\pm$ 0,19	12,60 $\pm$ 3,87

<sup>a</sup> AA genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık,  $p<0,05$ , s : Serum



Gliom hastalarında AGTR1-535C/T polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Gliom hastalarında AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO ( $\mu$ mol/L)
		X $\pm$ SH				
CC	25	176,93 $\pm$ 16,72	177,46 $\pm$ 37,71	15,21 $\pm$ 2,87	2,62 $\pm$ 0,08	17,21 $\pm$ 3,53
CT	54	173,80 $\pm$ 13,05	181,59 $\pm$ 37,65	22,69 $\pm$ 3,04	2,43 $\pm$ 0,08	19,90 $\pm$ 3,15
TT	17	179,55 $\pm$ 21,35	131,61 $\pm$ 24,55	14,87 $\pm$ 4,29	2,46 $\pm$ 0,10	16,39 $\pm$ 1,30

s : Serum

Gliom hastalarında AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede, tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Gliom hastalarında AGTR1-535C/T polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	TdADE (ng/mL)	TdVEGF (ng/mL)	TdET-1 (pg/mL)	TdeNOS (ng/mL)	TdNO ( $\mu$ mol/L)
		X $\pm$ SH				
CC	25	137,93 $\pm$ 13,50	0,81 $\pm$ 0,16	28,59 $\pm$ 5,01	7,26 $\pm$ 0,63	16,66 $\pm$ 5,45
CT	54	124,77 $\pm$ 6,97	1,21 $\pm$ 0,23	36,69 $\pm$ 6,20	6,63 $\pm$ 0,48	22,30 $\pm$ 2,55
TT	17	142,28 $\pm$ 19,86	0,82 $\pm$ 0,20	26,84 $\pm$ 4,75	6,52 $\pm$ 0,90	20,76 $\pm$ 1,71

Td : Tümör dokusu

Gliom hastalarında AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede, sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Gliom hastalarında AGTR1-535C/T polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	SdADE	SdVEGF	SdET-1	SdeNOS	SdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
CC	25	402,84 $\pm$ 22,53	0,57 $\pm$ 0,22	17,74 $\pm$ 3,34	2,35 $\pm$ 0,66	14,25 $\pm$ 1,05
CT	54	379,17 $\pm$ 16,25	1,18 $\pm$ 0,30	24,10 $\pm$ 6,48	3,29 $\pm$ 0,53	14,93 $\pm$ 1,38
TT	17	369,09 $\pm$ 17,72	0,49 $\pm$ 0,24	15,64 $\pm$ 3,25	3,31 $\pm$ 0,98	17,02 $\pm$ 2,66

Sd : Sağlıklı doku

Sağlıklı kontrollerde AGTR1 -535C/T polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede, serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Sağlıklı kontrollerde AGTR1-535C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE	sVEGF	sET-1	seNOS	sNO
		(ng/mL)	(pg/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
CC	34	101,87 $\pm$ 10,67	102,64 $\pm$ 16,33	17,59 $\pm$ 2,69	1,50 $\pm$ 0,08	11,81 $\pm$ 0,43
CT	54	123,61 $\pm$ 10,19	89,43 $\pm$ 10,16	16,69 $\pm$ 2,07	1,63 $\pm$ 0,09	12,38 $\pm$ 0,46
TT	16	107,79 $\pm$ 15,63	89,84 $\pm$ 17,43	20,48 $\pm$ 3,25	1,59 $\pm$ 0,12	11,53 $\pm$ 0,67

s : Serum

Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede, serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE	sVEGF	sET-1	seNOS	sNO
		(ng/mL)	(pg/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
CC	68	173,83 $\pm$ 11,59	137,53 $\pm$ 15,41	18,19 $\pm$ 2,18	2,50 $\pm$ 0,06	17,43 $\pm$ 1,57
CT	26	178,76 $\pm$ 15,98	213,55 $\pm$ 56,66	21,53 $\pm$ 4,90	2,46 $\pm$ 0,11	21,88 $\pm$ 6,20
TT	2	196,37 $\pm$ 16,66	787,57 $\pm$ 726,88	30,95 $\pm$ 2,32	2,10 $\pm$ 0,38	14,59 $\pm$ 0,74

s : Serum

Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde CC, CT ve TT genotiplerine göre, tümör dokusu eNOS düzeyleri karşılaştırıldığında CC genotipinin ve CT genotipinin tümör dokusu eNOS düzeyleri, TT genotipinin tümör dokusu eNOS düzeylerine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ) (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	TdADE	TdVEGF	TdET-1	TdeNOS	TdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
CC	68	127,09 $\pm$ 7,30	1,06 $\pm$ 0,19	31,20 $\pm$ 3,38	7,06 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	20,80 $\pm$ 2,09
CT	26	137,37 $\pm$ 12,87	0,92 $\pm$ 0,16	38,24 $\pm$ 11,08	6,54 $\pm$ 0,72 <sup>b</sup>	20,43 $\pm$ 3,22
TT	2	195,57 $\pm$ 6,68	1,66 $\pm$ 0,19	18,22 $\pm$ 2,09	0,28 $\pm$ 0,05	23,42 $\pm$ 1,07

<sup>a, b</sup>TT genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ , Td : Tümör dokusu

Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde CC, CT ve TT genotiplerine göre, sağlıklı doku ADE düzeyleri karşılaştırıldığında CC genotipinin ve CT genotipinin sağlıklı doku ADE düzeyleri, TT genotipinin sağlıklı doku ADE düzeylerine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ) (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Gliom hastalarında VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	SdADE	SdVEGF	SdET-1	SdeNOS	SdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	( $\mu$ mol/L)
X $\pm$ SH						
CC	68	392,53 $\pm$ 13,29 <sup>a</sup>	0,97 $\pm$ 0,2400	22,84 $\pm$ 5,06	2,66 $\pm$ 0,43	15,19 $\pm$ 1,17
CT	26	371,90 $\pm$ 21,39 <sup>b</sup>	0,62 $\pm$ 0,21	16,75 $\pm$ 4,49	3,86 $\pm$ 0,83	15,32 $\pm$ 1,68
TT	2	229,57 $\pm$ 22,13	2,42 $\pm$ 1,85	11,15 $\pm$ 1,35	5,65 $\pm$ 0,87	10,54 $\pm$ 1,38

<sup>a, b</sup>TT genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ , Sd : Sağlıklı doku

Sağlıklı kontrollerde VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Sağlıklı kontrollerde VEGF +936C/T polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO (µmol/L)
		X±SH				
CC	103	115,03±6,79	94,34±7,98	17,43±1,48	1,57±0,06	12,07±0,30
CT	1	15,35	40,06	31,25	2,46	10,94
TT	-	-	-	-	-	-

s : Serum

Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde AA, CA ve CC genotiplerine göre serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, CA genotipinin serum VEGF düzeyleri, AA genotipinin serum VEGF düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO (µmol/L)
		X±SH				
AA	18	176,48±14,65	146,73±80,90	21,80±3,64	2,56±0,10	15,00±2,03
CA	49	176,04±12,03	198,19±31,85 <sup>a</sup>	19,39±3,04	2,46±0,08	17,72±2,10
CC	29	174,41±21,45	142,32±28,28	17,78±3,81	2,48±0,10	22,25±5,47

<sup>a</sup> AA genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık,  $p<0,01$ , s : Serum

Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde AA, CA ve CC genotiplerine göre tümör dokusu ADE düzeyleri karşılaştırıldığında, AA genotipinin tümör dokusu ADE düzeyleri, CA genotipinin tümör dokusu ADE düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre tümör dokusu ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	TdADE	TdVEGF	TdET-1	TdeNOS	TdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	(μmol/L)
X±SH						
AA	18	108,83±9,88 <sup>a</sup>	1,48±0,64	32,41±4,72	7,48±0,65	17,22±3,21
CA	49	136,96±9,15	0,96±0,11	35,53±6,90	6,63±0,52	22,05±2,82
CC	29	135,68±12,32	0,89±0,15	28,54±4,11	6,59±0,68	20,76±2,35

<sup>a</sup>CA genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, p<0,01, Td : Tümör dokusu

Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre yapılan değerlendirmede sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.05) (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. Gliom hastalarında VEGF -2578C/A polimorfizminde genotiplere göre sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	SdADE	SdVEGF	SdET-1	SdeNOS	SdNO
		(ng/mL)	(ng/mL)	(pg/mL)	(ng/mL)	(μmol/L)
X±SH						
AA	18	379,74±22,12	0,60±0,25	21,59±5,66	2,60±0,92	12,91±1,53
CA	49	392,90±18,11	1,06±0,33	23,51±6,75	3,69±0,58	15,28±0,97
CC	29	370,11±16,80	0,82±0,22	16,22±3,98	2,24±0,55	16,23±2,49

Sd : Sağlıklı doku

Sağlıklı kontrollerde VEGF -2578C/A polimorfizminde AA, CA ve CC genotiplerine göre serum ADE düzeyleri karşılaştırıldığında, CA genotipinin serum ADE düzeyleri, AA genotipinin serum ADE düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p<0,05) (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.33. Sağlıklı kontrollerde VEGF -2578C/Apolimorfizminde genotiplere göre serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri

Genotip	N	sADE (ng/mL)	sVEGF (pg/mL)	sET-1 (pg/mL)	seNOS (ng/mL)	sNO (µmol/L)
		X±SH				
AA	22	133,40±17,74	118,89±22,40	21,14±4,66	1,58±0,14	11,79±0,52
CA	44	111,06±9,99 <sup>a</sup>	81,44±8,60	16,84±1,86	1,64±0,09	11,90±0,44
CC	38	106,36±10,29	93,62±14,10	16,34±2,10	1,51±0,09	12,41±0,55

<sup>a</sup>AA genotipi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, p<0,05, s : Serum

Gliom hastalarında, tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, evre IV'deki hastaların serum ADE düzeyleri evre II'deki hastaların serum ADE düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,05). eNOS düzeyleri bakımından evre III'deki hastaların serum düzeyleri evre II'deki hastaların serum düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,05). Gliom hastalarında, serum VEGF, ET-1 ve NO düzeyleri yönünden, tümör evreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. Gliom hastalarında, tümör evresine göre serum parametrelerinin değerlendirilmesi

	Tümör Evresi	N	X±SH	p
sADE (ng/mL)	II	30	141,23±17,65	<sup>a</sup> Evre II ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, p<0,05
	III	16	185,73±23,20	
	IV	50	193,04±11,55 <sup>a</sup>	
sVEGF (pg/mL)	II	30	176,44±29,91	p>0,05
	III	16	105,02±16,23	
	IV	50	190,12±41,30	
sET-1 (pg/mL)	II	30	18,91±2,84	p>0,05
	III	16	21,37±4,95	
	IV	50	18,98±3,18	
seNOS (ng/mL)	II	30	2,30±0,09	<sup>b</sup> Evre II ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, p<0,05
	III	16	2,60±0,17 <sup>b</sup>	
	IV	50	2,55±0,07	
sNO (µmol/L)	II	30	15,94±1,46	p>0,05
	III	16	20,15±5,23	
	IV	50	19,65±3,37	

s: Serum

Gliom hastalarında, tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, evre VI'deki hastaların doku VEGF düzeyleri evre II'deki hastaların doku VEGF düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Evre VI'deki hastaların doku VEGF düzeyleri evre III'deki hastaların doku VEGF düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Evre III'deki hastaların doku VEGF düzeyleri evre II'deki hastaların doku VEGF düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Gliom hastalarında, doku ADE, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri yönünden, tümör evreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Gliom hastalarında, tümör evresine göre doku parametrelerinin değerlendirilmesi

	Tümör Evresi	N	X±SH	p
<b>dADE (ng/mL)</b>	II	30	120,73±9,66	p>0.05
	III	16	145,82±20,98	
	IV	50	132,99±8,27	
<b>dVEGF (ng/mL)</b>	II	30	0,22±0,03	<sup>a, b</sup> Evre II ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, sırasıyla, $p<0,01$ , $p<0,05$ , <sup>c</sup> Evre III ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık, $p<0,01$
	III	16	1,35±0,73 <sup>b</sup>	
	IV	50	1,43±0,09 <sup>a, c</sup>	
<b>dET-1 (pg/mL)</b>	II	30	25,97±4,06	p>0.05
	III	16	26,77±4,49	
	IV	50	38,90±6,71	
<b>deNOS (ng/mL)</b>	II	30	7,46±0,62	p>0.05
	III	16	6,91±0,95	
	IV	50	6,32±0,48	
<b>dNO (µmol/L)</b>	II	30	18,37±2,28	p>0.05
	III	16	29,74±7,18	
	IV	50	19,32±1,82	

d: Doku

Gliom hastalarında ölçülen serum, sağlıklı doku ve tümör dokusu parametreleri arasındaki korelasyonlar Çizelge 4.36'de görülmektedir.

Hasta grubunda serum ADE düzeyleri ile serum eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) ve serum ADE düzeyleri ile tümör dokusu ET-1 düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif

korelasyonlar bulunurken, serum ADE düzeyleri ile sağlıklı doku NO düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) negatif bir korelasyon bulunmuştur.

Hasta grubunda serum VEGF düzeyleri ile sağlıklı doku eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif bir korelasyon bulunurken, serum VEGF düzeyleri ile sağlıklı doku ADE düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) ve serum VEGF düzeyleri ile tümör dokusu eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) negatif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda serum ET-1 düzeyleri ile serum NO düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ), serum ET-1 düzeyleri ile tümör dokusu ET-1 düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) ve serum ET-1 düzeyleri ile sağlıklı doku eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) pozitif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda serum eNOS düzeyleri ile tümör dokusu NO düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

Hasta grubunda serum NO düzeyleri ile tümör dokusu ADE düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ), serum NO düzeyleri ile sağlıklı doku eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) ve serum NO düzeyleri ile tümör dokusu NO düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) pozitif korelasyonlar bulunurken, serum NO düzeyleri ile tümör dokusu eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) negatif bir korelasyon bulunmuştur.

Hasta grubunda tümör dokusu ADE düzeyleri ile sağlıklı doku eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) ve tümör dokusu ADE düzeyleri ile tümör dokusu NO düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) pozitif korelasyonlar bulunurken, tümör dokusu ADE ile sağlıklı doku ADE düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) ve tümör dokusu ADE düzeyleri ile tümör dokusu eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) negatif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda sağlıklı doku ADE düzeyleri ile sağlıklı doku ET-1 düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ), sağlıklı doku ADE düzeyleri ile tümör dokusu eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) ve sağlıklı doku ADE düzeyleri ile sağlıklı doku NO düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda sağlıklı doku VEGF düzeyleri ile sağlıklı doku ET-1 düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif korelasyonlar bulunmuştur.



Hasta grubunda tümör dokusu ET-1 düzeyleri ile tümör dokusu eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda tümör dokusu eNOS ile sağlıklı doku eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) ve tümör dokusu eNOS düzeyleri ile tümör dokusu NO düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) negatif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda sağlıklı doku eNOS ile tümör dokusu NO düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) ve sağlıklı doku eNOS düzeyleri ile sağlıklı doku NO düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif korelasyonlar bulunmuştur.

Hasta grubunda tümör dokusu NO düzeyleri ile sağlıklı doku NO düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

Çizelge 4.36. Gliom hastalarında, serum ve doku ölçümleri arasındaki korelasyonlar

	sADE	sVEGF	sET-1	seNOS	sNO	TdADE	SdADE	TdVEGF	SdVEGF	TdET-1	SdET-1	TdeNOS	SdeNOS	TdNO	SdNO
<b>sADE</b>	1,000 0,000	-0,026 0,802	-0,071 0,495	0,255* 0,012	0,065 0,531	-0,033 0,750	-0,076 0,462	0,158 0,125	-0,044 0,673	0,262** 0,010	-0,030 0,774	0,082 0,427	-0,089 0,386	-0,079 0,444	-0,200* 0,050
<b>sVEGF</b>	-0,026 0,802	1,000 0,000	-0,015 0,886	-0,068 0,508	0,025 0,808	0,158 0,124	-0,205* 0,045	0,019 0,854	-0,056 0,589	-0,139 0,178	-0,136 0,186	-0,418** 0,000	0,352** 0,000	0,116 0,260	0,052 0,613
<b>sET-1</b>	-0,071 0,495	-0,015 0,886	1,000 0,000	0,111 0,281	0,244* 0,017	0,063 0,545	-0,023 0,823	0,071 0,489	0,086 0,404	0,494** 0,000	0,109 0,289	-0,153 0,137	0,243* 0,017	0,146 0,157	0,115 0,263
<b>seNOS</b>	0,255* 0,012	-0,068 0,508	0,111 0,281	1,000 0,000	0,087 0,402	0,002 0,987	0,020 0,847	0,155 0,130	-0,124 0,227	0,146 0,156	-0,088 0,396	-0,094 0,362	0,050 0,629	0,264** 0,009	0,140 0,174
<b>sNO</b>	0,065 0,531	0,025 0,808	0,244* 0,017	0,087 0,402	1,000 0,000	0,310** 0,002	-0,094 0,361	0,101 0,330	0,029 0,779	0,002 0,988	-0,075 0,469	-0,361** 0,000	0,236* 0,020	0,259* 0,011	0,121 0,238
<b>TdADE</b>	-0,033 0,750	0,158 0,124	0,063 0,545	0,002 0,987	0,310** 0,002	1,000 0,000	-0,267** 0,009	-0,075 0,466	-0,034 0,743	-0,168 0,102	-0,173 0,093	-0,576** 0,000	0,201* 0,050	0,216* 0,034	-0,029 0,782
<b>SdADE</b>	-0,076 0,462	-0,205* 0,045	-0,023 0,823	0,020 0,847	-0,094 0,361	-0,267** 0,009	1,000 0,000	-0,120 0,245	0,001 0,991	0,019 0,852	0,282** 0,005	0,224* 0,028	0,018 0,861	0,043 0,678	0,381** 0,000
<b>TdVEGF</b>	0,158 0,125	0,019 0,854	0,071 0,489	0,155 0,130	0,101 0,330	-0,075 0,466	-0,120 0,245	1,000 0,000	-0,010 0,922	0,084 0,415	-0,062 0,547	-0,060 0,562	-0,069 0,504	-0,008 0,940	-0,073 0,477
<b>SdVEGF</b>	-0,044 0,673	-0,056 0,589	0,086 0,404	-0,124 0,227	0,029 0,779	-0,034 0,743	0,001 0,991	-0,010 0,922	1,000 0,000	-0,003 0,978	0,439** 0,000	0,000 0,999	0,002 0,988	0,110 0,286	-0,091 0,376
<b>TdET-1</b>	0,262** 0,010	-0,139 0,178	0,494** 0,000	0,146 0,156	0,002 0,988	-0,168 0,102	0,019 0,852	0,084 0,415	-0,003 0,978	1,000 0,000	0,084 0,414	0,266** 0,009	0,011 0,916	-0,106 0,302	0,012 0,906
<b>SdET-1</b>	-0,030 0,774	-0,136 0,186	0,109 0,289	-0,088 0,396	-0,075 0,469	-0,173 0,093	0,282** 0,005	-0,062 0,547	0,439** 0,000	0,084 0,414	1,000 0,000	0,180 0,080	-0,089 0,390	-0,098 0,343	-0,047 0,652
<b>TdeNOS</b>	0,082 0,427	-0,418** 0,000	-0,153 0,137	-0,094 0,362	-0,361** 0,000	-0,576** 0,000	0,224* 0,028	-0,060 0,562	0,000 0,999	0,266** 0,009	0,180 0,080	1,000 0,000	-0,386** 0,000	-0,363** 0,000	-0,171 0,095
<b>SdeNOS</b>	-0,089 0,386	0,352** 0,000	0,243* 0,017	0,050 0,629	0,236* 0,020	0,201* 0,050	0,018 0,861	-0,069 0,504	0,002 0,988	0,011 0,916	-0,089 0,390	-0,386** 0,000	1,000 0,000	0,406** 0,000	0,340** 0,001
<b>TdNO</b>	-0,079 0,444	0,116 0,260	0,146 0,157	0,264** 0,009	0,259* 0,011	0,216* 0,034	0,043 0,678	-0,008 0,940	0,110 0,286	-0,106 0,302	-0,098 0,343	-0,363** 0,000	0,406** 0,000	1,000 0,000	0,209* 0,041
<b>SdNO</b>	-0,200* 0,050	0,052 0,613	0,115 0,263	0,140 0,174	0,121 0,238	-0,029 0,782	0,381** 0,000	-0,073 0,477	-0,091 0,376	0,012 0,906	-0,047 0,652	-0,171 0,095	0,340** 0,001	0,209* 0,041	1,000 0,000

s: Serum, Td: Tümör dokusu, Sd: Sağlıklı doku

Gliom hastalarında belirlenen göreceli gen ekspresyonları arasındaki korelasyonlar Çizelge 4.37’de görülmektedir.

Hasta grubunda ADE gen ekspresyonu ile AGTR1 gen ekspresyonu arasında ( $p<0,05$ ) pozitif korelasyon bulunmuştur.

Çizelge 4.37. Gliom hastalarında, gen ekspresyonları arasındaki korelasyonlar

	ADE Gen Eks.	VEGF Gen Eks.	AGTR1 Gen Eks.
<b>ADE Gen Eks.</b>	1,000 0,000	-0,004 0,967	0,216* 0,035
<b>VEGF Gen Eks.</b>	-0,004 0,967	1,000 0,000	0,095 0,356
<b>AGTR1 Gen Eks.</b>	0,216* 0,035	0,095 0,356	1,000 0,000

ADE Gen Eks. : ADE Gen Ekspresyonu, AGTR1 Gen Eks. : AGTR1 Gen Ekspresyonu, VEGF Gen Eks. : VEGF Gen Ekspresyonu

Sağlıklı kontrollerde ölçülen serum parametreleri arasındaki korelasyonlar Çizelge 4.38’de görülmektedir. Kontrol grubunda serum ADE düzeyleri ile serum VEGF düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) ve serum ADE düzeyleri ile serum NO düzeyleri arasında ( $p<0,05$ ) pozitif korelasyonlar bulunmuştur.

Kontrol grubunda serum VEGF düzeyleri ile serum eNOS düzeyleri arasında ( $p<0,01$ ) pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

Çizelge 4.38. Kontrol grubunda, serum ölçümleri arasındaki korelasyonlar

	sADE	sVEGF	sET-1	seNOS	sNO
<b>sADE</b>	1,000 0,000	0,198* 0,044	-0,077 0,434	0,099 0,317	0,208* 0,034
<b>sVEGF</b>	0,198* 0,044	1,000 0,000	0,082 0,408	0,410** 0,000	0,075 0,451
<b>sET-1</b>	-0,077 0,434	0,082 0,408	1,000 0,000	0,190 0,053	-0,059 0,553
<b>seNOS</b>	0,099 0,317	0,410** 0,000	0,190 0,053	1,000 0,000	0,182 0,064
<b>sNO</b>	0,208* 0,034	0,075 0,451	-0,059 0,553	0,182 0,064	1,000 0,000

s: Serum

## 5. TARTIŞMA

Primer beyin tümörleri kanser kaynaklı ölümlerin % 2,4'ünü oluşturmaktadır. Gliomlar primer beyin tümörleri içerisinde hem en yüksek yüzdeye sahip hem de en hızlı seyir gösteren ölümcül tümörlerdir (Collins, 2004). MSS'nin glia hücrelerinden köken alan gliomların tedavi seçenekleri arasında cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiyi içeren palyatif tedavi bulunmaktadır. İleri evre glial tümörler oldukça agresif olup, hastaların sağkalım süresi çok kısadır. Gliom tanısı konulduğu andan itibaren medyan sağkalım genellikle bir yıldan azdır ve en iyi şartlarda bile hastaların sadece % 5-10'u 2 yıla kadar yaşamaktadır (Buckner, 2003; DeAngelis, 2001). Erken evre gliomlar tam bir tedavi seçeneğinin olmaması sebebiyle ilerleyen süreç ile ileri evre gliomlara dönüşmektedirler. Bu sebeple, son yıllarda glial tümörlerin moleküler patogenezi belirlemeye ve bu bilgilerin yeni tedavi metotlarının geliştirilmesinde kullanılmasına yönelik çalışmaların sayısı artmıştır. Güncel bilgiler ışığında, özellikle ileri evreli gliomların anjiyojenik aktivitelerinin yüksek olduğu bilinmekle birlikte bu aktivitede rol oynayan anahtar mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Son yirmi yıldan bu yana moleküler kanser biyolojisi üzerine yapılan araştırmalar ile farklı evrelerdeki ve histolojik tiplerdeki gliomlarda çok sayıda moleküler değişim keşfedilmiştir. Vasküler endotelial hücreler tarafından sentezlenen ADE'nin tümör hücre proliferasyonu, hücre adezyonu, migrasyon, anjiyojenez ve metastazda önemli bir role sahip olduğu ve bu rolü VEGF üretimi yoluyla yaptığı bildirilmektedir (Wang ve diğerleri, 2012). Bu sebeple ADE geni biyolojik fonksiyonları ve VEGF üretimine etkisi ile anjiyojenik aktivitesi yüksek olan gliom için aday genler arasında değerlendirilebilir.

Lian ve diğerlerinin Çin'de 800 gliom hasta ve 800 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışma, ADE I/D polimorfizmi ile gliom arasındaki potansiyel ilişkiyi değerlendiren epidemiyolojik bir çalışmadır. Hasta grubunu 285 astrositom, 264 glioblastom ve 251 diğer gliomlar oluşturmuştur. Bu olguların 68'i evre I gliom, 249'u evre II gliom, 161'i evre III gliom ve 322'si de evre IV gliomdur. Genotip dağılımları açısından incelendiğinde, hasta grubunda DD genotipi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Tümör evresi bakımından, evre IV gliomlarda, diğer evre gliomlara göre belirgin bir şekilde yüksek DD genotip sıklığı bulunduğu bildirilmiştir. Ancak gliom

histolojisine göre genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (Lian ve diğerleri, 2015).

Pandith ve diğerleri farklı patolojilere sahip 112 malign gliom hastası ve herhangi bir tümör veya hastalık içermeyen 141 sağlıklı kontrolden oluşan popülasyona dayalı bir vaka kontrol çalışması yapmıştır. Gliom grubunu 55 glioblastom, 29 astrositom, 23 oligodendrogliom ve 5 diğer glial tümör vakaları oluşturmuştur. Evre sınıflandırmasına göre 22 kişi erken evreli, 90 kişi ise ileri evreli tümör olarak kaydedilmiştir. Yapılan çalışma ile ADE I/D polimorfizminin malignant gliom riski ile kuvvetli derecede ilişkili olduğu öne sürülmüştür. DD genotipi taşıyan gliom hastalarının DD genotipi taşıyan kontrollere göre daha fazla sayıda olduğu ve DD genotipine sahip hastaların DD genotipli kontrollerden daha yüksek serum ADE konsantrasyonuna sahip oldukları görülmüştür. ADE I/D polimorfizminin gliom sağkalım ile ilişkisi değerlendirildiğinde, DD genotipinin II genotipine göre düşük sağkalım oranıyla ilişkili olduğu, DD genotipinin gliom hastaları genel sağkalımı için önemli bir biyobelirteç olabileceği bildirilmiştir (Pandith, Qasim, Zahoor, Shah ve Bhat, 2018).

Literatürde, akciğer kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser, gastrik kanser ve Multipl Myeloma (MM) gibi kanser türlerinde ADE I/D polimorfizmi ile kanser patojenezi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalarda ADE I/D polimorfizmi ile kanser arasındaki ilişki bakımından çelişkili sonuçlar bildirilmektedir.

Zmorzynski ve diğerlerinin yeni teşhis edilmiş 98 MM hastası ve 100 sağlıklı birey ile yaptıkları çalışmada, ADE I/D polimorfizminin MM gelişimi ve MM riski üzerindeki olası etkisi değerlendirilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında alel frekansları açısından anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Her iki grupta D aleli sıklığının I aleline göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, ADE I/D polimorfizmi ile MM riski genotip dağılımı yönünden değerlendirildiğinde, DD genotipinin ID ve II genotiplerine göre daha yüksek MM riski gösterdiği bulunmuştur (Zmorzynski ve diğerleri, 2019).

Çin popülasyonunda 146 kolorektal kanser (CRC) ve 106 sağlıklı kontrol ile yapılan diğer bir çalışmada, ADE I/D polimorfizminin CRC riski ve CRC'deki lenf nodu metastazı ile ilişkisi incelenmiştir. CRC hastalarında, ID ve DD genotiplerinin sağlıklı kontrollere

kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte sadece DD genotipi ve D aleli CRC riski ile anlamlı bulunmuştur. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan grupların genotip dağılımları ve alel frekansları incelendiğinde, DD genotipi ve D alelinin CRC hastalarında lenf nodu metastazı riskini de arttırdığı bildirilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2017).

Yapıjakis ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, BCC tanısı konmuş 92 hasta ve 103 sağlıklı kontrolde ADE gen polimorfizmi incelenmiştir. Hasta grubundaki genotip dağılımı, II 4 kişi (% 4,35), ID 21 kişi (% 22,82) ve DD 67 kişi (% 72,83) şeklinde iken; kontrol grubunda 9 kişi (% 8,74) II, 46 kişi (% 44,66) ID ve 48 kişi (% 46,60) DD genotipi şeklindedir. ID heterozigotlar ile karşılaştırıldığında DD homozigotlarda 3,06 kat artan BCC riski bulunmuştur. Araştırmacılar düşük ADE ekspresyonu ile ilişkilendirdikleri I alelini taşıyan kişilerin BCC'ye yakalanma riskinin 3,01 kat daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (Yapıjakis ve diğerleri, 2013).

Cheng ve diğerleri tarafından yapılan, PubMed, EMBase, Çin Biyomedikal Veritabanı ve Wanfang veritabanı incelenerek toplam 1612 akciğer kanseri hasta ve 1442 kontrolün bulunduğu 8 araştırmanın yer verildiği meta analiz çalışmasında, ADE I/D polimorfizmi ile akciğer kanseri arasındaki ilişki araştırılmış, ADE I/D polimorfizmi ile akciğer kanseri arasında genotip dağılımı ve alel frekansları açısından herhangi bir ilişki bulunmamıştır (Cheng, Ma, Tan, Zhang ve Tan, 2015).

Cheng ve diğerlerinin çalışmasına benzer bir şekilde, japon popülasyonunda 583 mide kanseri hastası ve 1742 kontrol bireyin katılımıyla gerçekleştirilen çalışmada, ADE I/D polimorfizmi ile mide kanseri riski arasında bir ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir (Hibi ve diğerleri, 2011).

Çalışmamızda hasta grubunda D homozigotların oranı % 37,5 iken, I homozigotların oranı % 19,8 ve ID heterozigotların oranı % 42,7'dir. ADE I/D genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). En sık görülen genotip ID ve en az görülen genotip II olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda, ADE I/D genotipinin dağılımı değerlendirildiğinde, D homozigotların oranı % 33,6 iken, I homozigotların oranı % 18,3 ve ID heterozigotların oranı % 48,1'dir. Sağlıklı Türk popülasyonunda, 138 kişide ADE I/D polimorfizminin dağılımına dair

yapılan bir çalışmada, 52 kişide (% 37,7) DD genotipi, 65 kişide (% 47,1) ID genotipi ve 21 kişide (% 15,2) II genotipi saptanmıştır. D ve I alel sıklıkları da sırasıyla % 61,2 ve % 38,8 olarak bulunmuştur (Araz ve diğerleri, 2001). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, Araz ve diğerlerinin Türk popülasyonunda yaptığı çalışma ile, genotip dağılımları ve alel frekansları açısından uyumludur. Gliom riskinin DD genotipinde ID genotipine göre 1,25 kat daha fazla olduğu, fakat anlamlılık taşımadığı bulunmuştur. ADE I/D genotipindeki bu farklı dağılımın gen-gen, gen-çevre etkileşimleri veya çalışma grubunu oluşturan popülasyon farkıyla olabileceği düşünülmektedir.

Anjiyotensin II AGTR1 reseptör gen polimorfizminin, çeşitli kanserlerin oluşumu ve metastazı ile ilgili olduğu bildirilmektedir. Koh ve diğerlerinin, AGTR1 aracılığıyla anjiyotensin II'nin meme karsinogenezindeki önemini araştırmaya yönelik gerçekleştirdikleri çalışmaya 258 meme kanserli ve 670 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Araştırma neticesinde AGTR1 -168A/G, -535C/T ve -825T/A gen polimorfizmleri için sırasıyla GG veya GA, TT veya CT ve AA veya AT genotiplerine sahip kadınların, homozigot AA, CC veya TT genotiplerine kıyasla daha düşük meme kanseri riskine sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Meme kanseri için yüksek riskli genotiplerin homozigot AA, CC ve TT olduğunu bildirmişlerdir (Koh, Yuan, Van Den Berg, Lee ve Yu, 2005).

Correa-Noronha's ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, AGTR1 -168A/G polimorfizmi için çalışmaya dahil edilen 516 meme kanserli hastada AA, AG ve GG genotipleri için elde edilen genotip dağılımları hasta grubunda, % 63, % 30 ve % 7, kontrol grubunda, % 64, % 32 ve % 4 şeklinde bildirilmiştir. AGTR1 -825T/A polimorfizmi için çalışmaya dahil edilen 562 kişide TT, TA ve AA genotipleri için elde edilen genotip dağılımları hasta grubunda, % 62, % 33 ve % 5, kontrol grubunda, % 59, % 33 ve % 8 şeklinde bildirilmiştir. Correa-Noronha's ve diğerleri Brezilya popülasyonunda AGTR1 -168A/G ve -825T/A polimorfizmlerinin meme kanseri ile ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır. (Silvana A Alves Correa-Noronha, 2011).

PubMed, ISI web of science ve Embase gibi literatür veritabanlarının sırasıyla 1950-2010, 1975-2010 ve 1966-2010 yılları arası araştırıldığı Xi ve diğerleri tarafından 2011 yılında gerçekleştirilen bir meta analiz çalışması ile ADE I/D ve ADE 240A/T, AGTR1 1166A/C ve anjiyotensinojen 235M/T polimorfizmlerinin meme kanseri riski ile olası ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, ADE I/D polimorfizmi için 1 650 hasta ve 9 283 kontrol,

ADE 240A/T polimorfizmi için 1 316 hasta ve 2 632 kontrol, AGTR1 1166A/C polimorfizmi için 235 hasta ve 601 kontrol ve anjiyotensinojen 235M/T polimorfizmi için 273 hasta ve 3 547 kontrol değerlendirmeye alınmıştır. ADE I/D ve ADE 240A/T polimorfizmleri ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken anjiyotensinojen 235M/T polimorfizmi ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. AGTR1 1166A/C polimorfizmi için, CC homozigotunun Kafkaslarda meme kanseri gelişiminde koruyucu bir faktör olduğu ileri sürülmüştür ve AGTR1 polimorfizminin meme kanseri patojeneziyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Xi ve diğerleri, 2011).

Qiyang ve diğerleri, Çin popülasyonunda adenomlu 148 hasta ve 192 kontrol bireyden oluşan çalışma grubu ile AGTR1 geni 573T/C, 1166A/C ve AGTR2 geni 1675G/A ve 2274G/A genotip dağılımlarını değerlendirmişlerdir. AGTR2 geni 2274G/A bölgesindeki homozigot AA genotipine ve heterozigot GA genotipine sahip bireylerin GG genotipini taşıyanlara kıyasla sırasıyla 2,66 ve 1,67 kat adenom riskine sahip oldukları bulunmuştur. AGTR2 geni 2274G/A bölgesinde yer alan SNP'nin adenom riski ile ilişkili olduğu ve genetik bir belirteç olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Ouyang J, 2011)

2013 yılında Namazi ve diğerleri tarafından 110 meme kanseri hasta ile yapılan çalışmada, İran'daki meme kanseri sağkalımı üzerine ADE I/D ve AGTR1 1166A/C polimorfizmlerinin etkileri araştırılmıştır. ADE I/D polimorfizminin 3 yıl sonunda ölümle sonuçlanan hastalığın seyrinde önemli derecede etkili olduğu, ancak AGTR1 1166A/C polimorfizminin böyle bir etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca total sağkalımda, ADE I/D ve AGTR1 polimorfizmleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmadığı belirtilmiştir (Namazi ve diğerleri, 2013).

AGTR1 genine ait seçilen bölgeleri içeren polimorfizmler gliom riski ile ilk defa bu çalışmada değerlendirilmiştir. Çalışmamızda AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T ve -825T/A bölgelerine ait polimorfizmler çalışılmıştır. AGTR1 -168A/G genotip dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda AA homozigotların oranı % 46,88 iken, GG homozigotların oranı % 8,33 ve AG heterozigotların oranı % 44,79'dur. Kontrol grubunda AA homozigotların oranı % 69,23 iken, GG homozigotların oranı % 1,92 ve AG heterozigotların oranı % 28,85'dir. AGTR1 -535C/T genotip dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda CC homozigotların oranı % 26,04 iken, TT



homozigotların oranı % 17,71 ve CT heterozigotların oranı % 56,25'tir. Kontrol grubunda CC homozigotların oranı % 32,69 iken, TT homozigotların oranı % 15,39 ve CT heterozigotların oranı % 51,92'dir. AGTR1 -825T/A alel dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda T aleli % 93,75, A aleli ise % 6,25, kontrol grubunda ise T aleli oranı % 96,15, A aleli % 3,85 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, AGTR1 -168A/G gen bölgesi ile ilgili daha önce yapılan Koh ve diğerlerinin bulduğu sonucun aksine, AA genotipi düşük gliom riski ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. G aleline sahip bireylerin gliom riski, A aleline sahip bireylere göre 2,27 kat artmıştır. AGTR1 -535C/T gen bölgesine ait yapılan değerlendirmede, genotip dağılımı ve alel frekansları açısından gliom grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır. AGTR1 -825T/A gen bölgesine ait yapılan değerlendirme Correa-Noronha's ve diğerlerinin yaptığı çalışma ile uyumlu bir sonuç vermiş ve alel frekansları açısından gliom grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Delforce ve diğerleri, kanserli ve komşu kanserli olmayan endometriyumda RAS bileşenlerinin mRNA ve protein ekspresyonlarını araştırmışlardır. AGTR1 ve ADE ekspresyonlarının, kanserli olmayan bitişik dokularla karşılaştırıldığında tümör dokusunda önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. RAS'ın proanjyogenik ve proliferatif kolunun ana unsurları olan AGTR1 ve ADE'nin artan ekspresyonu, endometrial kanser gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Delforce ve diğerleri, 2017).

Arrieta ve diğerleri yaptıkları çalışma ile, meme kanserinde hücre proliferasyonu ve anjiyogenez ile anjiyotensin II AGTR1 ve AGTR2 reseptörleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Benign meme dokusuna kıyasla malign meme dokusunda AGTR1 reseptörünün, hem mRNA hem de protein ekspresyonunun artış gösterdiği, ancak AGTR2 reseptöründe anlamlı bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. AGTR1 reseptör ekspresyonundaki artış, anjiyogenez ve hücre proliferasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Arrieta ve diğerleri, 2015).

Delforce ve diğerleri ve Arrieta ve diğerleri tarafından endometrial kanser ve meme kanserinde yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak, AGTR1 gen ekspresyonunun gliomda ilk defa belirlendiği çalışmamızda gliom grubunun göreceli AGTR1 gen ekspresyonu kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. AGTR1 polimorfizminin çeşitli tümörlerde tümör

patojenezi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu sebeple, AGTR1 gen ekspresyonundaki artışın AGTR1 -168A/G polimorfizminden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

VEGF'nin çeşitli polimorfizmlerinin kanser gelişimine katkıda bulunabileceğini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Veganzones ve diğerlerinin VEGF ve IDH1 genlerindeki genetik değişimlerin genel sağkalım üzerindeki etkisini inceledikleri çalışma, 73 primer beyin tümörü ve erken evre gliomlardan gelişen 7 sekonder beyin tümörü hasta ile gerçekleştirilmiştir. VEGF geni +936C/T polimorfizminde 16 hastada (% 20) T aleli olduğu saptanmıştır. Primer beyin tümöründe T alelinin daha yaygın görüldüğü, ancak VEGF +936C/T polimorfizmi ile primer veya sekonder beyin tümör genel sağkalımı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (Veganzones ve diğerleri, 2017).

Zhang ve diğerlerinin, Çin popülasyonunda 477 gliom hastası ve 477 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada VEGF geni +936C/T, -634G/C, +674C/T, +9627T/C, +10555C/T, +534C/T, +17635G/C ve +18407C/T, KDR geni, +31A/G, -679G/A, +1192G/A, +1719A/T ve -92A/G bölgelerindeki polimorfizmlerin gliom riski ile ilişkisini araştırmışlardır. VEGF geni +674C/T, +9627T/C, +10555C/T, +534C/T, +17635G/C ve +18407C/T, KDR geni -679G/A ve -92A/G polimorfizmleri ile gliom riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, VEGF -634G/C polimorfizminde CC genotipine sahip kişilerin, GG genotipine sahip olanlara göre 1,58 kat daha yüksek glioma riski taşıdıkları görülmüştür. Araştırmacılar VEGF +936C/T polimorfizmi genotip ve alellerinin hasta ve kontrol grupları arasında farklı dağılım gösterdiğini öne sürmüşler ve TT genotipine sahip kişilerin CC genotipi taşıyanlara göre gliom gelişme olasılığının 3,13 kat daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır (Zhang ve diğerleri, 2016).

2013 yılında Çin popülasyonunda gerçekleştirilen bir çalışmada, VEGF genine ait VEGF -634G/C, +936C/T ve +1612G/A polimorfizmleri incelenmiş ve VEGF -634G/C ve +936C/T gen polimorfizmlerinin meme kanseri riski ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Çalışma ile +936 gen bölgesinde, TT genotipinin hastalığa karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Fakat, VEGF +1612 gen bölgesinde GA genotipinin meme kanseri riski ve -634 gen bölgesinde CC genotipinin tümör agresifliği ve yüksek histolojik derece ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Luo ve diğerleri, 2013).

218 hasta ve 204 kontrolden oluşan çalışma grubu ile, Ben Wafi ve diğerleri Tunus popülasyonunda yapılan çalışmada, VEGF geni +936C/T ve -2578C/A polimorfizmleri ile ürotelyal mesane kanseri (UBC) riski arasındaki ilişki incelenmiştir. VEGF -2578C/A polimorfizmi ile UBC riski arasında anlamlı bir ilişki bulunurken, VEGF +936C/T polimorfizmi ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Aynı çalışmada Ben Wafi ve diğerleri, AA genotipinin azalmış UBC riski ile ilişkili olduğunu ve UBC için koruyucu genotip olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, AA genotipinin koruyucu rolünün, GATA-2 bağlama bölgesinin oluşumunu engellemek suretiyle, transkripsiyonel aktiviteyi azalttığı, böylece VEGF protein seviyelerini düşürdüğü ve tümör gelişiminin inhibisyonunu sağladığını belirtmişlerdir (Ben Wafi ve diğerleri, 2018).

Zhang ve diğerleri, Çinli kadınlarda ovaryum kanseri gelişim riski ile VEGF -460T/C, +936C/T ve -2578C/A polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Araştırmacılar 163 hasta ve 276 kontrol ile oluşturulan çalışma grubunda, ovaryum kanseri gelişim riski ile VEGF -460T/C ve +936C/T polimorfizmleri arasında anlamlı bir farklılık görülmediğini belirtmişlerdir. VEGF -2578 gen bölgesinde CA ve AA genotiplerini taşıyan kişilerde, CC genotipine sahip kişilere kıyasla sırasıyla 1,92 ve 3,70 kat artan ovaryum kanseri riski olduğunu bildirmişlerdir. A aleline sahip bireylerin, C aleli taşıyanlara kıyasla 2,03 kat artmış risk taşıdığını ve VEGF -2578C/A polimorfizminin Çin popülasyonunda ovaryum kanseri gelişimi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (Zhang, 2016b).

Kapahi ve diğerleri, 192 sporadik meme kanseri hastası ve 192 sağlıklı kontrolden oluşan çalışma grubunda VEGF +405C/G ve VEGF +936C/T polimorfizmleri genotip dağılımlarını ve alel frekanslarını belirlemişler ve bu polimorfizmlerin meme kanseri riski üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. VEGF +405C/G polimorfizminde hasta grubunda artan GG genotip dağılımı olduğu ve bu genotipi taşıyanların 3,07 kat artmış meme kanseri riski ile karşı karşıya olduklarını bildirmişlerdir. VEGF +936C/T polimorfizminde, CT genotipinde artmış meme kanseri riski bulunmuştur (Kapahi ve diğerleri, 2014).

Brito ve diğerleri (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, VEGF -2578 C/C, VEGF -2578 C/C ile VEGF -634 G/G, ve VEGF -2578 C/C ile VEGF -1154 G/G ve VEGF -634 G/G genotiplerini taşıyan hastaların, sağlıklı kontrollere göre sırasıyla 1,89, 5,52, ve 4,91

kat artmış multiple myeloma riski taşıdıkları oldukları bildirilmiştir (Brito ve diğerleri, 2014).

Çalışmamızda VEGF +936C/T genotip dağılımı değerlendirildiğinde, hasta grubunda CC genotip oranı % 70,83 TT genotip oranı % 2,08 ve CT genotip oranı % 27,09'dur. Kontrol grubunda CC genotip oranı % 99,04 CT genotip oranı % 0,96'dır. VEGF +936C/T polimorfizmi için, genotip dağılımı bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. VEGF -2578C/A polimorfizmi ile gliom riski arasındaki ilişki ilk defa bu çalışma ile değerlendirilmiştir. VEGF -2578C/A genotip dağılımı hasta grubunda AA genotiplerin oranı % 18,75 CC genotiplerin oranı % 30,21 ve CA genotiplerin oranı % 51,04'dür. Kontrol grubunda AA genotiplerin oranı % 21,15 iken, CC genotiplerin oranı % 36,54 ve CA genotiplerin oranı % 42,31'dir. VEGF -2578C/A genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır.

Gliomda serum ADE düzeylerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Serum ADE düzeylerinin çeşitli kanser türlerinde arttığını veya azaldığını gösteren çelişkili çalışmalar bulunmaktadır. Tanısı yeni konmuş 41 epitelyal over kanserli hasta ve 19 sağlıklı kontrolün serum ADE düzeylerinin değerlendirildiği Beyazit ve diğerlerinin yaptığı çalışmada kontrollere göre hasta grubunun serum ADE düzeyleri yüksek bulunmuştur. (Beyazit, Ayhan, Celik ve Gungor, 2015). Beyazit ve diğerlerinin sonuçları ile uyumlu olarak, Albayrak ve diğerlerinin 25 MM hastası ve 20 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada, serum ADE düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre MM hastalarında yüksek bulunmuştur. MM hastaları Uluslararası Evreleme Sistemi sınıflamasına göre Evre I, Evre II ve Evre III olarak gruplandırıldığında ADE düzeylerine göre bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Albayrak ve diğerleri, 2012).

Rømer ve Emmertsen'in Hodgkin's lenfoma, non-Hodgkin lenfoma, akut lösemi, kronik lösemi ve MM'den oluşan 96 hasta ve 116 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada hasta grubunun serum ADE düzeyleri sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulunmuştur (Rømer ve Emmertsen, 1980). Hasta grubunda en düşük ADE düzeyleri kronik lösemi ve MM gruplarında gözlenirken serum ADE düzeyleri bakımından akut ve kronik lösemi veya miyeloid ve lenfoid kökenli lösemiler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Rømer ve Emmertsen, 1980). Rømer, yeni primer akciğer kanseri tanısı almış 141 hasta ve 116

sağlıklı kontrol ile yaptığı bir diğer çalışmada serum ADE düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmiştir. Düşük serum ADE düzeylerinin akciğer kanserinde kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ve preoperatif serum ADE ölçümünün yararlı bir prognostik gösterge olabileceği sonucuna varmıştır (Rømer, 1981). Akciğer kanserinde görülen düşük ADE serum düzeyleri, Mansfield, Kimler, Henderson, Vats ve Svoboda (1984) tarafından yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir.

Çalışmamızda, gliom hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında serum ADE düzeyleri yönünden yapılan karşılaştırmada gliom grubunun serum ADE düzeyleri sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu artışın ADE gen ekspresyonundaki artış sebebiyle olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar Beyazit ve diğerlerinin ve Albayrak ve diğerlerinin çalışmaları ile uyumludur.

Fahim ve diğerleri, 2018 yılında yaptığı çalışmada, T lenfositlerin foliküler antijenlerle etkileşimi ile karakterize olan immün bağımlı bir hastalık Alopesi areata'da doku ADE düzeylerini incelenmişlerdir. 25 Alopesi areata ve 24 kontrolden oluşturulmuştur. Doku ADE aktivitesi, epidermis ve foliküler epitel gibi derinin tüm bölümlerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Fahim ve diğerleri, 2018).

Procházka ve diğerleri yaptıkları çalışmada sağlıklı akciğer dokusuna kıyasla primer insan akciğer tümör dokusunun ADE düzeylerinde bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Tümör dokusu ADE düzeylerindeki bu azalmanın, tümörün gelişimi ile bağlantılı olarak ADE için birincil kaynak olan pulmoner epitel hücrelerinin azalmasından dolayı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Procházka, Krepela, Sedo, Viklický ve Fiala, 1991).

Çalışmamızda tümör dokusu ADE düzeyleri, sağlıklı doku ADE düzeylerine göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, Fahim ve diğerlerinin ve Procházka ve diğerlerinin yaptıkları çalışmalar ile uyumlu görünmektedir. ADE gen ekspresyonunun ve serum ADE düzeylerinin hasta grubunda yüksek olmasına rağmen tümör dokusunda sağlıklı dokuya kıyasla düşük çıkmasının ADE'nin dokuda hücre reseptörlerine veya hücre dışı matrikse hızlı bir şekilde bağlanması neticesinde dokudan uzaklaştırılması sebebiyle olabileceği düşünülmektedir.

Han ve Ge tarafından 106 larenks kanserli hasta ve 85 sağlıklı kişi ile yapılan bir çalışmada farklı ADE gen ekspresyonu olan hastaların genel sağkalımı değerlendirilmiştir. ADE geninin larenks kanserinde aşırı eksprese edildiği ve artan ekspresyonun hücre proliferasyonunu desteklediği bildirilmiştir. Aynı zamanda, ADE ekspresyonunun, tümör evresinden ve lenf nodu metastazından önemli ölçüde etkilendiği bulunmuştur. Yüksek ADE ekspresyonu gösteren hastaların genel sağkalımlarının, düşük ADE ekspresyonu gösterenlere kıyasla daha kısa bulunması sebebiyle, ADE gen ekspresyonunu kötü prognoz ile ilişkilendirmişlerdir (Han ve Ge, 2016).

Çalışmamızda gliom hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında yapılan değerlendirmede, ADE gen ekspresyonu hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu bulgu ADE geninin tümör hücre proliferasyonu ve anjiyojenezde önemli bir role sahip olduğu fikrini desteklemektedir. Elde edilen sonuçlar Han ve Ge'nin ADE gen ekspresyonu sonuçları ile uyumlu görünmektedir.

Erken evre gliom, ileri evre gliom, menenjiyom, metastatik tümör ve diğer MSS tümörlü 48 hasta ve 50 sağlıklı kontrolden oluşan Nowacka ve diğerlerinin yaptığı çalışmada serum VEGF konsantrasyonları ölçülmüştür. Cerrahi operasyon öncesinde ve sonrasında MSS tümörlü hastaların serum VEGF konsantrasyonları kontrollere kıyasla daha yüksek olmakla birlikte anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. En yüksek serum VEGF konsantrasyonu erken evre glial tümörlü hastalarda iken, ileri evre glial tümörlü hastalarda ve menenjiyomlu hastalarda birbirine yakın, fakat erken evre glial tümörlü hastalara göre düşük bulunmuştur. İntrakraniyal tümörlerde daha yüksek konsantrasyonda serum VEGF düzeyi gözlenmesi, tümör içerisindeki aktif anjiyojenez ile ilişkilendirilmiş, ancak serum VEGF düzeyi ile malignite ve intrakraniyal tümörün histolojik tipi arasında bir bağlantı bulunmamıştır (Nowacka, Smuczyński, Rośc, Woźniak-Dąbrowska ve Śniegocki, 2018).

Chiorean ve diğerlerinin yaptığı çalışmada, kontrollerde ve glioblastom tanısı almış hastalarda cerrahi operasyon öncesinde anjiyojenez ve inflamasyon yolakları ile ilişkili VEGF, PDGF, IGF-1, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-8 parametrelerinin ölçümleri yapılmıştır. Çalışmaya gliom tanısı konmuş 14 hasta ve 32 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Serum VEGF, PDGF, IGF-1 ve IL-8 düzeyleri glioblastom hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Serum VEGF düzeyleri ile

glioblastom sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Chiorean ve diğerleri, 2014).

Rafat ve diğerleri tarafından 22 beyin tümörlü hasta ve 10 sağlıklı gönüllü ile yapılan çalışmada serum VEGF düzeyleri değerlendirilmiştir. Cerrahi operasyon öncesinde ölçülen serum VEGF düzeyleri hem glioblastom olgularında hem de metastatik tümör olgularında kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Rafat, Beck, Schulte, Tuettenberg ve Vajkoczy, 2010).

Çalışmamızda serum VEGF düzeyleri gliom hastalarında sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Bu artışın VEGF gen ekspresyonundaki artış sebebiyle olduğu düşünülmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar, Nowacka ve diğerlerinin, Chiorean ve diğerlerinin ve Rafat ve diğerlerinin yaptıkları çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

60 gliom hastası ve 30 kontrol ile yapılan bir çalışmada, hasta grubunun operasyon öncesi serum VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Cerrahi operasyon sonunda tekrar ölçülen serum VEGF düzeyleri, operasyon öncesi ölçülen serum VEGF düzeylerine göre önemli ölçüde azalmıştır. Yang ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada tümör dokusu ve komşu normal dokudaki VEGF ekspresyonları incelenmiştir. Komşu normal dokulardaki VEGF ekspresyonunun, kontrol VEGF ekspresyonundan anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. VEGF'nin ekspresyon düzeyinin, histolojik glioma tipi, malignite, metastaz ve genel sağkalım ile ilişkili olduğu ve gliom gelişiminde kilit bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Yang, Zhao ve Zhong, 2017).

Glioblastom, anaplastik astrositom, tekrarlayan anaplastik astrositom, erken evre astrositom, menenjiyom, malignant lenfoma ve metastatik tümörden oluşan toplam 19 kişilik hasta grubu ve 10 sağlıklı kontrol ile Takano ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada serum ve doku VEGF düzeyleri ölçülmüştür. Glioblastomlarda tümör dokusu VEGF düzeyleri, normal beyin dokusu yanı sıra diğer tümörler ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ancak serum VEGF düzeyleri açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Takano ve diğerleri, 1996).

Li ve diğerleri tarafından 20 gliom ve 5 kişilik kontrol grubu ile gerçekleştirilen çalışmada VEGF ve sinir büyüme faktörü (NGF) ekspresyonları değerlendirilmiştir. VEGF ve

NGF'nin ekspresyon seviyelerinin normal kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. VEGF ve NGF'nin gliom malignitesi ile ilişkili olduğu ve gliom tümörjenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Li, Yan ve Yu, 2009).

Samoto ve diğerleri, 17 gliom ve 16 menenjiyom olmak üzere 33 beyin tümörü dokusunda VEGF, TGF- $\alpha$ , TGF $\beta$  ve bFGF gen ekspresyonlarını incelemiştir. VEGF'nin gliom ve menenjiyomlu dokularda farklı düzeylerde eksprese olduğu ve VEGF gen ekspresyonunun gliom ve menenjiyomdaki vaskülarite ile önemli derecede korele olduğu bulunmuştur (Samoto ve diğerleri, 1995).

Berkman ve diğerleri tarafından MSS tümörlerinde VEGF gen ekspresyonunu değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmaya 42 MSS neoplazmı ve 5 epileptik insan beyin dokusu dahil edilmiştir. VEGF gen ekspresyonunun kontroller ile karşılaştırıldığında önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Berkman ve diğerleri, 1993).

Çalışmamızda kontrol ve gliom grubu doku VEGF düzeyleri bakımından sağlıklı doku ve tümör dokusu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Gliom grubunun göreceli VEGF gen ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Gliom hastalarında VEGF ekspresyonundaki artışın serum ve doku VEGF düzeylerindeki artışı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Her ne kadar birkaç çalışma ile ET-1'in karsinogenezdeki rolü gösterilmiş olsa da, gliomda ET-1 tarafından düzenlenen moleküler değişiklikler belirsizliğini korumaktadır. Prostat ve ovaryum kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde artan serum ET-1 ve reseptör düzeyleri tespit edilmiştir.

Kolon kanserli hastalarda serum ET-1 ve VEGF düzeylerini belirlemeye yönelik Abdel-Gawad ve diğerleri tarafından yapılan çalışmaya kolon kanseri olan 48 hasta ve 20 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Hasta grubu serum ET-1 ve VEGF düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, serum ET-1 ve VEGF düzeylerinin, ileri evre ile pozitif korelasyon göstererek anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir (Abdel-Gawad ve diğerleri, 2008).



Yıldırım ve diğerlerinin 75 meme kanseri olan kadın ve 20 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada serum big ET-1 düzeyleri incelenmiş ve meme kanseri için biyobelirteç olabilirliği araştırılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla hasta grubu serum big ET-1 düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yüksek serum big ET-1 düzeylerinin meme kanserli hastalardaki ET-1 aktivasyonunun duyarlı bir göstergesi olduğu sonucuna varılmıştır (Yıldırım ve diğerleri, 2008).

Bir diğer çalışmada, Teng ve diğerleri preoperatif plazma big ET-1 düzeyi ile mide karsinomu prognozu arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışmaya 118 mide kanseri hasta ve 20 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Plazma big ET-1 düzeyleri, ileri evre mide kanseri hastalarında, erken evre mide kanseri hastalarına ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, evre II, III ve IV tümörlerde evre I tümörlere kıyasla daha yüksek plazma big ET-1 düzeyleri ölçülmüştür (Teng, Liu, Zhang, He ve Shen, 2008).

Çalışmamızda serum ET-1 düzeyi hasta grubunda kontrole kıyasla artmakla birlikte anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. ET-1 doku düzeyleri bakımından sağlıklı doku ve tümör dokusu karşılaştırıldığında, tümör dokusu ET-1 düzeylerinin sağlıklı doku ET-1 düzeylerine göre anlamlı derecede artış gösterdiği bulunmuştur.

Mei ve diğerlerinin yaptığı çalışmada akciğer kanserli hücre transfekte edilen farelerin tümör dokusunda eNOS protein ekspresyonu ve plazma NO düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış göstermiştir. Daha sonra tümör taşıyan bu fareler eNOS agonistinin enjeksiyonu ile tedavi edildikten sonra tedavi öncesine göre tümör dokusu eNOS protein ekspresyonu ve plazma NO düzeylerinde anlamlı derecede düşüş gözlenmiştir (Mei ve diğerleri, 2016).

Çalışmamızda gliom grubunun serum/tümör dokusu eNOS düzeyi kontrol/sağlıklı doku grubuna göre yüksek bulunmuştur. Tümör dokusunda görülen yüksek eNOS düzeyleri Mei ve diğerlerinin yaptığı çalışma ile uyumludur. Bu sonuç eNOS'un gliom anjiyojenezi sürecinde aktive olduğu şeklinde yorumlanabilir.

MSS'de nöronlar, endotel hücreleri, mikrogial hücreler ve astroglial hücreler gibi çeşitli hücre tipleri NOS'un farklı izoformları sorumluluğunda NO üretmektedirler. NO beyinde,

hücrel kaynakına, miktarına ve üretim yerine bağı olarak bir nörotransmitter veya nörotoksik bir madde olarak etki edebilmektedir.

46 meme kanseri ve 46 sağılıklı kadından oluşan çalışma grubu ile serum NO ve peroksinitrit düzeylerini değerlendirmek amacıyla Meena ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, meme kanseri hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum NO düzeylerinde anlamlı artış olduğu bildirilmiştir (Meena, Kumar ve Sairoz, 2017).

Skumöz hücreli karsinom (SCC) hastaları için serum NO düzeylerinin biyolojik bir belirteç olup olmadığının değerlendirilmesine yönelik 24 SCC hastası ve 15 sağılıklı kontrol grubunda yapılan çalışma ile serum NO düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur (Ratajczak-Wrona ve diğerleri, 2004).

Oral skumöz hücreli karsinomda Sangle ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada doku NO düzeyleri ölçüldüğünde ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, ileri evre tümörlerde erken evre tümörlere göre daha yüksek doku NO düzeyleri ölçülmüştür (Sangle ve diğerleri, 2018).

Çalışmamızda gliom grubunun serum/tümör dokusu NO düzeyi kontrol/sağılıklı doku grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, Meena ve diğerlerinin, Ratajczak-Wrona ve diğerlerinin, Sangle ve diğerlerinin çalışmaları ile uyumludur.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Ünitesi'ne Aralık 2015-Ekim 2017 tarihleri arasında başvurarak DSÖ evre II, III, IV supratentorial glial tümör tanısı alan ve tedaviye başlanmamış 96 hasta ve 104 sağlıklı birey ile gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonları yapılan örnekler PZR ile amplifiye edildikten sonra, RFLP yöntemiyle hastalarda ve kontrollerde ADE I/D, AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A polimorfizmleri saptanmıştır. Ayrıca hasta ve kontrollerde serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri ile gliom hastalarında tümör dokusu ve sağlıklı doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri ELISA yöntemiyle ve ADE, AGTR1 ve VEGF'nin göreceli gen ekspresyonları GZ-PZR ile ölçülmüştür.

1. Çalışmada ADE I/D polimorfizmi için; hasta grubunda DD genotipi % 37,50, ID genotipi % 42,71, II genotipi % 19,79 sıklığında tespit edilmiştir. Kontrol grubunda DD genotipi % 33,65, ID genotipi % 48,08, II genotipi sıklığı ise % 18,27 olarak tespit edilmiştir.
2. AGTR1 -168A/G polimorfizmi için; hasta grubunda AA genotipi % 46,88, AG genotipi % 44,79, GG genotipi % 8,33, kontrol grubunda ise AA genotipi % 69,23, AG genotipi % 28,85 ve GG genotipi % 1,92 sıklığında tespit edilmiştir.
3. AGTR1 -535C/T polimorfizmi için; hasta grubunda CC genotipi % 26,04, CT genotipi % 56,25, TT genotipi % 17,71 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise CC genotipi % 32,69, CT genotipi % 51,92, TT genotipi % 15,39 olarak tespit edilmiştir.
4. AGTR1 -825T/A polimorfizmi için; hasta grubunda T aleli % 93,75, A aleli % 6,25, kontrol grubunda T aleli % 96,15, A aleli % 3,85 olarak tespit edilmiştir.
5. VEGF +936C/T polimorfizmi için; hasta grubunda CC genotipi % 70,83, CT genotipi % 27,09, TT genotipi % 2,08 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise CC genotipi % 99,04, CT genotipi % 0,96, TT genotipi % 0 olarak tespit edilmiştir.
6. VEGF -2578C/A polimorfizmi için; hasta grubunda AA genotipi % 18,75, CA genotipi % 51,04, CC genotipi % 30,21 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise AA genotipi % 21,15, CA genotipi % 42,31, CC genotipi % 36,54 olarak tespit edilmiştir.

7. Çalışmada AGTR1 -168A/G polimorfizmi için, genotip dağılımı ve alel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (sırasıyla,  $p<0,01$ ,  $p<0,01$ ). AGTR1 -168A/G polimorfizminde AA genotipinde gliom riskinin AG genotipine göre daha düşük olduğu ( $p<0,01$ ); alel frekansı açısından G alelinde gliom riskinin A aleli taşıyanlara göre daha yüksek olduğu ( $p<0,01$ ) bulunmuştur. ADE I/D, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A polimorfizmlerinde genotip ve alel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında benzer dağılım gösterdiği saptanmıştır ( $p>0,05$ ).
8. Gliom hastalarının serum ADE düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek ( $p<0,01$ ) bulunurken; gliom hastalarında tümör dokusu ADE düzeyleri sağlıklı dokuya göre düşük ( $p<0,01$ ) ve göreceli ADE gen ekspresyonları kontrol grubuna göre yüksek ( $p<0,01$ ) bulunmuştur.
9. Göreceli AGTR1 gen ekspresyonları gliom hastalarında kontrol grubuna göre yüksek ( $p<0,05$ ) bulunmuştur.
10. Gliom hastalarının hem serum VEGF düzeyleri hem de göreceli VEGF gen ekspresyonları sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla,  $p<0,01$ ,  $p<0,01$ ). Hasta grubunda tümör dokusu VEGF düzeyleri ile sağlıklı doku VEGF düzeyleri arasında bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
11. Gliom hastalarında tümör dokusu ET-1 düzeyleri sağlıklı dokuya göre yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Serum ET-1 düzeyleri bakımından hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
12. Hasta grubunun serum eNOS düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ( $p<0,01$ ) bulunurken, gliom hastalarında da tümör dokusu eNOS düzeyleri sağlıklı dokuya göre yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ).
13. Hasta grubunun serum NO düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek ( $p<0,01$ ) bulunurken, gliom hastalarında da tümör dokusu NO düzeyleri sağlıklı dokuya göre yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ).
14. Gliom hastalarında tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, Evre VI'deki hastaların serum ADE düzeyleri Evre II'deki hastaların serum ADE düzeylerine göre yüksek bulunurken ( $p<0,01$ ), Evre II'deki hastaların serum eNOS düzeyleri Evre III'deki hastaların eNOS düzeylerine göre düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Gliom hastalarında, serum VEGF, ET-1 ve NO düzeyleri yönünden, tümör evreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

15. Gliom hastalarında, tümör evresine göre yapılan değerlendirmede, Evre VI'deki hastaların doku VEGF düzeyleri Evre II'deki hastaların doku VEGF düzeylerine göre yüksek bulunurken ( $p<0,01$ ), Evre III'deki hastaların doku VEGF düzeyleri Evre VI'deki hastaların doku VEGF düzeylerine göre düşük ( $p<0,01$ ) ve Evre III'deki hastalarda doku VEGF düzeyleri Evre II'deki hastalara göre yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Gliom hastalarında, doku ADE, ET-1, eNOS ve NO düzeyleri yönünden tümör evreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

MSS'nin en yaygın primer tümörü olan gliom kaynaklı mortalitenin azaltılmasında uygulanacak yeni tedavi stratejileri halen önemli bir yer tutmaktadır. Gliom insidansı ve mevcut tedavi yöntemleri göz önünde bulundurulduğunda, tümörün seyri belirlenmesinde, kişisel genetik farklılıkların da dikkate alınmasına olanak sağlayan kişileştirilmiş tedavi yöntemlerini hedefleyen temel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma ile Türk popülasyonunda ADE I/D, AGTR1 -168A/G, AGTR1 -535C/T, AGTR1 -825T/A, VEGF +936C/T ve VEGF -2578C/A gen polimorfizmlerinin, gliom patojenezi ile olası ilişkisinin, anjiyojenez ilişkili serum ADE, VEGF, ET-1, eNOS, NO ve doku ADE, VEGF, ET-1, eNOS ve NO düzeylerindeki ve göreceli ADE, AGTR1 ve VEGF gen ekspresyonlarındaki değişikliklerin belirlenmesiyle tedaviye yönelik temel bilgilere katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda gliomda AGTR1 -168A/G gen bölgesindeki polimorfizmde AA genotipinde gliom riskinin daha düşük, G alelinde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca serum ADE, VEGF, eNOS ve NO düzeylerinde, doku ADE, ET-1, eNOS ve NO düzeylerinde ve göreceli ADE, AGTR1 ve VEGF gen ekspresyonlarında artışlar olmuştur. AGTR1 polimorfizminde G alelinde yüksek tümör riskinin, artan serum ADE düzeyleri ve gen ekspresyonunun bulunması gliom gelişimine ADE ve ADE reseptör polimorfizmi yönüyle ışık tutmaktadır. Anjiyotensin II düzeyleri hem üretimi hem de reseptörleri aracılığıyla düzenlendiği için, ADE inhibitörü veya AGTR1 reseptör antagonisti ilaçların kullanılması gliom hastaları için yeni bir terapötik yaklaşım sağlayabilecektir. Bu alanda yapılacak yeni çalışmalarla konunun desteklenmesi gerektiği düşüncesindeyiz.



## KAYNAKLAR

- Abdel-Gawad, I.A., Hassanein, H.M., Bahgat, N.A., Abdel Sattar, M.A., El-Sissy, A.H., Altaweel, M.A., Helal, A.M. (2008). Study of endothelin-1 and vascular endothelial growth factor in patients with cancer colon. *Journal of Egyptian National Cancer Institute*, 20(3), 216-23.
- Albayrak, M., Celebi, H., Albayrak, A., Sayilir, A., Yesil, Y., Balcik, O.S., Yokus, O., and Celik, T. (2012). Elevated serum angiotensin converting enzyme levels as a reflection of bone marrow renin-angiotensin system activation in multiple myeloma. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 13(2), 259-264.
- Alberts, G.F., Peifley, K.A., Johns, A., Kleha, J.F., and Winkles, J.A. (1994). Constitutive endothelin-1 overexpression promotes smooth muscle cell proliferation via an external autocrine loop. *Journal of Biological Chemistry*, 269(13), 10112-10118.
- Albrecht, E.W., Stegeman, C.A., Heeringa, P., Henning, R.H., and van Goor, H. (2003). Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *Journal of Pathology*, 199(1), 8-17.
- Allen, N., Newton, R., Gonzalez, A.B., Green, J., Banks, E. ve Key, T.J. (2005). The Causes of Cancer. In P.J.S. Margaret A. Knowles (Ed.), *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer*. Cancer Research UK Clinical Center, St James's University Hospital, Leeds: Oxford University Press, pp. 25-43.
- Arai, H., Hori, S., Aramori, I., Ohkubo, H., and Nakanishi, S. (1990). Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature*, 348(6303), 730-732.
- Araz, M., Yilmaz, N., Gungor, K., Okan, V., Kepekci, Y., and Sukru Aynacioglu, A. (2001). Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 54(2), 95-104.
- Arrieta, O., Villarreal-Garza, C., Vizcaíno, G., Pineda, B., Hernández-Pedro, N., Guevara-Salazar, P., Wegman-Ostrosky, T., Villanueva-Rodríguez, G., Gamboa-Domínguez, A. (2015). Association between AGTR1 and AGTR2 angiotensin II receptor expression with cell proliferation and angiogenesis in operable breast cancer. *Tumour Biology*, 36(7), 5627-34.
- Asgharzadeh, F., Hassanian, S.M., Ferns, G.A., Khazaei, M., Hasanzadeh, M. (2018). The Therapeutic Potential of Angiotensin-converting Enzyme and Angiotensin Receptor Inhibitors in the Treatment of Colorectal Cancer: Rational Strategies and Recent Progress. *Current Pharmaceutical Design*, 24(39), 4652-4658. doi: 10.2174/1381612825666190111145140.
- Ausprunk, D.H., and Folkman, J. (1977). Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvascular Research*, 14(1), 53-65.
- Bagnato, A., and Catt, K.J. (1998). Endothelins as autocrine regulators of tumor cell growth. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 9(9), 378-383.



- Bagnato, A., Salani, D., Di Castro, V., Wu-Wong, J.R., Tecce, R., Nicotra, M.R., Venuti, A., and Natali, P.G. (1999). Expression of endothelin 1 and endothelin A receptor in ovarian carcinoma: evidence for an autocrine role in tumor growth. *Cancer Research*, 59(3), 720-727.
- Bale, T.A., Abedalthagafi, M., Bi, W.L., Kang, Y.J., Merrill, P., Dunn, I.F., Dubuc, A., Charbonneau, S.K., Brown, L., Ligon, A.H., Ramkissoon, S.H., and Ligon, K.L. (2016). Genomic characterization of recurrent high-grade astroblastoma. *Cancer Genetics*, 209(7-8), 321-330.
- Battaloğlu E, B.A. (2010). Kompleks Hastalık Genetiği: Güncel Kavramlar ve Nörolojik Hastalıkların Tanısında Kullanılan Genomik Yöntemler. *Klinik Gelişim*, 128-133.
- Baudin, B. (2002). New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(3), 256-265.
- Baudin, B., Berard, M., Carrier, J.L., Legrand, Y., and Drouet, L. (1997). Vascular origin determines angiotensin I-converting enzyme expression in endothelial cells. *Endothelium*, 5(1), 73-84.
- Beijersbergen, R.L., and Bernards, R. (1996). Cell cycle regulation by the retinoblastoma family of growth inhibitory proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1287(2-3), 103-120.
- Ben Wafi, S., Kallel, A., Ben Fradj, M.K., Sallemi, A., Ben Rhouma, S., Ben Halima, M., Sanhaji, H., Nouria, Y., Jemaa, R., and Feki, M. (2018). Haplotype-based association of Vascular Endothelial Growth Factor gene polymorphisms with urothelial bladder cancer risk in Tunisian population. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 32(9), e22610, 1-7.
- Berkman, R.A., Merrill, M.J., Reinhold, W.C., Monacci, W.T., Saxena, A., Clark, W.C., Robertson, J.T., Ali, I.U., Oldfield, E.H. (1993). Expression of the vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor gene in central nervous system neoplasms. *The Journal of Clinical Investigation*, 91(1), 153-9.
- Beyazit, F., Ayhan, S., Celik, H.T., and Gungor, T. (2015). Assessment of serum angiotensin-converting enzyme in patients with epithelial ovarian cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 292(2), 415-420.
- Biernat, W., Kleihues, P., Yonekawa, Y., and Ohgaki, H. (1997). Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 56(2), 180-185.
- Bigner, S.H., and Vogelstein, B. (1990). Cytogenetics and molecular genetics of malignant gliomas and medulloblastoma. *Brain Pathology*, 1(1), 12-18.
- Blackburn, D., Sargsyan, S., Monk, P.N., and Shaw, P.J. (2009). Astrocyte function and role in motor neuron disease: a future therapeutic target? *Glia*, 57(12), 1251-1264.
- Blaser, S.I., and Jay, V. (2002). Disorders of cortical formation: radiologic-pathologic correlation. *Neurosurgery Clinics of North America*, 13(1), 41-62.

- Blumenthal, D.T., and Schulman, S.F. (2005). Survival outcomes in glioblastoma multiforme, including the impact of adjuvant chemotherapy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 5(5), 683-690.
- Bobik, A., Grooms, A., Millar, J.A., Mitchell, A., and Grinpukel, S. (1990). Growth factor activity of endothelin on vascular smooth muscle. *American Journal of Physiology*, 258(3 Pt 1), C408-415.
- Bonnardeaux, A., Davies, E., Jeunemaitre, X., Fery, I., Charru, A., Clauser, E., Tiret, L., Cambien, F., Corvol, P., and Soubrier, F. (1994). Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension*, 24(1), 63-69.
- Bradford, A.L., Ismailov, II, Achard, J.M., Warnock, D.G., Bubien, J.K., and Benos, D.J. (1995). Immunopurification and functional reconstitution of a Na<sup>+</sup> channel complex from rat lymphocytes. *American Journal of Physiology*, 269(3 Pt 1), C601-611.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bredt, D.S., and Snyder, S.H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annual Review of Biochemistry*, 63, 175-195.
- Brenman, J.E., and Bredt, D.S. (1997). Synaptic signaling by nitric oxide. *Current Opinion in Neurobiology*, 7(3), 374-378.
- Brito, A.B., Lourenco, G.J., Oliveira, G.B., De Souza, C.A., Vassallo, J., and Lima, C.S. (2014). Associations of VEGF and VEGFR2 polymorphisms with increased risk and aggressiveness of multiple myeloma. *Annals of Hematology*, 93(8), 1363-1369.
- Brodal, P. (2004). *The Central Nervous System Structure And Function* (3. Edition ed. Vol. 3-25). New York: Oxford University Press.
- Brogan, I.J., Khan, N., Isaac, K., Hutchinson, J.A., Pravica, V., and Hutchinson, I.V. (1999). Novel polymorphisms in the promoter and 5' UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Human Immunology*, 60(12), 1245-1249.
- Broll, R., Erdmann, H., Duchrow, M., Oevermann, E., Schwandner, O., Markert, U., Bruch, H.P., and Windhovel, U. (2001). Vascular endothelial growth factor (VEGF)-a valuable serum tumour marker in patients with colorectal cancer? *European Journal of Surgical Oncology*, 27(1), 37-42.
- Brookes, A.J. (1999). The essence of SNPs. *Gene*, 234(2), 177-186.
- Brookes, A.J., Lehvaslaiho, H., Siegfried, M., Boehm, J.G., Yuan, Y.P., Sarkar, C.M., Bork, P., and Ortigao, F. (2000). HGBASE: a database of SNPs and other variations in and around human genes. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 356-360.
- Brooks, S.E., Gu, X., Samuel, S., Marcus, D.M., Bartoli, M., Huang, P.L., and Caldwell, R.B. (2001). Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 42(1), 222-228.

- Buckner, J.C. (2003). Factors influencing survival in high-grade gliomas. *Seminars in Oncology*, 30(6 Suppl 19), 10-14.
- Burnier, M., and Brunner, H.R. (2000). Angiotensin II receptor antagonists. *Lancet*, 355(9204), 637-645.
- Byrne, A.M., Bouchier-Hayes, D.J., and Harmey, J.H. (2005). Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 9(4), 777-794.
- Carluccio, M., Soccio, M., and De Caterina, R. (2001). Aspects of gene polymorphisms in cardiovascular disease: the renin-angiotensin system. *European Journal of Clinical Investigation*, 31(6), 476-488.
- Carmeliet, P., Moons, L., Luttun, A., Vincenti, V., Compernelle, V., De Mol, M., Wu, Y., Bono, F., Devy, L., Beck, H., Scholz, D., Acker, T., DiPalma, T., Dewerchin, M., Noel, A., Stalmans, I., Barra, A., Blacher, S., VandenDriessche, T., Ponten, A., Eriksson, U., Plate, K.H., Foidart, J.M., Schaper, W., Charnock-Jones, D.S., Hicklin, D.J., Herbert, J.M., Collen, D., and Persico, M.G. (2001). Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nature Medicine*, 7(5), 575-583.
- Castle, M., Sutter, A. (2005). Rat Neuronal Nitric Oxide Synthase (nNOS) Reductase Domain. Retrieved from [http://biology.kenyon.edu/BMB/Chime2/2005/nNOS\\_RED/FRAMES/](http://biology.kenyon.edu/BMB/Chime2/2005/nNOS_RED/FRAMES/).
- Cavalli-Sforza, L.L. (1974). Letter: Controversial issues in human population genetics. *American Journal of Human Genetics*, 26(2), 266-271.
- Chakrabarti, S., Cukiernik, M., Hileeto, D., Evans, T., and Chen, S. (2000). Role of vasoactive factors in the pathogenesis of early changes in diabetic retinopathy. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 16(6), 393-407.
- Chakravarti, A. (2001). To a future of genetic medicine. *Nature*, 409(6822), 822-823.
- Chen, F., Chen, G., Dou, Y., and Xu, X. (2015). Association of angiotensin capital I, Ukrainian capital I, Ukrainian type 1 receptor (A1166C) polymorphism with breast cancer risk: An update meta-analysis. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 16(4), 851-857.
- Cheng, Z., Ma, R., Tan, W., Zhang, L., and Tan, Q. (2015). Lack of association between ACE insertion/deletion polymorphism and lung cancer: A meta-analysis. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 16(2), 453-458.
- Chiorean, R., Berindan-Neagoe, I., Braicu, C., Florian, I.S., Leucuta, D., Crisan, D., Cernea, V. (2014). Quantitative expression of serum biomarkers involved in angiogenesis and inflammation, in patients with glioblastoma multiforme: correlations with clinical data. *Cancer Biomarkers*, 14(2-3), 185-94.

- Claesson-Welsh, L. (2008). VEGF-B taken to our hearts: specific effect of VEGF-B in myocardial ischemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(9), 1575-1576.
- Clauss, M. (2000). Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 26(5), 561-569.
- Collins, V.P. (2004). Brain tumours: classification and genes. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 75 Suppl 2, ii2-11.
- Conway, H., Catania, G., Raymond, C.F., Gades, A.M., Scambos, T.A., and Engelhardt, H. (2002). Switch of flow direction in an Antarctic ice stream. *Nature*, 419(6906), 465-467.
- Dahia, P.L. (2000). PTEN, a unique tumor suppressor gene. *Endocrine-Related Cancer*, 7(2), 115-129.
- Danser, A.H. (2003). Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 35(6), 759-768.
- Das, S.K., and Vasudevan, D.M. (2007). Essential factors associated with hepatic angiogenesis. *Life Sciences*, 81(23-24), 1555-1564.
- Dean, B.L., Drayer, B.P., Bird, C.R., Flom, R.A., Hodak, J.A., Coons, S.W., and Carey, R.G. (1990). Gliomas: classification with MR imaging. *Radiology*, 174(2), 411-415.
- DeAngelis, L.M. (2001). Brain tumors. *New England Journal of Medicine*, 344(2), 114-123.
- DeAngelis, L.M. (2005). Chemotherapy for brain tumors--a new beginning. *New England Journal of Medicine*, 352(10), 1036-1038.
- Duarte, I., Santos, A., Sousa, H., Catarino, R., Pinto, D., Matos, A., Pereira, D., Moutinho, J., Canedo, P., Machado, J.C., and Medeiros, R. (2005). G-308A TNF-alpha polymorphism is associated with an increased risk of invasive cervical cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 334(2), 588-592.
- Duncan, J.A., Scholey, J.W., and Miller, J.A. (2001). Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in humans: physiology and pathophysiology of the genotypes. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 10(1), 111-116.
- Durmaz, R. (2007). Diffuse Astrocytoma. *Turkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences*, 3(34), 21-26.
- Ebert, M.P., Lendeckel, U., Westphal, S., Dierkes, J., Glas, J., Folwaczny, C., Roessner, A., Stolte, M., Malfertheiner, P., and Rocken, C. (2005). The angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism is linked to early gastric cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14(12), 2987-2989.
- Emori, T., Hirata, Y., Ohta, K., Kanno, K., Eguchi, S., Imai, T., Shichiri, M., and Marumo, F. (1991). Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. *Hypertension*, 18(2), 165-170.

- Endoh, M., Fujita, S., Yang, H.T., Talukder, M.A., Maruya, J., and Norota, I. (1998). Endothelin: receptor subtypes, signal transduction, regulation of Ca<sup>2+</sup> transients and contractility in rabbit ventricular myocardium. *Life Sciences*, 62(17-18), 1485-1489.
- Engelhard, H.H., Stelea, A., and Cochran, E.J. (2002). Oligodendroglioma: pathology and molecular biology. *Surgical Neurology*, 58(2), 111-117; discussion 117.
- Fagan, K.A., McMurtry, I.F., and Rodman, D.M. (2001). Role of endothelin-1 in lung disease. *Respiratory Research*, 2(2), 90-101.
- Fahim, S., Montazer, F., Tohidinik, H.R., Naraghi, Z.S., Abedini, R., Nasimi, M., and Ghandi, N. (2018). Serum and tissue angiotensin-converting enzyme in patients with alopecia areata. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. doi: 10.4103/ijdvl.IJDVL\_158\_17.
- Ferrara, N., and Davis-Smyth, T. (1997). The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Reviews*, 18(1), 4-25.
- Ferrara, N., Gerber, H.P., and LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*, 9(6), 669-676.
- Folkman, J. (1990). What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *Journal of the National Cancer Institute*, 82(1), 4-6.
- Frazier, A.A. (2019). Myxopapillary Ependymoma. *Radiographics*, 39(2), 467.
- Fukumura, D., Gohongi, T., Kadambi, A., Izumi, Y., Ang, J., Yun, C.O., Buerk, D.G., Huang, P.L., and Jain, R.K. (2001). Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(5), 2604-2609.
- Galie, N., Manes, A., and Branzi, A. (2004). The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovascular Research*, 61(2), 227-237.
- Garcia-Santos, J.M., Torres del Rio, S., Sanchez, A., and Martinez-Lage, J.F. (2002). Basal ganglia and thalamic tumours: an imaging approximation. *Child's Nervous System*, 18(8), 412-425.
- Gasic, S., Wagner, O.F., Vierhapper, H., Nowotny, P., and Waldhausl, W. (1992). Regional hemodynamic effects and clearance of endothelin-1 in humans: renal and peripheral tissues may contribute to the overall disposal of the peptide. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 19(2), 176-180.
- Giaid, A., Gibson, S.J., Ibrahim, B.N., Legon, S., Bloom, S.R., Yanagisawa, M., Masaki, T., Varndell, I.M., Polak, J.M. (1989). Endothelin 1, an endothelium-derived peptide, is expressed in neurons of the human spinal cord and dorsal root ganglia. *Proceedings of National Academy of Science of The United States of America*. 86(19), 7634-8.

- Goligorsky, M.S., Budzikowski, A.S., Tsukahara, H., and Noiri, E. (1999). Co-operation between endothelin and nitric oxide in promoting endothelial cell migration and angiogenesis. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 26(3), 269-271.
- Gonon, A.T., Erbas, D., Broijersen, A., Valen, G., and Pernow, J. (2004). Nitric oxide mediates protective effect of endothelin receptor antagonism during myocardial ischemia and reperfusion. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 286(5), H1767-1774.
- Han, C.D., Ge, W.S. (2016). Up-Regulation of Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Enhances Cell Proliferation and Predicts Poor Prognosis in Laryngeal Cancer. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 1(22), 4132-4138.
- Hanahan, D., Christofori, G., Naik, P., and Arbeit, J. (1996). Transgenic mouse models of tumour angiogenesis: the angiogenic switch, its molecular controls, and prospects for preclinical therapeutic models. *European Journal of Cancer*, 32A(14), 2386-2393.
- Hein, A., Lambrechts, D., von Minckwitz, G., Haberle, L., Eidtmann, H., Tesch, H., Untch, M., Hilfrich, J., Schem, C., Rezai, M., Gerber, B., Dan Costa, S., Blohmer, J.U., Schwedler, K., Kittel, K., Fehm, T., Kunz, G., Beckmann, M.W., Ekici, A.B., Hanusch, C., Huober, J., Liedtke, C., Mau, C., Moisse, M., Muller, V., Nekljudova, V., Peuteman, G., Rack, B., Rubner, M., Van Brussel, T., Wang, L., Weinshilboum, R.M., Loibl, S., and Fasching, P.A. (2015). Genetic variants in VEGF pathway genes in neoadjuvant breast cancer patients receiving bevacizumab: Results from the randomized phase III GeparQuinto study. *International Journal of Cancer*, 137(12), 2981-2988.
- Heldin, C.H., and Westermark, B. (1990). Platelet-derived growth factor: mechanism of action and possible in vivo function. *Cell Regulation*, 1(8), 555-566.
- Henriques, G.M.O.M. (2013). New Therapeutic Targets for the Control of Inflammatory Arthritis: A Pivotal Role for Endothelins. In H. Matsuno (Ed.), *Innovative Rheumatology*. pp. 1.
- Herblin, W.F., Chiu, A.T., McCall, D.E., Ardecky, R.J., Carini, D.J., Duncia, J.V., Pease, L.J., Wong, P.C., Wexler, R.R., Johnson, A.L., and et al. (1991). Angiotensin II receptor heterogeneity. *American Journal of Hypertension*, 4(4 Pt 2), 299S-302S.
- Hermanson, M., Funa, K., Koopmann, J., Maintz, D., Waha, A., Westermark, B., Heldin, C.H., Wiestler, O.D., Louis, D.N., von Deimling, A., and Nister, M. (1996). Association of loss of heterozygosity on chromosome 17p with high platelet-derived growth factor alpha receptor expression in human malignant gliomas. *Cancer Research*, 56(1), 164-171.
- Hibi, S., Goto, Y., Ando, T., Matsuo, K., Wakai, K., Tajima, K., Goto, H., and Hamajima, N. (2011). No association between angiotensin I converting enzyme (ACE) I/D polymorphism and gastric cancer risk among Japanese. *Nagoya Journal of Medical Science*, 73(3-4), 169-175.

- Hill, J.R., Kuriyama, N., Kuriyama, H., and Israel, M.A. (1999). Molecular genetics of brain tumors. *Archives of Neurology*, 56(4), 439-441.
- Hiller, R., Laffer, S., Harwanegg, C., Huber, M., Schmidt, W.M., Twardosz, A., Barletta, B., Becker, W.M., Blaser, K., Breiteneder, H., Chapman, M., Cramer, R., Duchene, M., Ferreira, F., Fiebig, H., Hoffmann-Sommergruber, K., King, T.P., Kleber-Janke, T., Kurup, V.P., Lehrer, S.B., Lidholm, J., Muller, U., Pini, C., Reese, G., Scheiner, O., Scheynius, A., Shen, H.D., Spitzauer, S., Suck, R., Swoboda, I., Thomas, W., Tinghino, R., Van Hage-Hamsten, M., Virtanen, T., Kraft, D., Muller, M.W., and Valenta, R. (2002). Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB Journal*, 16(3), 414-416.
- Hingorani, A.D., Liang, C.F., Fatibene, J., Lyon, A., Monteith, S., Parsons, A., Haydock, S., Hopper, R.V., Stephens, N.G., O'Shaughnessy, K.M., and Brown, M.J. (1999). A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation*, 100(14), 1515-1520.
- Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M.S., Wildiers, H., Van Oosterom, A.T., and De Bruijn, E.A. (2004). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacological Reviews*, 56(4), 549-580.
- Homma, T., Fukushima, T., Vaccarella, S., Yonekawa, Y., Di Patre, P.L., Franceschi, S., and Ohgaki, H. (2006). Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65(9), 846-854.
- Hood, J.D., Meininger, C.J., Ziche, M., and Granger, H.J. (1998). VEGF upregulates eNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. *American Journal of Physiology*, 274(3 Pt 2), H1054-1058.
- Hooper, N.M., Keen, J., Pappin, D.J., and Turner, A.J. (1987). Pig kidney angiotensin converting enzyme. Purification and characterization of amphipathic and hydrophilic forms of the enzyme establishes C-terminal anchorage to the plasma membrane. *Biochemical Journal*, 247(1), 85-93.
- Houillier, C., Lejeune, J., Benouaich-Amiel, A., Laigle-Donadey, F., Criniere, E., Mokhtari, K., Thillet, J., Delattre, J.Y., Hoang-Xuan, K., and Sanson, M. (2006). Prognostic impact of molecular markers in a series of 220 primary glioblastomas. *Cancer*, 106(10), 2218-2223.
- Houillier, C., Wang, X., Kaloshi, G., Mokhtari, K., Guillemin, R., Laffaire, J., Paris, S., Boisselier, B., Idbaih, A., Laigle-Donadey, F., Hoang-Xuan, K., Sanson, M., and Delattre, J.Y. (2010). IDH1 or IDH2 mutations predict longer survival and response to temozolomide in low-grade gliomas. *Neurology*, 75(17), 1560-1566.
- Hubert, C., Houot, A.M., Corvol, P., and Soubrier, F. (1991). Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *Journal of Biological Chemistry*, 266(23), 15377-15383.

- Ichimura, K., Bolin, M.B., Goike, H.M., Schmidt, E.E., Moshref, A., and Collins, V.P. (2000). Dereglulation of the p14ARF/MDM2/p53 pathway is a prerequisite for human astrocytic gliomas with G1-S transition control gene abnormalities. *Cancer Research*, 60(2), 417-424.
- Imai, Y., Morita, H., Kurihara, H., Sugiyama, T., Kato, N., Ebihara, A., Hamada, C., Kurihara, Y., Shindo, T., Oh-hashii, Y., and Yazaki, Y. (2000). Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis*, 149(2), 435-442.
- Inoue, A., Yanagisawa, M., Kimura, S., Kasuya, Y., Miyauchi, T., Goto, K., and Masaki, T. (1989). The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(8), 2863-2867.
- Ironside, J.V., Moss, T.H. ve Louis, D.N. . (2002). An introduction to tumours of the nervous system. . In J.V. Ironside, Moss, T.H., Louis, D.N., Lowe, J.S. ve Weller, R.O. (Ed.), *Diagnostic Pathology of Nervous System Tumours*. London: Churchill-Livingstone., pp. 1-16.
- James, C.D., Carlbom, E., Dumanski, J.P., Hansen, M., Nordenskjold, M., Collins, V.P., and Cavenee, W.K. (1988). Clonal genomic alterations in glioma malignancy stages. *Cancer Research*, 48(19), 5546-5551.
- Jansen, M., Yip, S., and Louis, D.N. (2010). Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurology*, 9(7), 717-726.
- Jemal, A., Murray, T., Ward, E., Samuels, A., Tiwari, R.C., Ghafoor, A., Feuer, E.J., and Thun, M.J. (2005). Cancer statistics, 2005. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 55(1), 10-30.
- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., and Thun, M.J. (2009). Cancer statistics, 2009. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 59(4), 225-249.
- Jiang, H., Lian, M., Xie, J., Li, J., and Wang, M. (2013). Three single nucleotide polymorphisms of the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene and glioma risk in a Chinese population. *Journal of International Medical Research*, 41(5), 1484-1494.
- Kaina, B., Margison, G.P., and Christmann, M. (2010). Targeting O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase with specific inhibitors as a strategy in cancer therapy. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(21), 3663-3681.
- Kanu, O.O., Hughes, B., Di, C., Lin, N., Fu, J., Bigner, D.D., Yan, H., and Adamson, C. (2009). Glioblastoma Multiforme Oncogenomics and Signaling Pathways. *Clinical Medicine: Oncology*, 3, 39-52.
- Kapahi, R., Manjari, M., Sudan, M., Uppal, M.S., Singh, N.R., Sambyal, V., and Guleria, K. (2014). Association of +405C>G and +936C>T polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene with sporadic breast cancer in North Indians. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(1), 257-263.



- Kaur, B., Khwaja, F.W., Severson, E.A., Matheny, S.L., Brat, D.J., and Van Meir, E.G. (2005). Hypoxia and the hypoxia-inducible-factor pathway in glioma growth and angiogenesis. *Neuro-Oncology*, 7(2), 134-153.
- Kawamura, T., Yamamoto, M., Suzuki, K., Suzuki, Y., Kamishima, M., Sakata, M., Kurachi, K., Setoh, M., Konno, H., and Takeuchi, H. (2018). Tenascin-C Produced by Intestinal Myofibroblasts Promotes Colitis-associated Cancer Development Through Angiogenesis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 25(4), 732-741. doi: 10.1093/ibd/izy368.
- Kaysuya T., H.M., Koike G., Dzau V.J. (1995). Cloning and characterization of human angiotensin II type 2 receptor gene and its polymorphism. *Circulation*, 92, 282.
- Kerbel RS, E.L. (2008). Angiogenesis. In L.T.a.R.S. DeVita VT (Ed.), *DeVita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 103-116.
- Kheirollahi, M., Dashti, S., Khalaj, Z., Nazemroaia, F., and Mahzouni, P. (2015). Brain tumors: Special characters for research and banking. *Advanced Biomedical Research*, 4(4), 1-26. doi: 10.4103/2277-9175.148261.
- Kleihues, P., and Ohgaki, H. (2000). Phenotype vs genotype in the evolution of astrocytic brain tumors. *Toxicologic Pathology*, 28(1), 164-170.
- Kleihues, P., Soylemezoglu, F., Schauble, B., Scheithauer, B.W., and Burger, P.C. (1995). Histopathology, classification, and grading of gliomas. *Glia*, 15(3), 211-221.
- Koeller, K.K., and Rushing, E.J. (2005). From the archives of the AFIP: Oligodendroglioma and its variants: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*, 25(6), 1669-1688.
- Koh, W.P., Yuan, J.M., Van Den Berg, D., Lee, H.P., and Yu, M.C. (2005). Polymorphisms in angiotensin II type 1 receptor and angiotensin I-converting enzyme genes and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. *Carcinogenesis*, 26(2), 459-464.
- Kong, H.L., and Crystal, R.G. (1998). Gene therapy strategies for tumor antiangiogenesis. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(4), 273-286.
- Kumar, M., Ramakrishnaiah, R., and Samant, R. (2013). Angiocentric glioma, a recently added WHO grade-I tumor. *Radiology Case Reports*, 8(4), 782. doi: 10.2484/rcr.v8i4.782.
- Kuyumcu, A., Duzgun, A.P., Ozmen, M.M., and Besler, H.T. (2004). The role of nitric oxide in trauma and infection. *Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi. Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery*, 10(3), 149-159.

Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M.C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., FitzHugh, W., Funke, R., Gage, D., Harris, K., Heaford, A., Howland, J., Kann, L., Lehoczky, J., LeVine, R., McEwan, P., McKernan, K., Meldrim, J., Mesirov, J.P., Miranda, C., Morris, W., Naylor, J., Raymond, C., Rosetti, M., Santos, R., Sheridan, A., Sougnez, C., Stange-Thomann, Y., Stojanovic, N., Subramanian, A., Wyman, D., Rogers, J., Sulston, J., Ainscough, R., Beck, S., Bentley, D., Burton, J., Clee, C., Carter, N., Coulson, A., Deadman, R., Deloukas, P., Dunham, A., Dunham, I., Durbin, R., French, L., Grafham, D., Gregory, S., Hubbard, T., Humphray, S., Hunt, A., Jones, M., Lloyd, C., McMurray, A., Matthews, L., Mercer, S., Milne, S., Mullikin, J.C., Mungall, A., Plumb, R., Ross, M., Shownkeen, R., Sims, S., Waterston, R.H., Wilson, R.K., Hillier, L.W., McPherson, J.D., Marra, M.A., Mardis, E.R., Fulton, L.A., Chinwalla, A.T., Pepin, K.H., Gish, W.R., Chissole, S.L., Wendl, M.C., Delehaunty, K.D., Miner, T.L., Delehaunty, A., Kramer, J.B., Cook, L.L., Fulton, R.S., Johnson, D.L., Minx, P.J., Clifton, S.W., Hawkins, T., Branscomb, E., Predki, P., Richardson, P., Wenning, S., Slezak, T., Doggett, N., Cheng, J.F., Olsen, A., Lucas, S., Elkin, C., Uberbacher, E., Frazier, M., Gibbs, R.A., Muzny, D.M., Scherer, S.E., Bouck, J.B., Sodergren, E.J., Worley, K.C., Rives, C.M., Gorrell, J.H., Metzker, M.L., Naylor, S.L., Kucherlapati, R.S., Nelson, D.L., Weinstock, G.M., Sakaki, Y., Fujiyama, A., Hattori, M., Yada, T., Toyoda, A., Itoh, T., Kawagoe, C., Watanabe, H., Totoki, Y., Taylor, T., Weissenbach, J., Heilig, R., Saurin, W., Artiguenave, F., Brottier, P., Bruls, T., Pelletier, E., Robert, C., Wincker, P., Smith, D.R., Doucette-Stamm, L., Rubenfield, M., Weinstock, K., Lee, H.M., Dubois, J., Rosenthal, A., Platzer, M., Nyakatura, G., Taudien, S., Rump, A., Yang, H., Yu, J., Wang, J., Huang, G., Gu, J., Hood, L., Rowen, L., Madan, A., Qin, S., Davis, R.W., Federspiel, N.A., Abola, A.P., Proctor, M.J., Myers, R.M., Schmutz, J., Dickson, M., Grimwood, J., Cox, D.R., Olson, M.V., Kaul, R., Raymond, C., Shimizu, N., Kawasaki, K., Minoshima, S., Evans, G.A., Athanasiou, M., Schultz, R., Roe, B.A., Chen, F., Pan, H., Ramser, J., Lehrach, H., Reinhardt, R., McCombie, W.R., de la Bastide, M., Dedhia, N., Blocker, H., Hornischer, K., Nordsiek, G., Agarwala, R., Aravind, L., Bailey, J.A., Bateman, A., Batzoglu, S., Birney, E., Bork, P., Brown, D.G., Burge, C.B., Cerutti, L., Chen, H.C., Church, D., Clamp, M., Copley, R.R., Doerks, T., Eddy, S.R., Eichler, E.E., Furey, T.S., Galagan, J., Gilbert, J.G., Harmon, C., Hayashizaki, Y., Haussler, D., Hermjakob, H., Hokamp, K., Jang, W., Johnson, L.S., Jones, T.A., Kasif, S., Kasprzyk, A., Kennedy, S., Kent, W.J., Kitts, P., Koonin, E.V., Korf, I., Kulp, D., Lancet, D., Lowe, T.M., McLysaght, A., Mikkelsen, T., Moran, J.V., Mulder, N., Pollara, V.J., Ponting, C.P., Schuler, G., Schultz, J., Slater, G., Smit, A.F., Stupka, E., Szustakowki, J., Thierry-Mieg, D., Thierry-Mieg, J., Wagner, L., Wallis, J., Wheeler, R., Williams, A., Wolf, Y.I., Wolfe, K.H., Yang, S.P., Yeh, R.F., Collins, F., Guyer, M.S., Peterson, J., Felsenfeld, A., Wetterstrand, K.A., Patrinos, A., Morgan, M.J., de Jong, P., Catanese, J.J., Osoegawa, K., Shizuya, H., Choi, S., Chen, Y.J., Szustakowki, J., and International Human Genome Sequencing, C. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822), 860-921.

Lanfear, D.E., and McLeod, H.L. (2007). Pharmacogenetics: using DNA to optimize drug therapy. *American Family Physician*, 76(8), 1179-1182.

Latil, A., Bieche, I., Pesche, S., Valeri, A., Fournier, G., Cussenot, O., and Lidereau, R. (2000). VEGF overexpression in clinically localized prostate tumors and neuropilin-1 overexpression in metastatic forms. *International Journal of Cancer*, 89(2), 167-171.

- Law, A., O'Donnell, J., Gauthier, S., and Quirion, R. (2002). Neuronal and inducible nitric oxide synthase expressions and activities in the hippocampi and cortices of young adult, aged cognitively unimpaired, and impaired Long-Evans rats. *Neuroscience*, 112(2), 267-275.
- Lawrence, M., Stephen, J. and Maxine, A. (2005). Current Medical Diagnosis & Treatment. In M. Lawrence, Stephen, J. ve Maxine, A. (Ed.), *Current Medical Diagnosis & Treatment*. United States of America: The McGraw-Hill Companies: Lange, pp. 3683-3929.
- Lee, C.H., Jung, K.W., Yoo, H., Park, S., and Lee, S.H. (2010). Epidemiology of primary brain and central nervous system tumors in Korea. *Journal of the Korean Neurosurgical Society*, 48(2), 145-152.
- Le Noble, F.A., Schreurs, N.H., van Straaten, H.W., Slaaf, D.W., Smits, J.F., Rogg, H., Struijker-Boudier, H.A. (1993) Evidence for a novel angiotensin II receptor involved in angiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane. *The American Journal of Physiology*, 264, 460-465.
- Levin, E.R. (1995). Endothelins. *New England Journal of Medicine*, 333(6), 356-363.
- Li, J.T., Yan, Q., Yu, H.L. (2009). Expression of VEGF and NGF in gliomas of human. *Journal of Sichuan University*, 40(3), 408-11.
- Li, J., Yen, C., Liaw, D., Podsypanina, K., Bose, S., Wang, S.I., Puc, J., Miliaresis, C., Rodgers, L., McCombie, R., Bigner, S.H., Giovanella, B.C., Ittmann, M., Tycko, B., Hibshoosh, H., Wigler, M.H., and Parsons, R. (1997). PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*, 275(5308), 1943-1947.
- Li, L., Wang, F., Lv, P.W., Zhu, M.Z., He, J.J., Guo, G.C., Gu, Y.T., and Han, M.L. (2015). Angiotensin II type 1 receptor gene A1166C polymorphism and breast cancer susceptibility. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 15016-15023.
- Lian, M., Jiang, H., Wang, H., and Guo, S. (2015). Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms is associated with risk of glioma in a Chinese population. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 16(2), 443-447.
- Linhares, P., Viana-Pereira, M., Ferreira, M., Amorim, J., Nabico, R., Pinto, F., Costa, S., Vaz, R., and Reis, R.M. (2018). Genetic variants of vascular endothelial growth factor predict risk and survival of gliomas. *Tumour Biology*, 40(3), 1-11. doi: 10.1177/1010428318766273.
- Liu, S.Y., Sima, X., Wang, C.H., and Gao, M. (2011). The association between ACE polymorphism and risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Clinical Biochemistry*, 44(14-15), 1223-1226.
- Livak, K.J., and Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 25(4), 402-408.

- Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K., Burger, P.C., Jouvet, A., Scheithauer, B.W., and Kleihues, P. (2007). The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*, 114(2), 97-109.
- Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W.K., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Kleihues, P., and Ellison, D.W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 803-820.
- Louis, D.N., Pomeroy, S.L., and Cairncross, J.G. (2002). Focus on central nervous system neoplasia. *Cancer Cell*, 1(2), 125-128.
- Lowenstein, C.J., and Snyder, S.H. (1992). Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell*, 70(5), 705-707.
- Lucas, J.T., Jr., Huang, A.J., Mott, R.T., Lesser, G.J., Tatter, S.B., and Chan, M.D. (2015). Anaplastic ganglioglioma: a report of three cases and review of the literature. *Journal of Neuro-Oncology*, 123(1), 171-177.
- Luo, T., Chen, L., He, P., Hu, Q.C., Zhong, X.R., Sun, Y., Yang, Y.F., Tian, T.L., and Zheng, H. (2013). Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphisms and breast cancer risk in a Chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(4), 2433-2437.
- Mansfield, C.M., Kimler, B.F., Henderson, S.D., Vats, T.S., Svoboda, D.J. (1984). Angiotensin-I-converting enzyme in cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*, 2, 452-456.
- Masaki, T. (2004). Historical review: Endothelin. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25(4), 219-224.
- Matsumoto, H., Suzuki, N., Onda, H., and Fujino, M. (1989). Abundance of endothelin-3 in rat intestine, pituitary gland and brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 164(1), 74-80.
- Meena, S.K., Kumar, R. ve Sairoz. (2017). Serum nitric oxide and peroxynitrite in breast cancer patient. *International Journal of Current Research*, 9(8), 55725-55727.
- Mei, K., Cai, X.H., Du, L., Chen, Y.F., Huang, S., Chen, J., Yin, X.D., Zhang, Z.X., Zhao, X., Zhou, C.Y., Yu, J.R. (2016). Effect of nitric oxide derived from endothelial nitric oxide synthase on tumor angiogenesis. *Chinese Journal of Cancer*, 29(1), 32-7.
- McKenzie, C.A., Abecasis, G.R., Keavney, B., Forrester, T., Ratcliffe, P.J., Julier, C., Connell, J.M., Bennett, F., McFarlane-Anderson, N., Lathrop, G.M., and Cardon, L.R. (2001). Trans-ethnic fine mapping of a quantitative trait locus for circulating angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Human Molecular Genetics*, 10(10), 1077-1084.
- Mignatti, P., and Rifkin, D.B. (1996). Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme and Protein*, 49(1-3), 117-137.

- Miller, V.M., and Burnett, J.C., Jr. (1992). Modulation of NO and endothelin by chronic increases in blood flow in canine femoral arteries. *American Journal of Physiology*, 263(1 Pt 2), H103-108.
- Mills, K. (2002). Methods in Molecular Medicine In J. Boulton, Fidler, C. (Ed.), *Molecular Analysis of Cancer*, 999 Riverview Drive, Suite 208 Totowa, New Jersey 07512: Humana Press, pp. 1-6.
- Mohammed M.A. Al Barbarawi, M.Z.A.a.S.M.A.Q. (2012). Neuronal and Mixed Neuronal-Glial Tumors of the Central Nervous System. *Histopathology - Reviews and Recent Advances*. Retrieved from <https://www.intechopen.com/books/histopathology-reviews-and-recent-advances/neuronal-and-mixed-neuronal-glial-tumors-of-the-central-nervous-system#B184>.
- Momand, J., Zambetti, G.P., Olson, D.C., George, D., and Levine, A.J. (1992). The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. *Cell*, 69(7), 1237-1245.
- Moncada, S., Palmer, R.M., and Higgs, E.A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43(2), 109-142.
- Morbidelli, L., Orlando, C., Maggi, C.A., Ledda, F., and Ziche, M. (1995). Proliferation and migration of endothelial cells is promoted by endothelins via activation of ETB receptors. *American Journal of Physiology*, 269(2 Pt 2), H686-695.
- Munzenmaier, D.H., Greene, A.S. (1996). Opposing actions of angiotensin II on microvascular growth and arterial blood pressure. *Hypertension*, 27, 760-765.
- Nakamura, M., Watanabe, T., Klangby, U., Asker, C., Wiman, K., Yonekawa, Y., Kleihues, P., and Ohgaki, H. (2001). p14ARF deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathology*, 11(2), 159-168.
- Namazi, S., Daneshian, A., Mohammadianpanah, M., Jafari, P., Ardeshir-Rouhani-Fard, S., and Nasirabadi, S. (2013). The impact of renin-angiotensin system, angiotensin capital I, Ukrainian converting enzyme (insertion/deletion), and angiotensin capital I, Ukrainian capital I, Ukrainian type 1 receptor (A1166C) polymorphisms on breast cancer survival in Iran. *Gene*, 532(1), 125-131.
- NCI. (2019). SEER Stat Fact Sheets: Brain and Other Nervous System Cancer. Retrieved from <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/brain.html#>.
- Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S., and Poltorak, Z. (1999). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB Journal*, 13(1), 9-22.
- Newcomb, E.W., Cohen, H., Lee, S.R., Bhalla, S.K., Bloom, J., Hayes, R.L., and Miller, D.C. (1998). Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced by altered expression of p16, p53, EGFR, MDM2 or Bcl-2 genes. *Brain Pathology*, 8(4), 655-667.
- Nishida, N., Yano, H., Nishida, T., Kamura, T., and Kojiro, M. (2006). Angiogenesis in cancer. *Vascular Health and Risk Management*, 2(3), 213-219.

- Nowacka, A., Smuczyński, W., Rośc, D., Woźniak-Dąbrowska, K., Śniegocki, M. (2018). Serum VEGF-A concentrations in patients with central nervous system (CNS) tumors. *PLoS One*, 13(3), 1-8.
- Nussbaum, R.L., McInnes, R.R., Willard, H.F. (2005). *Tibbi Genetik*. In: Thompson&Thompson, pp. 458.
- Nyborg, N.C., Prieto, D., Benedito, S., and Nielsen, P.J. (1991). Endothelin-1-induced contraction of bovine retinal small arteries is reversible and abolished by nitrendipine. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 32(1), 27-31.
- Ohgaki, H., and Kleihues, P. (2005). Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 64(6), 479-489.
- Ohgaki, H., and Kleihues, P. (2007). Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *American Journal of Pathology*, 170(5), 1445-1453.
- Ohkubo, S., Ogi, K., Hosoya, M., Matsumoto, H., Suzuki, N., Kimura, C., Ondo, H., and Fujino, M. (1990). Specific expression of human endothelin-2 (ET-2) gene in a renal adenocarcinoma cell line. Molecular cloning of cDNA encoding the precursor of ET-2 and its characterization. *FEBS Letters*, 274(1-2), 136-140.
- Onda, K., Davis, R.L., Shibuya, M., Wilson, C.B., and Hoshino, T. (1994). Correlation between the bromodeoxyuridine labeling index and the MIB-1 and Ki-67 proliferating cell indices in cerebral gliomas. *Cancer*, 74(7), 1921-1926.
- Ondetti, M.A., and Cushman, D.W. (1982). Enzymes of the renin-angiotensin system and their inhibitors. *Annual Review of Biochemistry*, 51, 283-308.
- Palma, L., Celli, P., Maleci, A., Di Lorenzo, N., and Cantore, G. (1989). Malignant monstrocellular brain tumours. A study of 42 surgically treated cases. *Acta Neurochirurgica*, 97(1-2), 17-25.
- Pandith, A.A., Qasim, I., Zahoor, W., Shah, P., and Bhat, A.R. (2018). ACE I/D sequence variants but not MTHFR C677T, is strongly linked to malignant glioma risk and its variant DD genotype may act as a promising predictive biomarker for overall survival of glioma patients. *Gene*, 639, 62-68.
- Pehlivan, S., Onay, H., Tavmergen, E., Göker, N.T., Çoğulu, Ö. ve Özkınay, F. (2008). Angiotensin converting enzyme gene polymorphisms in male infertility. *Gaziantep Tıp Dergisi*, 14, 15-17.
- Pernow, J., Shemyakin, A., and Bohm, F. (2012). New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Life Sciences*, 91(13-14), 507-516.
- Podar, K., and Anderson, K.C. (2005). The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies: therapeutic implications. *Blood*, 105(4), 1383-1395.
- Prado, R., Watson, B.D., Kuluz, J., and Dietrich, W.D. (1992). Endothelium-derived nitric oxide synthase inhibition. Effects on cerebral blood flow, pial artery diameter, and vascular morphology in rats. *Stroke*, 23(8), 1118-1123; discussion 1124.

- Prasad, A., Narayanan, S., Waclawiw, M.A., Epstein, N., and Quyyumi, A.A. (2000). The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene determines coronary vascular tone and nitric oxide activity. *Journal of the American College of Cardiology*, 36(5), 1579-1586.
- Purow, B., and Schiff, D. (2009). Advances in the genetics of glioblastoma: are we reaching critical mass? *Nature Reviews: Neurology*, 5(8), 419-426.
- Quinn, T.P., Peters, K.G., De Vries, C., Ferrara, N., and Williams, L.T. (1993). Fetal liver kinase 1 is a receptor for vascular endothelial growth factor and is selectively expressed in vascular endothelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(16), 7533-7537.
- Quyang, J., Wu, Z., Xing, J., Yan, Y., Zhang, G., Wang, B., Li, H., Ma, X., and Zhang, X. (2011). Association of polymorphisms in angiotensin II receptor genes with aldosterone-producing adenoma. *Journal of Huazhong University of Science and Technology Medical Sciences*, 31(3), 301-305.
- Rafat, N., Beck, G.C., Schulte, J., Tuettenberg, J., Vajkoczy, P. (2010). Circulating endothelial progenitor cells in malignant gliomas. *Journal of Neurosurgery*, 112(1), 43-49.
- Reifenberger, G., Liu, L., Ichimura, K., Schmidt, E.E., and Collins, V.P. (1993). Amplification and overexpression of the MDM2 gene in a subset of human malignant gliomas without p53 mutations. *Cancer Research*, 53(12), 2736-2739.
- Reifenberger, J., Reifenberger, G., Liu, L., James, C.D., Wechsler, W., and Collins, V.P. (1994). Molecular genetic analysis of oligodendroglial tumors shows preferential allelic deletions on 19q and 1p. *American Journal of Pathology*, 145(5), 1175-1190.
- Renner, W., Kotschan, S., Hoffmann, C., Obermayer-Pietsch, B., and Pilger, E. (2000). A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *Journal of Vascular Research*, 37(6), 443-448.
- Rezaei, M., Hashemi, M., Sanaei, S., Mashhadi, M.A., and Taheri, M. (2016). Association Between Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms with Breast Cancer Risk in an Iranian Population. *Breast Cancer (Auckl)*, 10, 85-91.
- Rieder, M.J., Taylor, S.L., Clark, A.G., and Nickerson, D.A. (1999). Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. *Nature Genetics*, 22(1), 59-62.
- Riemenschneider, M.J., Hegi, M.E., and Reifenberger, G. (2010). MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Targeted Oncology*, 5(3), 161-165.
- Rigat, B., Hubert, C., Alhenc-Gelas, F., Cambien, F., Corvol, P., and Soubrier, F. (1990). An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *Journal of Clinical Investigation*, 86(4), 1343-1346.
- Rømer, F.K. (1981). Angiotensin-converting enzyme and its association with outcome in lung cancer. *British Journal of Cancer*, 43(2), 135-42.

- Rømer, F.K., and Emmertsen, K. (1980). Serum angiotensin-converting enzyme in malignant lymphomas, leukaemia and multiple myeloma. *British Journal of Cancer*, 42(2), 314-318.
- Rosell, R., de Las Penas, R., Balana, C., Santarpia, M., Salazar, F., de Aguirre, I., Reguart, N., Villa, S., Wei, J., Ramirez, J.L., Molina, M.A., Ramon y Cajal, S., Jablons, D., and Taron, M. (2008). Translational research in glioblastoma multiforme: molecular criteria for patient selection. *Future Oncology (London, England)*, 4(2), 219-228.
- Roy, H., Bhardwaj, S., and Yla-Herttuala, S. (2006). Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Letters*, 580(12), 2879-2887.
- Ryan, J.W., Ryan, U.S., Schultz, D.R., Whitaker, C., and Chung, A. (1975). Subcellular localization of pulmonary antiotensin-converting enzyme (kininase II). *Biochemical Journal*, 146(2), 497-499.
- Saaristo, A., Karpanen, T., and Alitalo, K. (2000). Mechanisms of angiogenesis and their use in the inhibition of tumor growth and metastasis. *Oncogene*, 19(53), 6122-6129.
- Sakamoto, A., Yanagisawa, M., Sakurai, T., Takuwa, Y., Yanagisawa, H., and Masaki, T. (1991). Cloning and functional expression of human cDNA for the ETB endothelin receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 178(2), 656-663.
- Sakurai, T., Yanagisawa, M., Takuwa, Y., Miyazaki, H., Kimura, S., Goto, K., and Masaki, T. (1990). Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*, 348(6303), 732-735.
- Salani, D., Rosano, L., Di Castro, V., Spinella, F., Venuti, A., Padley, R.J., Nicotra, M.R., Natali, P.G., and Bagnato, A. (2002). ABT-627, a potent endothelin receptor A antagonist, inhibits ovarian carcinoma growth in vitro. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 103 Suppl 48, 318S-321S.
- Salani, D., Taraboletti, G., Rosano, L., Di Castro, V., Borsotti, P., Giavazzi, R., and Bagnato, A. (2000). Endothelin-1 induces an angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *American Journal of Pathology*, 157(5), 1703-1711.
- Sangle, V.A., Chaware, S.J., Kulkarni, M.A., Ingle, Y.C., Singh, P., Pooja, V.K. (2018). Elevated tissue nitric oxide in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology (JOMFP)*. 22(1), 35-39. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP\_27\_16.
- Sanson, M., Marie, Y., Paris, S., Idbaih, A., Laffaire, J., Ducray, F., El Hallani, S., Boisselier, B., Mokhtari, K., Hoang-Xuan, K., and Delattre, J.Y. (2009). Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *Journal of Clinical Oncology*, 27(25), 4150-4154.
- Sayed-Tabatabaei, F.A., Oostra, B.A., Isaacs, A., van Duijn, C.M., and Witteman, J.C. (2006). ACE polymorphisms. *Circulation Research*, 98(9), 1123-1133.



- Schattenkerk, M.E., Li, A.K., Jeppsson, B.W., Eggink, W.F., Jamieson, C.G., Ross, J.S., and Malt, R.A. (1980). Cholecystectomy has no influence on frequency of chemically induced colonic cancer in mice. *British Journal of Cancer*, 42(5), 791-793.
- Schneider, M.P., Hilgers, K.F., Klingbeil, A.U., John, S., Veelken, R., and Schmieder, R.E. (2000). Plasma endothelin is increased in early essential hypertension. *American Journal of Hypertension*, 13(6 Pt 1), 579-585.
- Schulz, W.A. (2005). *Molecular Biology of Human Cancers*. Dordrecht: Springer. pp. 1-18.
- Shahbazi, M., Fryer, A.A., Pravica, V., Brogan, I.J., Ramsay, H.M., Hutchinson, I.V., and Harden, P.N. (2002). Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(1), 260-264.
- Shapiro, W.R. (1986). Therapy of adult malignant brain tumors: what have the clinical trials taught us? *Seminars in Oncology*, 13(1), 38-45.
- Shier, D., Butleri J., Lewis, R. (2012). *Hole's Essentials of Human Anatomy & Physiology* (11. Edition ed.). New York,: McGraw-Hill.
- Shimizu, Y., Sakai, M., Umemura, Y., and Ueda, H. (1997). Expression of endothelial nitric oxide synthase in human eccrine clear cells. *British Journal of Dermatology*, 136(4), 572-574.
- Silvana A Alves Correa-Noronha, S.M.R.d.N., Murilo V. Geraldo, Cristina V. Carvalho, Jose J. Linhares, Fabricio Colacino Silva, Ana Maria M. Costa, Adalberto A. Siufi, Edna T. Kimura, Suma I. Shimuta, Clovis R. Nakaie and Ismael D.C.G. da Silva. (2011). *Lack of association between AGTR1 (A168G and T825A) and ACE T5529C polymorphisms with breast cancer among Brazilian women*. Paper presented at the Proceedings of the 102nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, FL. Philadelphia (PA).
- Simeone, P., Teson, M., Latini, A., Carducci, M., and Venuti, A. (2004). Endothelin-1 could be one of the targets of psoriasis therapy. *British Journal of Dermatology*, 151(6), 1273-1275.
- Skeggs, L.T., Jr., Kahn, J.R., and Shumway, N.P. (1956). The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme. *Journal of Experimental Medicine*, 103(3), 295-299.
- Sobjanek, M., Zablotna, M., Lesiak, A., Michajlowski, I., Szczerkowska-Dobosz, A., Sokolowska-Wojdyło, M., and Nowicki, R. (2014). The -1154 G/A VEGF gene polymorphism is associated with the incidence of basal cell carcinoma in patients from northern Poland. *Archives for Dermatological Research*. 306(6), 539-544.
- Samoto, K., Ikezaki, K., Ono, M., Shono, T., Kohno, K., Kuwano, M., Fukui, M. (1995). Expression of vascular endothelial growth factor and its possible relation with neovascularization in human brain tumors. *Cancer Research*, 55(5), 1189-93.

- Steck, P.A., Lin, H., Langford, L.A., Jasser, S.A., Koul, D., Yung, W.K., and Pershouse, M.A. (1999). Functional and molecular analyses of 10q deletions in human gliomas. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 24(2), 135-143.
- Steffensen, K.D., Waldstrom, M., Brandslund, I., and Jakobsen, A. (2010). The relationship of VEGF polymorphisms with serum VEGF levels and progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 117(1), 109-116.
- Stoll, M., Steckelings, U.M., Paul, M., Bottari, S.P., Metzger, R., and Unger, T. (1995). The angiotensin AGTR2-receptor mediates inhibition of cell proliferation in coronary endothelial cells. *Journal of Clinical Investigation*, 95(2), 651-657.
- Surawicz, T.S., Davis, F., Freels, S., Laws, E.R., Jr., and Menck, H.R. (1998). Brain tumor survival: results from the National Cancer Data Base. *Journal of Neuro-Oncology*, 40(2), 151-160.
- Şenel, F., Çırakoğlu, B. (2003, Şubat). Kanserle Savaş. *Bilim ve Teknik*, pp. 2-23.
- T.C. Sağlık Bakanlığı, T.H.S.K. (2014). Türkiye Kanser İstatistikleri. Retrieved from [http://kanser.gov.tr/Dosya/ca\\_istatistik/ANA\\_rapor\\_2013v01\\_2.pdf](http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/ANA_rapor_2013v01_2.pdf).
- Takahashi, K., Brooks, R.A., Kanse, S.M., Ghatei, M.A., Kohner, E.M., and Bloom, S.R. (1989). Production of endothelin 1 by cultured bovine retinal endothelial cells and presence of endothelin receptors on associated pericytes. *Diabetes*, 38(9), 1200-1202.
- Takano, S., Yoshii, Y., Kondo, S., Suzuki, H., Maruno, T., Shirai, S., Nose, T. (1996). Concentration of vascular endothelial growth factor in the serum and tumor tissue of brain tumor patients. *Cancer Research*, 56(9), 2185-90.
- Tamirisa, P., Frishman, W.H., and Kumar, A. (1995). Endothelin and endothelin antagonism: roles in cardiovascular health and disease. *American Heart Journal*, 130(3 Pt 1), 601-610.
- Tandel, G.S., Biswas, M., Kakde, G.O., Tiwari, A., Suri, S.H., Turk, M., Laird, J.R., Asare, C.K., Ankrah, A.A., Khanna, N.N., Madhusudhan, K.B., Saba, L., Suri, J.S. (2019). A Review on a Deep Learning Perspective in Brain Cancer Classification. *Cancers*, 11(1), 1-54.
- Taskiran, D., Kutay, F.Z., Sozmen, E., and Pogun, S. (1997). Sex differences in nitrite/nitrate levels and antioxidant defense in rat brain. *Neuroreport*, 8(4), 881-884.
- Teng, X.J., Liu, R., Zhang, Z.X., He, J.F., Shen, Z.X. (2008). Correlation of preoperative plasma levels of big endothelin-1 to prognosis of gastric carcinoma. *Ai Zheng*. 2008 Jan;27(1):88-91.
- Terada, K., Tamiya, T., Daido, S., Kambara, H., Tanaka, H., Ono, Y., Matsumoto, K., Ito, S., Ouchida, M., Ohmoto, T., and Shimizu, K. (2002). Prognostic value of loss of heterozygosity around three candidate tumor suppressor genes on chromosome 10q in astrocytomas. *Journal of Neuro-Oncology*, 58(2), 107-114.

- Tie, Z., Bai, R., Zhai, Z., Zhang, G., Zhang, H., Zhao, Z., Zhou, D., and Liu, W. (2014). Single nucleotide polymorphisms in VEGF gene are associated with an increased risk of osteosarcoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(11), 8143-8149.
- Tischer, E., Mitchell, R., Hartman, T., Silva, M., Gospodarowicz, D., Fiddes, J.C., and Abraham, J.A. (1991). The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *Journal of Biological Chemistry*, 266(18), 11947-11954.
- Tsikis, D. (2007). Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. *Journal of Chromatography. B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 851(1-2), 51-70.
- Tucker, T., and Friedman, J.M. (2002). Pathogenesis of hereditary tumors: beyond the "two-hit" hypothesis. *Clinical Genetics*, 62(5), 345-357.
- Turgut, S. (2005). Anjiotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 12(4), 53-57.
- Uemura, H., Ishiguro, H., Nagashima, Y., Sasaki, T., Nakaigawa, N., Hasumi, H., Kato, S. ve Kubota, Y. (2003). Angiotensin II receptor blocker shows antiproliferative activity in prostate cancer cells: A possibility of tyrosine kinase inhibitor of growth factor. *Molecular Cancer Therapeutic*, 2(11), 1139-1147.
- Usmani, B.A., Janeczko, M., Shen, R., Mazumdar, M., Papandreou, C.N., and Nanus, D.M. (2000). Analysis of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme (ACE) gene in patients with renal cancer. *British Journal of Cancer*, 82(3), 550-552.
- Valvi, S., and Ziegler, D.S. (2017). Ganglioglioma Arising From Desmoplastic Medulloblastoma: A Case Report and Review of Literature. *Pediatrics*, 139(3).
- Vanhauwaert, D.J., Clement, F., Van Dorpe, J., and Deruytter, M.J. (2008). Chordoid glioma of the third ventricle. *Acta Neurochirurgica*, 150(11), 1183-1191.
- Veganzones, S., de la Orden, V., Requejo, L., Mediero, B., González, M.L., Del Prado, N., Rodríguez García, C., Gutiérrez-González, R., Pérez-Zamarrón, A., Martínez, A., Maestro, M.L., Zimman, H.M., González-Neira, A., Vaquero, J., Rodríguez-Boto, G. (2017). Genetic alterations of IDH1 and Vegf in brain tumors. *Brain and Behaviour*, 7(9), 1-12.
- Wang, X., Chen, J.X., Liu, J.P., You, C., Liu, Y.H., and Mao, Q. (2014). Gain of function of mutant TP53 in glioblastoma: prognosis and response to temozolomide. *Annals of Surgical Oncology*, 21(4), 1337-1344.
- Wang, X., Wang, S., Lin, Y.W., Wu, J., Chen, H., Mao, Y.Q., Zheng, X.Y., Zhou, C., and Xie, L.P. (2012). Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and the risk of prostate cancer in the Han population of China. *Medical Oncology*, 29(3), 1964-1971.

- Watson, C.J., Webb, N.J., Bottomley, M.J., and Brenchley, P.E. (2000). Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine*, 12(8), 1232-1235.
- Wei, L., Alhenc-Gelas, F., Corvol, P., and Clauser, E. (1991). The two homologous domains of human angiotensin I-converting enzyme are both catalytically active. *Journal of Biological Chemistry*, 266(14), 9002-9008.
- Wei, L., Clauser, E., Alhenc-Gelas, F., and Corvol, P. (1992). The two homologous domains of human angiotensin I-converting enzyme interact differently with competitive inhibitors. *The Journal of Biological Chemistry*, 267(19), 13398-13405.
- Xi, B., Zeng, T., Liu, L., Liang, Y., Liu, W., Hu, Y., and Li, J. (2011). Association between polymorphisms of the renin-angiotensin system genes and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 130(2), 561-568.
- Yan, H., Parsons, D.W., Jin, G., McLendon, R., Rasheed, B.A., Yuan, W., Kos, I., Batinic-Haberle, I., Jones, S., Riggins, G.J., Friedman, H., Friedman, A., Reardon, D., Herndon, J., Kinzler, K.W., Velculescu, V.E., Vogelstein, B., and Bigner, D.D. (2009). IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *New England Journal of Medicine*, 360(8), 765-773.
- Yang, J., Zhao, Z., Zhong, X. (2017). Correlation analysis of the clinicopathological features of glioma and expression of p53 and VEGF. *International Journal of Clinical & Experimental Medicine*, 10(2), 3606-11.
- Yao, K., Duan, Z., Wang, Y., Zhang, M., Fan, T., Wu, B., and Qi, X. (2019). Detection of H3K27M mutation in cases of brain stem subependymoma. *Human Pathology*, 84, 262-269.
- Yan, H., Parsons, D. W., Jin, G., McLendon, R., Rasheed, B. A., Yuan, W., Bigner, D. D. (2009). IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *The New England Journal of Medicine*, 360(8), 765-773.
- Yapijakis, C., Koronellos, N., Spyridonidou, S., Vylliotis, A., Avgoustidis, D., Goutas, N., Vlachodimitropoulos, D., and Vairaktaris, E. (2013). Association of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with decreased risk for basal cell carcinoma. *Archives of Dermatological Research*, 305(4), 333-339.
- Yildirim, Y., Gunel, N., Coskun, U., Sancak, B., Bukan, N., Aslan, S., Cetin, A. (2008). Serum big endothelin-1 levels in female patients with breast cancer. *International Immunopharmacology*, 2008 Aug;8(8):1119-23.
- Yin, M., Liao, Z., Yuan, X., Guan, X., O'Reilly, M.S., Welsh, J., Wang, L.E., and Wei, Q. (2012). Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene and severe radiation pneumonitis in non-small cell lung cancer patients treated with definitive radiotherapy. *Cancer Science*, 103(5), 945-950.
- Yu, L., Qi, S.T., and Li, Z.Y. (2010). Analysis of isocitrate dehydrogenase-1/2 gene mutations in gliomas. *Chinese Medical Journal (Engl.)*, 123(24), 3697-3705.

- Zalata, A.A., Morsy, H.K., Badawy Ael, N., Elhanbly, S., and Mostafa, T. (2012). ACE gene insertion/deletion polymorphism seminal associations in infertile men. *Journal of Urology*, 187(5), 1776-1780.
- Zeng, Z.D., Liu, F.L., and Li, S.X. (2017). Recent perspectives of ependymomas (childhood brain tumors). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(4 Suppl), 13-19.
- Zhang, J., Yang, J., Chen, Y., Mao, Q., Li, S., Xiong, W., Lin, Y., Chen, J., Ge, J. (2016). Genetic Variants of VEGF (rs201963 and rs3025039) and KDR (rs7667298, rs2305948, and rs1870377) Are Associated with Glioma Risk in a Han Chinese Population: a Case-Control Study. *Molecular Neurobiology*, 53(4), 2610-18.
- Zhang, M., Cheng, S., Ma, Y., Qiao, Y. (2016). Role of VEGF -2578C/A, +936C/T and -460T/C genetic polymorphisms in the risk of ovarian cancer in Chinese women. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9(9), 18764-18771.
- Zheng, X., Liu, G., Cui, G., Cheng, M., Zhang, N., and Hu, S. (2017). Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Polymorphism is Associated with Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer Patients in a Chinese Population. *Medical Science Monitor*, 23, 4926-4931.
- Zmorzynski, S., Szudy-Szczyrek, A., Popek-Marciniak, S., Korszen-Pilecka, I., Wojcierowska-Litwin, M., Luterek, M., Chocholska, S., Styk, W., Swiderska-Kolacz, G., Januszewska, J., Mielnik, M., Hus, M., and Filip, A.A. (2019). ACE Insertion/Deletion Polymorphism (rs4646994) Is Associated With the Increased Risk of Multiple Myeloma. *Frontiers in Oncology*, 9(44), 1-10.
- Zuber, P., Hamou, M.F., and de Tribolet, N. (1988). Identification of proliferating cells in human gliomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery*, 22(2), 364-368.



**EKLER**

## EK-1. Etik Kurul Raporu

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	T.C SAĞLIK BAKANLIĞI TKHK ANKARA 2. BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ DR.ABDURRAHMAN YURTASLAN ANKARA ONKOLOJİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	T.C Sağlık Bakanlığı TKHK Ankara 2. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği Dr. Abdurrahman YURTASLAN Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mehmet Akif Ersoy Mahallesi 13. Cadde No:56 Yenimahalle-06200/ANKARA
	TELEFON	0 312 336 96 81
	FAKS	0 312 336 96 81
	E-POSTA	etikkurul@onkoloji.gov.tr

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Gliomada ACE ve ACE Reseptör Polimorfizmi ile Bazı Anjiyojenik Markerlerin Serum ve Doku Düzeylerinin Değerlendirilmesi"
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-----
ÇALIŞMANIN YÜRÜTÜCÜSÜ/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ
ÇALIŞMANIN YÜRÜTÜCÜSÜ UZMANLIK ALANI	Biyokimya Uzmanı

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Ömer Hakan EMMEZ						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Beyin Cerrahisi						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin Cerrahisi Anabilim dalı						
	DESTEKLEYİCİ	-----						
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-----						
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>					
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>					
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>					
FAZ 4		<input type="checkbox"/>						
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>						
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>							
Diğer ise belirtiniz	<input type="checkbox"/>							
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL	<input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLE N BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
Diğer	<input type="checkbox"/>						

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Süheyla ÜNVER  
İmza:

## EK-1. (devam) Etik Kurul Raporu

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Gliomada ACE ve ACE Reseptör Polimorfizmi ile Bazı Anjiyojenik Markerlerin Serum ve Doku Düzeylerinin Değerlendirilmesi”
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-----

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2015-12/189	Tarih: 04.11.2015
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Ayrıca çalışma bitiminden sonra en az üç ay içerisinde çalışmanın verilerinin sonuçlarının, imzalı bilgilendirilmiş onam formu fotokopilerinin ve çalışma protokol formlarının dosya halinde Etik Kurula sunulmasına, sunulmadığı takdirde Etik Kurul onayının iptal edileceğine toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	
<b>KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>		
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik uygulamaları Kılavuzu	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Süheyla ÜNVER	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Olcay KANDEMİR	Patoloji	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Prof.Dr.F. Nur BARAN AKSAKAL	Halk Sağlığı	Gazi Üni. Tıp Fak	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"/>	
Op. Dr. Erdem AKTAŞ	Ortopedi ve Trav.	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Doç.Dr.Ömür Berna ÖKSÜZOĞLU	İç Hastalıkları	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Doç.Dr.Süheyla ÜNVER	Anestezi ve Reanimasyon	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Doç. Dr. Neriman SARI	Çocuk Hematolojisi-Onkolojisi	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Uzm.Dr.Tayfun GÖKTAŞ	Fizyoloji	Gazi Üni. Tıp Fak	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"/>	
Doç. Dr. Mecit Orhan ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Üni. Ecz. Fak.	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"/>	
Uzm.Dr.Menşure KAYA	Anestezi ve Reanimasyon	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Op. Dr. Hakan BULAK	Genel Cerrahi	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Doç. Dr. Fazilet DUYGU	Enfeksiyon	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Avukat Çiğdem Filiz EKER	Hukuk	Ankara İl Sağlık Müd.	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"/>	
Ecz.Fatma MERİÇ	Eczacılık	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	
Seyit ULUPINAR	Sağlık mensubu olmayan üye	Ankara Onkoloji EAH	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"/>	

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Süheyla ÜNVER  
İmza:



## EK-2. Hasta Anket Formu

Hasta No		
Hasta Adı-Soyadı		
Adresi		
Tel (Ev/Cep)		
Cinsiyeti	<input type="checkbox"/> Kadın <input type="checkbox"/> Erkek	
Yaşı	<input type="checkbox"/> 19 - 39 <input type="checkbox"/> 40 - 55 <input type="checkbox"/> >55	
Boyu		
Kilosu		
VKI	<input type="checkbox"/> <20 <input type="checkbox"/> 20 - 25 <input type="checkbox"/> >25	
<b>Bu kısım doktor tarafından doldurulacaktır...</b>		
Protokol numarası		
Hastaneye yatış tarihi		
Şikayeti	<input type="checkbox"/> Başağrısı <input type="checkbox"/> Bayılma <input type="checkbox"/> Nöbet geçirme <input type="checkbox"/> Kol ve bacaklarda uyuşma <input type="checkbox"/> İştahsızlık ve kusma <input type="checkbox"/> Denge kaybı, yürüme bozuklukları	<input type="checkbox"/> Depresyon <input type="checkbox"/> Baş dönmesi <input type="checkbox"/> Mide bulantısı <input type="checkbox"/> Dikkat eksikliği ve unutkanlık <input type="checkbox"/> Görme, duyma ve konuşma bozuklukları
	Nöroloji kaybı	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok
Lezyon	Tarafı <input type="checkbox"/> Sol	Tarafı <input type="checkbox"/> Sağ
	Lokalizasyonu :	
MR Kontrast Tutulumu		
Ki 67 Proliferasyon İndeksi		
Patoloji	<input type="checkbox"/> Difüz Astrositom	
	<input type="checkbox"/> Anaplastik Astrositom	
	<input type="checkbox"/> Oligodendrogliom	
	<input type="checkbox"/> Anaplastik Oligodendrogliom	
	<input type="checkbox"/> Oligoastrositom	
	<input type="checkbox"/> Anaplastik Oligoastrositom	
<input type="checkbox"/> Glioblastom		
Operasyon Tarihi		

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : TURAN Taylan  
 Uyruğu : TC  
 Doğum tarihi ve yeri : Ankara 29/06/1984  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0505 842 8165  
 e-mail : taylanturan35@gmail.com  
 Adres : Emniyet Mah. Taç Sok. No: 3



Eğitim Durumu		Mezuniyet Tarihi
<b>Doktora</b>	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı <b>Tez adı:</b> Gliomada ACE ve ACE Reseptör Polimorfizmi ile Bazı Anjiyojenik Markerlerin Serum ve Doku Düzeylerinin Değerlendirilmesi	2012 - Devam ediyor
<b>Yüksek Lisans</b>	İzmirYüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Kimya Anabilim Dalı <b>Tez adı:</b> Changes in Protein Profiles in Bortezomib Applied Multiple Myeloma Cells	2008-2011
<b>Lisans + Tezsiz Yüksek Lisans</b>	Dokuz Eylül Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi, Kimya Öğretmenliği Bölümü	2003-2008
<b>Lise</b>	Ankara Sincan Süleyman Demirel Anadolu Lisesi	2002

Akademik Geçmiş		Göreve Başlama ve Görevden Ayrılma Tarihleri
<b>Araştırma Görevlisi</b>	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı	06.11.2012 - Devam Ediyor
<b>Araştırma Görevlisi</b>	İzmirYüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Kimya Anabilim Dalı	10.01.2012 - 02.11.2012
<b>Araştırma Görevlisi</b>	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kimya Anabilim Dalı	30.06.2011 - 26.12.2011

<b>Yayınlar</b>	
<b>Araştırma Makaleleri</b>	
<b>1</b>	<b>Turan T.</b> , Torun F.M., Atalay F., Gönenç A. (2017). Assessment of Vitronectin, Soluble Epithelial-Cadherin and TGF- $\beta$ 1 as a Serum Biomarker with Predictive Value for Endometrial and Ovarian Cancers. <i>Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences</i> , 14(2), 141-147.
<b>2</b>	<b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G., Baran Y. (2013). Changes in Protein Profiles of Multiple Myeloma Cells in response to Bortezomib. <i>Leukemia Lymphoma</i> , 54(5), 1061-1068. Doi: 10.3109/10428194.2012.735668.
<b>3</b>	İlgü H., <b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G. (2011). Preparation Characterization and Optimization of Chitosan Nanoparticles as Carrier for Immobilization of Thermophilic Recombinant Esterase. <i>Journal of Macromolecular Science, Part A</i> , 48(9), 713-721. Doi: 10.1080/10601325.2011.596050.
<b>4</b>	<b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G. (2011). Unprecedented Insights of Cancer by Proteomics Profiling. <i>Journal of Proteins and Proteomics</i> , 2(1), 55-64.
<b>5</b>	Şanlı Mohamed G., <b>Turan T.</b> , Ekiz H.A., Baran Y. (2011). The Importance of Protein Profiling in the Diagnosis and Treatment of Hematologic Malignancies. <i>Turkish Journal of Hematology</i> , 28(1), 1-14. Doi: 10.5152/tjh.2011.01.
<b>Kongre Katılımları</b>	
<b>Sözlü Bildiriler</b>	
<b>1</b>	<b>Turan T.</b> , Gönenç A., Atalay F., Torun F.M. (2015). E-Cadherin and TGF- $\beta$ 1 Levels in Patients with Endometrial and Ovarian Cancers. <i>Gazi Pharma Symposium Series (GPSS)</i> , Ankara/Türkiye, (O3), 52.
<b>Poster Sunumları</b>	
<b>1</b>	Taşkan T., <b>Turan T.</b> , Oğuz S., Karakoç M.A., Arslan İ.E., Gönenç A. (2019). Evaluation of TOS, OSI and CRP Levels in Subclinical Hyperthyroidism and Subclinical Hypothyroidism Patients. <i>International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences</i> , Ankara/Türkiye, (P12), 15.
<b>2</b>	<b>Turan T.</b> , Özaydın B., Emmez Ö.H., Işık Gönül İ., Kibar U., Gönenç A. (2019). The Evaluation of VEGF -2578C/A Polymorphisms in Glioma. <i>International Hippocrates Congress on Medical and Health Sciences</i> , Ankara/Türkiye, (P14), 18.
<b>3</b>	Oğuz S., Taşkan T., <b>Turan T.</b> , Karakoç M.A., Arslan İ.E., Gönenç A. (2018). Subklinik Hipotiroidili ve Subklinik Hipertiroidili Hastalarda Serum Chemerin ve Vaspin Düzeyleri. 8. <i>Türkiye Tiroid Hastalıkları Kongresi</i> , Ankara/Türkiye, Abstract: 0105 (P-17), 25.
<b>4</b>	<b>Turan T.</b> , Pekel A., İtemir Duvan Z.C., Gönenç A. (2018). Predictive Value of Serum Inhibin B Concentration in Women with Unexplained Infertility. <i>12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS)</i> , Ankara/Türkiye, (P-398), 350-351.

5	Taşkan T., <b>Turan T.</b> , Pekel A., İltemir Duvan Z.C., Gönenç A. (2018). Serum Carbonic Anhydrase 1 and TOS Levels in Patients with Unexplained Infertility. <i>12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS)</i> , Ankara/Türkiye, (P-399), 351-351.
6	<b>Turan T.</b> , Bıykoğlu F., Duru E., Gönenç A. (2017). Evaluation of Vascular Endothelial Growth Factor Levels and Serum Angiotensin-Converting Enzyme Activity in Hyperlipidemia and Coronary Artery Disease. <i>FASEB Journal</i> , 31 (999.10), <i>Experimental Biology (EB)</i> , Chicago/ABD, (D196).
7	<b>Turan T.</b> , Pekel A., İltemir Duvan Z.C., Gönenç A. (2016). Investigation of The Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Polymorphism In Unexplained Infertility. <i>24th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology Infertility (COGI)</i> , Amsterdam/Hollanda.
8	<b>Turan T.</b> , Gönenç A., Soyağır A., Kaya Mızrak D. (2015). Serum Vitronectin Levels and Antioxidant Status in Pancreatic and Colorectal Cancer. <i>1st International Brain Research School</i> , Isparta/Türkiye, (P3), 427-427.
9	<b>Turan T.</b> , Gönenç A. (2015). The Investigation of the Effect of Some Histone Deacetylase Inhibitors on Angiogenesis in Glioma. <i>1st International Brain Research School</i> , Isparta/Türkiye, (P2), 426-427.
10	<b>Turan T.</b> , Soyağır A., Gönenç A., Tarhan A.O., Kaya Mızrak D., Erk N. (2015). Serum TGFβ and E-Cadherin Concentrations in Pancreatic and Colorectal Cancer Patients. <i>11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS)</i> , Ankara/Türkiye, (P166), 231-232.
11	<b>Turan T.</b> , Gönenç A., Atalay F., Torun F.M. (2013). Changes in Serum Vitronectin Levels in Endometrial and Ovarian Cancers Compared to Healthy Controls. XXV. <i>Ulusal Biyokimya Kongresi (UBK)</i> , İzmir/Türkiye, (P128).
12	Baran Y., <b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G. (2012). Changes in Protein Profiles of Multiple Myeloma Cells in response to Bortezomib. <i>17th Congress of European Hematology Association (EHA)</i> , Amsterdam/Hollanda, (0823), 337-337.
13	<b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G., Baran Y. (2011). Bortezomib Uygulanan Multipl Miyelom Hücrelerinin Protein Profillerindeki Değişimlerim Proteomiks Yaklaşım ile Belirlenmesi. <i>37. National Hematology Congress</i> , Ankara/Türkiye, (P006), 57-58.
14	Zeybek A., <b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G. (2011). Characterization of Immobilized Thermophilic Recombinant Esterase on Chitosan Nanoparticles. <i>International Conference on Enzyme Science and Technology (ICEST)</i> , Aydın/Türkiye, (PP71), 112.
15	<b>Turan T.</b> , İlgü H., Şanlı Mohamed G. (2010). Preparation of Thermophilic Recombinant Esterase Loaded on Chitosan Nanoparticles and Influence on Immobilization Efficiency. <i>Chemical Physics Congress-IX (CPC-IX)</i> , İzmir/Türkiye, (P118).

<b>16</b>	İlgü H., <b>Turan T.</b> , Şanlı Mohamed G. (2010). Immobilization and Characterization of Thermophilic Recombinant Esterase on Chitosan Nano particles. <i>6th Nanoscience and Nanotechnology Conference (NanoTR)</i> , İzmir/Türkiye, (PP653), 293-293.
-----------	---

<b>Proje Görevleri</b>		
GAZİ BAP	Açıklanamayan İnfertilitede Serum Anti Karbonik Anhidraz I Antikorları ve Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi, 07/05/2018 - Devam Ediyor.	Araştırmacı
GAZİ BAP	Tiroid Hastalıklarında Yeni Adipokinler, Oksidatif Stres ve İnflamasyon Belirteç Düzeylerinin İncelenmesi, 24/10/2017 - Devam Ediyor.	Araştırmacı
TÜBİTAK-3001	Gliomda ADE ve ADE Reseptör Polimorfizmi ile Bazı Anjiyojenik Markerlerin Serum ve Doku Düzeylerinin Değerlendirilmesi, 01/07/2017 - Devam Ediyor.	Bursiyer
GAZİ BAP	İnfertilite hastalarında Angiotensin Converting Enzyme ACE Polimorfizminin İncelenmesi, 13/02/2015 - 16/11/2016.	Araştırmacı
TÜBİTAK-1002	Kitosan Nano parçacıklar İle Rekombinant Esteraz Enziminin İmmobilizasyonu, 01/04/2011 - 01/02/2012.	Bursiyer

<b>Ödüller</b>		
<b>1</b>	Silver Rose Young Investigator Award, Cellular Neuroscience and Oxidative Stress Society.	Türkiye, 2015
<b>2</b>	Poster Birinciliği, Cellular Neuroscience and Oxidative Stress Society.	Türkiye, 2015
<b>3</b>	Poster Üçüncülüğü, Cellular Neuroscience and Oxidative Stress Society.	Türkiye, 2015
<b>4</b>	Travel Grant Award, European Hematology Association.	Hollanda, 2012
<b>5</b>	Genç Katılımcı Ödülü, Türk Hematoloji Derneği.	Türkiye, 2011
<b>6</b>	Cover Page, Yayının Kapak Yayını Seçilmesi, Journal of Proteins And Proteomics.	Hindistan, 2011

<b>İdari Görevler</b>		
<b>1</b>	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Fakülte Öz Değerlendirme Komitesi	2016 - Devam Ediyor
<b>2</b>	Yaşam Bilimleri Derneği Hücre Kültürü ve Uygulamaları Kursu II, Düzenleme Komitesi	20-22/02/2019

<b>Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler</b>		
1	Yaşam Bilimleri Derneği Yönetim Kurulu Üyesi	2018 - Devam Ediyor
2	American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics (ASPET) Üyesi	2016-2018
3	Türk Biyokimya Derneği Üyesi	2013 - Devam Ediyor

<b>Sertifikalar</b>		
1	Eğiticilerin Eğitimi Sertifikası, Eğiticilerin Eğitimi, Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Uzaktan Eğitim Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara.	08.05.2017 - 02.06.2017
2	UHPLC-Kromatografiye Giriş, HPLC, Kolonlar ve İleri Uygulama Teknikleri, GCMS-Son Teknolojiler ve Uygulama Alanları Semineri, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kütüphane Gösteri Merkezi, İzmir.	06.06.2012 - 06.06.2012

<b>Kurslar</b>		
1	Eppendorf Hücre Kültürü Semineri, Hücre kültüründe kontaminasyondan korunma, Hücre çalışmalarında karşılaşılan zorluklar, Ankara Holiday Inn Otel, Ankara.	19.04.2017 - 19.04.2017
2	XIV. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, XIVth Laboratory Animal Practice Ethics, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, Ankara.	30.10.2013 - 07.11.2013
3	TÜBA I. Kök Hücre Kursu ve V. Kök Hücre Sempozyumu, Kök Hücre, Hacettepe Üniversitesi Merkez Kampüsü Kültür Merkezi M Salonu, Ankara.	25.06.2010 - 26.06.2010
4	AKADEMİK Batı Dilleri Eğitim Kurumu Yabancı Dil Kursu, Akademik mahiyetteki eserleri rahatlıkla okuyup, anlayabileceği düzeyde Akademik İngilizce Eğitimi, İzmir.	06.03.2007 - 30.06.2008

<b>Çalıştay - Panel</b>		
1	3. ODTÜ Sinirbilim Günleri, Sinirbilimin disiplinlerarası doğası, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Kültür ve Kongre Merkezi, Ankara.	06.05.2017 - 07.05.2017
2	Tümör Belirteçleri ve Klinik Kullanımları, Tümör Belirteçleri: Biyokimyasal Yaklaşım, ODTÜ Mezunları Derneği Vişnelik Tesisleri, Ankara.	22.09.2016 - 22.09.2016

3	Lipit Araştırmaları alıştayı, Lipit Araştırmalarında Yenilikler Biyoaktif Lipitler Biyoinformatik ve Yeni Teknolojiler, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.	26.08.2016 - 26.08.2016
4	Kök Hücreye Giriş Paneli, Kök Hücre, Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dekanlık Binası 6. Kat Konferans Salonu, Ankara.	02.12.2014 - 02.12.2014
5	Proteomics : Basic Information and Application Examples, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Kütle Laboratuvarı, İzmir.	04.05.2011 - 04.05.2011
6	Meeting of the Molecular Approach to Hematologic Diseases, Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hematoloji Bölümü/Otel Ege Anemon Sağlık, İzmir.	12.03.2011 - 12.03.2011



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..*