

164238

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**TÜRK POPULASYONUNDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİ İLE PROSTAT KANSERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELMA DEMİR

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. M. HAMZA MÜSLÜMANOĞLU**

EYLÜL, 2005

KABUL VE ONAY SAYFASI

Selma DEMİR'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Türk Populasyonunda Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ile Prostat Kanseri Arasındaki İlişki" başlıklı bu çalışma, jürimiz Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

30/09/2005



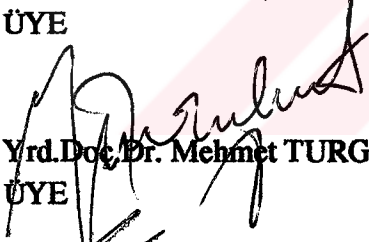
Prof.Dr. Sevilhan ARTAN
ÜYE



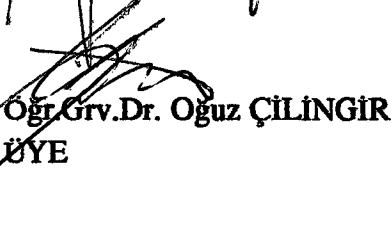
Yrd.Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR
ÜYE



Yrd.Doç.Dr. M. Hanıza MÜSLÜMANOĞLU
ÜYE



Yrd.Doç.Dr. Mehmet TURGUT
ÜYE



Öğr. Grv. Dr. Oğuz ÇİLİNGİR
ÜYE

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13.02.2005
gün ve 651/1957. sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof.Dr. Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PROSTAT	3
2.1.1. Normal Prostatın Biyolojik Yapısı	4
2.1.1.1. Prostatın Zonal Anatomisi	4
2.1.1.2. Prostatın Histolojisi	5
2.1.2. Prostat Kanseri	6
2.1.2.1. Prostat Kanserinin Etiyolojisi	7
2.1.2.2. Prostatta Premaliğn Lezyonlar	9
2.1.2.3. Prostat Kanserinin Histolojisi	11
2.1.2.4. Prostat Kanserinin Genetiği	12

2.1.2.4.1. Prostat Kanserinde Kromozomal Bozukluklar.....	12
2.1.2.4.2. Kalıtsal Prostat Kanseri.....	15
2.1.2.5. Prostat Kanseri Tarama Metodları.....	15
2.1.2.5.1. Parmakla Rektal Muayene (PRM).....	15
2.1.2.5.2. Prostat Spesifik Antijen (PSA).....	15
2.1.2.5.3. Transrektal Ultrasonografi (TRUS).....	18
2.1.2.5.4. İğne Biyopsisi.....	18
2.1.3. Bening Prostat Hiperplazisi.....	19
2.1.3.1. Bening Prostat Hiperplazisinin Etiyolojisi.....	19
2.1.3.2. Bening Prostat Hiperplazisinin Patolojisi.....	19
2.1.3.3. Bening Prostat Hiperplazisinin Patogenezi.....	20
2.2. D VİTAMİNİ.....	20
2.2.1. D Vitamininin Metabolizması.....	20
2.2.1.1. Karaciğerdeki Metabolizma.....	21
2.2.1.2. Böbreklerdeki Metabolizma.....	21
2.2.1.3. D Vitamininin Emilimi.....	21
2.2.1.4. D Vitamininin Taşınması.....	22
2.2.1.5. D Vitamininin Yıkım Ve Vücuttan Uzaklaştırılması.....	23
2.2.1.6. Serumda 1,25 (OH) ₂ D ₃ Konsantrasyonunun Düzenlenmesi.....	23
2.2.2. D Vitamininin Fizyolojik Etkileri.....	24
2.2.2.1. Mineral Homeostazının Kontrolü.....	25

2.2.2.2. Kemik ve 1,25 (OH) ₂ D ₃	25
2.2.2.3. [1,25(OH) ₂ D ₃]’ün Yeni Tanımlanan Fonksiyonları.....	26
2.3. NÜKLEER HORMON RESEPTÖRLERİ.....	28
2.3.1. Nükleer Hormon Reseptörlerinin Genel Yapısı.....	28
2.3.1.1. Hormon Cevap Elementleri.....	30
2.3.2. Vitamin D reseptörü.....	30
2.3.2.1. VDR Aksiyonunun Mekanizması.....	31
2.3.2.2. Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi.....	32
2.4. VİTAMİN D RESEPTÖR GENİ.....	34
2.4.1. Vitamin D Reseptör Geninin Yapısı.....	34
2.4.2. VDR Genindeki Polimorfizmler.....	35
2.5. PROSTAT KANSERİNDE D VİTAMİNİ.....	37
2.5.1. Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri Ve Prostat Kanseri.....	38
2.6. İNSAN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ.....	38
2.6.1. Genetik Polimorfizm Kavramı.....	39
2.6.1.1. Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri.....	39
2.6.1.2. Polimorfik Markırların Genotiplemesinde PCR’ın Kullanımı.....	40
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	42
3.1. Gereç.....	42
3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri.....	42
3.1.2. Kullanılan Gereçler.....	42

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	43
3.2. Yöntemler.....	44
3.2.1. QIAamp DNA Mini Kiti Kullanılarak Periferik Kandan DNA İzolasyonu.....	44
3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu.....	45
3.2.2.1. VDR Geni İçin Kullanılan Amplifikasyon Şartları.....	46
3.2.2.1.1. Ekzon II'nin Amplifikasyon Şartı.....	47
3.2.2.1.2. İntron VIII'in Amplifikasyon Şartı.....	47
3.2.2.2. VDR Geni İçin Kullanılan Primerler.....	47
3.2.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleazlarla Kesimi.....	47
3.2.3.1. VDR Geni Ekzon II Bölgesinin Fok I Restriksiyon Enzimi İle Kesimi.....	47
3.2.3.2. VDR Geni İntron VIII Bölgesinin Bsm I Restriksiyon Enzimi İle Kesimi.....	48
3.2.4. Enzim Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle Ayrılması.....	48
3.2.5. Jelin Görüntüleme Sistemi İle Değerlendirilmesi.....	49
3.2.5.1. VDR Geninin Fok I İle Kesim Sonucu.....	49
3.2.5.2. VDR Geninin Bsm I İle Kesim Sonucu.....	50
3.2.6. Kullanılan Çözümler.....	50
3.2.6.1. Agaroz Jel Elektroforezi Çözümleri.....	50
3.2.7. İstatistiksel Analizler.....	51

4. BULGULAR.....	53
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Genotip Frekanslarının Karşılaştırılması.....	53
4.1.1. VDR Geni Fok I Genotip Frekanslarının Hasta Ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması.....	53
4.1.2. VDR Geni Bsm I Genotip Frekanslarının Hasta Ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması.....	53
4.2. Hastaların Gleason Skorları İle Genotipleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	54
4.2.1. Prostat Kanseri Olgularında Gleason Skorları İle Fok I Genotipleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	54
4.2.2. Prostat Kanseri Olgularında Gleason Skorları İle Bsm I Genotipleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	55
4.3. Hastaların Gleason Skorlarına Göre Sınıflandırılarak Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması.....	55
4.3.1. Gleason Skoru 7 ve 7'den Büyük Hastaların Fok I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması.....	56
4.3.2. Gleason Skoru 7'den Küçük Olan Hastaların Fok I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması.....	56
4.3.3. Gleason Skoru 7 ve 7'den Büyük Hastaların Bsm I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması.....	57
4.3.4. Gleason Skoru 7'den Küçük Olan Hastaların Bsm I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması.....	58
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ.....	70
7. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	71
ÖZGEÇMİŞ.....	88

ÖZET

Bu çalışmada, Türk populasyonunda VDR geni Bsm I ve Fok I polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlanmıştır.

Prostat kanserli 75 hasta ve benign prostat hiperplazili 112 kontrolün periferik kanından elde edilen DNA'larda Bsm I ve Fok I lokusları PCR ile çoğaltılmış, ardından PCR ürünleri Bsm I ve Fok I restriksiyon enzimleri ile kesilmiş ve agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda, VDR Fok I genotip frekansları hastalarda %48.0 FF, %41.3 Ff ve % 10.7 ff; kontrollerde % 41.1 FF, % 48.2 Ff ve %10.7 ff olarak saptanmıştır. F allel frekansı hastalarda % 89.3, kontrollerde ise %89.2 olarak bulunmuştur. f allel frekansı hastalarda %52.0, kontrollerde %58.9 olarak saptanmıştır.

VDR Bsm I frekansları hastalarda % 22.6 BB, % 41.3 Bb, % 36.0 bb; kontrollerde %33.9 BB, % 42 Bb ve % 24.1 bb olarak saptanmıştır. B allel frekansı hastalarda %64.0, kontrollerde % 75.9 olarak bulunmuştur. b allel frekansı hastalarda % 77.3, kontrollerde % 66.1 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak, Türk populasyonunda Fok I ve Bsm I genotip dağılımlarının prostat kanseri hastaları ve kontrollerde istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermediği ($P > 0.05$), dolayısıyla bu polimorfizmlerin prostat kanseri tanısında genetik markır olarak kullanılmaya uygun olmadıkları görülmüştür. Hastaların histopatolojik bulgulara göre gruplandırılması da sonucu değiştirmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Prostat Kanseri, VDR, Fok I, Bsm I, Polimorfizm

SUMMARY

In this study, we aimed to investigate the association between VDR gene Bsm I and Fok I polymorphisms with prostate cancer in Turkish population.

In the DNA's extracted from peripheral blood of 75 prostate cancer cases and 112 benign prostatic hyperplasia controls, Bsm I and Fok I locuses were amplified by PCR. Subsequently, PCR products have been digested by Bsm I and Fok I restriction enzymes and results were analysed by agarose gel electrophoresis.

As result, VDR gene Fok I genotype frequencies were 48.0%, FF, 41.3 %, Ff, 10.7 % ff in the cases; 41.1 %, FF; 48.2 %, Ff; and 10.7 %, ff in the controls. The frequencies of F alleles in the cases were 89.3 %, and were 89.2 % in the controls. The frequencies of f alleles were 52.0 % in the cases and were 58.9 % in the controls.

VDR gene Bsm I genotype frequencies were 22.6 %, BB, 41.3, Bb, 36.0 % bb in the cases; 33.9 %, BB; 42.0 %, Bb; and 24.1 %, bb in the controls. The frequencies of B alleles in the cases were 64.0 %, and were 75.9 % in the controls. The frequencies of b alleles were 77.3 % in the cases and were 66.1 % in the controls.

In conclusion, Fok I and Bsm I genotype distribution between prostate cancer cases and controls were not significantly different ($P>0.05$) in the Turkish population. So, according to this study, we conclude that these polymorphisms are not usefull as markers of prostate cancer. Stratification of cases and according to pathological findings did not changed the results.

Keywords: Prostate Cancer, VDR, Fok I, Bsm I, Polymorphism

SEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Normal prostat anatomisi.....	3
Şekil 2.2. Prostatın zonal anatomisi.....	4
Şekil 2.3. D vitamininin metabolizması.....	22
Şekil 2.4. Nükleer hormon reseptörlerinin yapısının şematik gösterimi.....	29
Şekil 2.5. Nükleer hormon reseptörlerinin DNA bağlama domaininin yapısı.....	29
Şekil 2.6. VDR'nin aksiyon mekanizmasına ilişkin bir model.....	33
Şekil 2.7. VDR geni DNA, mRNA ve domain yapılarının şematik gösterimi.....	35
Şekil 2.8. Vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin şematik gösterimi.....	36
Şekil 2.9. Polimorfik markırların genotiplemesinde PCR'ın kullanımı.....	41

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Fok I restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan fragmentlerin jel görüntüsü.....	49
Resim 3.2. Bsm I restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan fragmentlerin jel görüntüsü	50



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Türkiye’de erkeklerde en çok görülen on kanser türü.....	6
Çizelge 2.2. Gleason dereceleme sistemi.....	12
Çizelge 2.3. Prostat kanserinde bozukluk gösteren genlerin özeti.....	14
Çizelge 2.4. 1,25(OH) ₂ D ₃ ’ün serum konsantrasyonunun kontrolünde yer alan anahtar faktörler ve hedef enzimlerin özeti.....	24
Çizelge 2.5. D vitamininin fonksiyonları ve hedef dokulara ilişkin bir özet.....	27
Çizelge 4.1. Hastalarda Gleason skor dağılımı.....	52
Çizelge 4.2. VDR geni Fok I genotip frekanslarının kanser olguları ve kontrollerdeki dağılımı.....	53
Çizelge 4.3. VDR geni Bsm I genotip frekanslarının kanser olguları ve kontrollerdeki dağılımı.....	53
Çizelge 4.4. Gleason skorlarına göre hastaların fok I genotip frekansları.....	54
Çizelge 4.5. Gleason skorlarına göre hastaların Bsm I genotip frekansları.....	55
Çizelge 4.6. Gleason skoru 7 ve 7’den büyük hastalar ile kontrol grubunun fok I genotip dağılımlarının karşılaştırılması.....	56
Çizelge 4.7. Gleason skorları 7’den küçük hastalar ile kontrol grubunun fok I genotip dağılımının karşılaştırılması.....	55
Çizelge 4.8. Gleason skoru 7 ve 7’den büyük hastalar ile kontrol grubunun Bsm I genotip dağılımlarının karşılaştırılması.....	57

Çizelge 4.10. Gleason skoru 7'den küçük olan hastalar ile kontrol grubunun Bsm I genotip dağılımlarının karşılaştırılması.....	58
Çizelge 5.1. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda kullanılan grupların özellikleri.....	65
Çizelge 5.2. Çalışmalarda elde edilen Fok I genotip dağılımları.....	67
Çizelge 5.3. Çalışmalarda elde edilen Bsm I genotip dağılımları.....	68



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
μl	Mikrolitre
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25 Dihidroksivitamin D
AF-1	Otonom Transaktivasyon Fonksiyonu
AF-2	Ligand Bağımlı Transaktivasyon Fonksiyonu
AR	Androjen Reseptörü
ARC	Activator Recruited Cofactor
bç	Baz çifti
BPH	Benign Prostat Hiperplazisi
BRCA2	Breast Cancer Susceptibility Gene
CD44	CD44 antijeni
CDH1	Cadherin 1 (E-cadherin)
cDNA	Complementary DNA
CHEK2	CHK2 Checkpoint Homolog
COOH Terminal	Karboksi Terminal
CoR	Corepressor
CTU	C Terminal Uç
CYP17	Cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1
CYP24	25-hidroksivitamin D 24-hidroksilaz
CYP27B1	1 alfa hidroksilaz
D ₂	Ergokalsiferaol

D ₃	Kolekalsiferol
DBD	DNA Bağlama Domaini
DHT	Dihidrotestosteron
DRIP	Vitamin D Interacting Protein
EDTA	Etilendiaminotetra Asetikasit
ELAC-2	ElaC homolog 2
GSTP1	Glutatyon-S-transferase pi-class
HPC1	Hereditary Prostate Cancer 1
HPCX	Hereditary Prostate Cancer X
IGFBP	Insulin- Like Growth Factor Binding Protein
IL-12	Interleukin-12
KAI1	“kang ai” prostat kanseri antimetastaz geni
kb	Kilobaz
KLF-6	Kruppel-like Factor 6
LBD	Ligand Bağlama domaini
LOH	Loss Of Heterozygosity
mg	Mikrogram
MgCl ₂	Magnezyumklortür
ml	Mililitre
MSR1	Macrophage scavenger receptor 1
MYC	Avian Myelocutomatosis Viral Oncogene Homolog
NADPH	Nikotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate
NH ₂ Terminal	Amino Terminal

NKX3.1	NK Homeobox Family 3A Homolog
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIN	Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
PON1	Paraoxonase 1
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Reseptor
PRM	Parmakla Rektal Muayene
PSA	Prostat Spesifik Antijen
PSAD	PSA dansitesi
PSAV	PSA velositesi
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
PTH	Paratiroid Hormon
RAC3	Ras-related C3 Botulinum Toxin Substrate 3
RAR	Retinoik Asit Reseptörü
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNASEL	Ribonuclease L
RT-PCR	Reverse Transcriptase PCR
RXR	Retinoid X Reseptörü
SRC-1	V-src sarcoma
SRD5A2	Steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 2
TBE	Tris- Borik Asit- EDTA
TIF2	Nuclear Receptor Coactivator 2
TP53	Tümör proteini p53
TR	Tiroid Reseptörü

TRUS	Transrektal Ultrasonografi
VDR	Vitamin D Reseptörü
VDRE	Vitamin D Response Element



1. GİRİŞ VE AMAC

Prostat kanseri sebepleri ve gelişimi açısından son derece heterojen bir yapıya sahip olup, bütün dünyada erkekler arasında önemli bir sağlık problemidir (30). Prostat kanserinin epidemiyolojisi tam olarak netleştirilememekle birlikte, ileri yaş, aile öyküsü ve etnik kökenin prostat kanserinde önemli oldukları bu güne kadar elde edilen verilerle ortaya koyulmuştur. Bir çok kanser türünde olduğu gibi, prostat kanserinde de erken tanı ve tedavi son derece büyük önem taşımaktadır. Uzun yıllardır prostat kanseri tanısında prostat spesifik antijen (PSA) taraması, transrektal ultrasonografi (TRUS), parmakla rektal muayene (PRM) ve iğne biyopsisi gibi yöntemler kullanılmaktadır (69). Prostat kanserinde genetik markır arayışı da, bu konuda pek çok farklı çalışmanın yapılmasını sağlamıştır (99).

1990 yılında Schwartz ve Hulka'nın D vitamini eksikliğinin prostat kanseri için risk faktörü olabileceği yönündeki hipotezleri, D vitaminin prostat kanseri etiolojisindeki önemini araştıran pek çok çalışmaya öncülük etmiştir (105). Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda, D vitaminini prostat kanseri hücrelerinde antiproliferatif ve farklılaşmayı indükleyici etkileri olduğuna dair kanıtlar elde edilmiş ancak analitik epidemiyolojik çalışmalardan net bir sonuca varılamamıştır (1, 23, 88).

D vitamininin biyolojik etkilerine vitamin D reseptör geni (VDRg)'nin sentezlettiği vitamin D reseptörü aracılık etmektedir. VDR geni üzerinde bir çok tek nükleotid polimorfizmi tanımlanmıştır. Vitamin D reseptör genindeki polimorfizmlerin, D vitamini ile yakından ilişkili olan osteoporoz gibi bazı hastalıklarda etkili olabileceğini bildiren araştırmalardan sonra çalışmalar prostat kanserinde de bu polimorfizmlerin etkili olup olmadığı konusuna yönelmiştir.

Vitamin D reseptör genindeki polimorfizmlerin prostat kanserindeki önemini araştıran çalışmalarda birbirinden çok farklı sonuçlara varılmıştır. Hastalığın ırklar arasında insidans bakımından farklılık gösteriyor olması, genel bir değerlendirme yapmayı güçleştirmektedir.

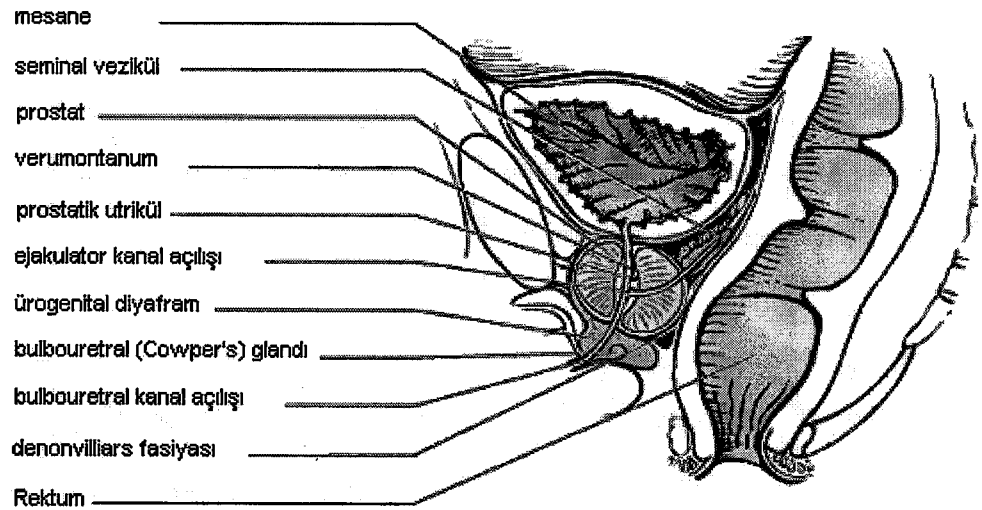
Vitamin D reseptör gen (VDR) polimorfizmlerinin fonksiyonel önemlerine ilişkin araştırmalarda da çok çeşitli sonuçlara varılmıştır. Bu güne kadar elde edilen veriler doğrultusunda VDR geninde, VDR proteininin yapısını etkileyen tek polimorfizmin Fok I polimorfizmi olduğu görülmüştür (121). Fok I polimorfizmi, vitamin D reseptör geninde iki farklı potansiyel başlangıç kodonunun oluşumuna yol açmaktadır. Fok I polimorfizminin varlığı halinde, başlangıç kodonu üç aminoasit kaymakta ve 424 yerine 427 amino asit uzunluğunda VDR proteini sentezlenmektedir (f varyantı). Yapılan çalışmalarda, kısa proteinin (F varyantı) transkripsiyonel aktivitesinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (6, 67, 118, 121). İn vitro çalışmalarda, vitamin D reseptör geninin 3' ucunda yer alan polimorfizmlerden biri olan Bsm I polimorfizminin fonksiyonel önemi olup olmadığı araştırılmış, bu polimorfizmin fonksiyonel olmadığı bildiren çalışmalar yapılmıştır (45). Fok I ve Bsm I polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisini araştıran bir çok çalışma yapılmış ancak bu çalışmalarda çok çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (12, 25, 26, 28, 46, 50, 58, 64, 74, 77, 79, 81, 94, 116, 122, 123, 124).

Bu alışmada, Türk popülasyonunda VDR geni Fok I ve Bsm I polimorfizmlerinin prostat kanseri hastaları ve kontroller arasında risk belirlemeye yardımcı olabilecek ölçüde farklı olup olmadığını saptamayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PROSTAT

Prostat mesanenin hemen altında uzanan idrar kanalını çevreleyen sıkıştırılmış, tersyüz edilmiş konik bir bez olarak yerleşmiş fibromuskuler ve glanduler bir organdır (Şekil 2.1). Bezin yaklaşık %30'u müküller doku, kalanı glanduler epitelden oluşmuştur. 30-50 adet tubuloalveolar ve sakküler bezden meydana gelen prostatta bezler 16-32 kanal halinde colliculus seminalisin (Veru montanum) iki yanında üretraya açılır. Prostat bezinin ortalama boyutları, transvers olarak 3.5 cm vertikal ve anterioposterior eksenlerde 2.5 cm olarak ölçülmüştür. Ağırlığı 18 gr kadardır. Gland, fibromüküler elemanları ile devam eden bir fibromüküler stromaya sahiptir. Bu da mesanenin düz kasları ile bağlantılıdır. Bu fibromüküler stroma, prostatik kapsülü oluşturmak için glandın periferinde yoğunlaşır. Prostat, fibröz dokudan oluşan diğer bir fasiya ile çevrelenir. Zengin venöz pleksusların gömülü olduğu bu fibröz doku, anteriorda puboprostatik ligament ile devam eder, posteriorda rektumu prostattan ayıran Denonviliers fasiyasının kalın tabakasını oluşturur (5).

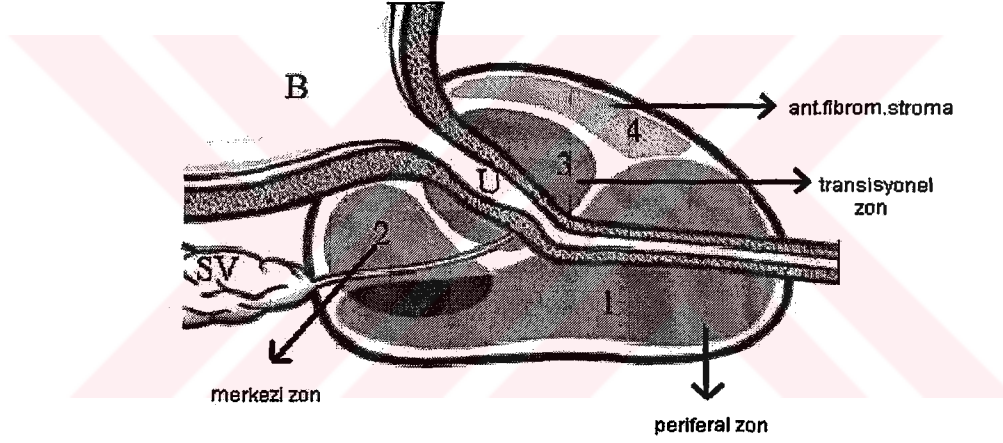


Şekil 2.1. Normal prostat anatomisi (69).

2.1.1. Normal Prostatın Biyolojik Yapısı

2.1.1.1. Prostatın Zonal Anatomisi

Lowsley sınıflandırmasına göre prostat, anterior, posterior, medyan, sağ lateral ve sol lateral olmak üzere 5 lob içermektedir (5, 69). Ancak, prostatın gelişimi ve yapısının anlaşılması bezin beş loba ayrılmasının hiçbir anatomik gerçeği açıklamadığını göstermiştir. Yetişkin prostatı üzerindeki ayrıntılı anatomik ve histolojik çalışmalardan sonra McNeal ve arkadaşları, prostatı dört anatomik zona ayırarak incelemeyi uygun bulmuşlardır (Şekil 2.2). Bu zonlar; periferal zon, merkezi zon, transisyon zonu ve anterior fibromuskuler stroma olarak adlandırılır (5, 54, 69, 104).



Şekil 2.2. Prostatın zonal anatomisi (54). 1.periferal zon, 2.merkezi zon, 3.transisyon zonu, 4.anterior fibromuskuler stroma, B: mesane, U:üretra, SV: seminal vezikül

Periferal Zon:

Glandın postero-inferior açısını oluşturur ve prostat hacminin %70'ini kapsar. Prostat kanserlerinin büyük bir kısmının geliştiği zondur.

Merkezi Zon:

Prostat hacminin %25'ini oluşturur ve ejakulator kanalları içerir. Glandüler yapılardan oluşur, verumontanumun arkasında üretrayı saracak biçimde yerleşmiştir. Birbirlerine bitişik oldukları için santral zon ile transisyonel zon arasındaki ayrımı yapmak zordur. Genellikle prostatitis gibi enfeksiyonlara yataklık eden zondur.

Transisyonel zon:

Prostat hacminin yalnızca %5 ini oluşturur. Distal ve proksimal üretranın birleşim yerinde, üretranın hemen çevresinde yer alan küçük bir grup glandüler elemandan oluşmuştur. İyi huylu prostat büyümelerinin çoğu ve prostatik adenokarsinomaların yaklaşık %25'i bu zondan kaynaklanmaktadır.

Anterior Zon:

Glanduler yapı içermez, fibromuskuler yönden zengindir.

2.1.1.2. Prostatın Histolojisi

Prostat, bazal ve sekretuar epitel hücreler ile sınırlanmış kanallar ile birlikte dallanan glandlardan oluşmaktadır. Dağılmış halde nöroendokrin hücreler de bulunur ve bezde parakrin fonksiyonlara olanak tanıdıkları düşünülmektedir. Sekretuar epitelyal hücreler glanddaki ana hücre tipini oluşturmaktadır ve büyüme için androjene bağımlı olup, prostat spesifik antijen (PSA) ve prostatik asit fosfotaz üretirler. Bazal tabaka büyüme için androjene bağımlı değildir ve epitelyal prostat hücreleri için kök hücre popülasyonu içerdiklerine inanılmaktadır. Glandı çevreleyen stroma, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve sinir hücreleri içermektedir. Stromal epitelyal etkileşimler çok iyi anlaşılmasa da son zamanlardaki görüşler stromanın prostat kanseri için olduğu kadar normal prostat gelişimi için de önemli olan bir çok büyüme faktörünü ürettiği yönündedir.

Prostatı, böbrektekine benzer anlamda çevreleyen tam bir kapsül bulunmamaktadır. Prostatik stromanın düz kası, giderek, gevşek bağ doku ve adipöz dokuda sonlanan fibröz dokuya dönüşmektedir. Günümüzde prostatın sekretuar ürünleri ve bunların infertilite ile ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak, bir erkek üreme organı olarak prostatın temel rolü semen hacminin yaklaşık %30'unu meydana getiren prostatik sıvıyı salgılamaktır. Sperm hareketi ve beslenmesine prostatik sıvı ve onun oluşturduğu çevre katkıda bulunmaktadır. Prostatik sıvı sitrik asit, kalsiyum, çinko, asit fosfotaz ve fibrinolizin de içeren alkalın bir sıvıdır (54, 104).

2.1.2. Prostat Kanseri

Prostat kanseri dünyada, erkeklerde en sık gözlenen kanserler arasında yer almaktadır. Türkiye'de erkeklerde en çok görülen kanserler arasında 6. sıradadır (57).

Çizelge 2.1. Türkiye'de erkeklerde en çok görülen on kanser türü (57).

ERKEKLERDE EN ÇOK GÖRÜLEN ON KANSER TÜRÜ, 1999

ORGANLAR	VAK'A	%	İNSİDANS (Yüzbinde)
TOPLAM	16.023	100	48,30
Akciğer	4.707	29,38	14,19
Mide	1.315	8,21	3,96
Mesane	1.165	7,27	3,51
Larenks	900	5,62	2,71
Deri	804	5,02	2,42
Prostat	836	5,22	2,52
Kemik iliği	573	3,58	1,73
Kolon	558	3,48	1,68
Beyin	545	3,40	1,64
Rektum	451	2,81	1,36
Diğerleri	4.169	26,02	12,57

2.1.2.1. Prostat Kanserinin Etiyolojisi

Prostat kanseri etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Pek çok faktör tek veya beraberce etkili olabilir. Üzerinde durulan risk faktörleri arasında, yaş, etnik köken/coğrafik yerleşim ve aile öyküsü yer almaktadır (5, 40, 114).

Yaş ve prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar, prostat kanser riskinin 55 yaşından sonra çok net bir biçimde artmaya başladığını ve 70-74 yaş civarında pik yaptığını göstermektedir. Otopsi çalışmaları prostat kanserinin uzun bir indüksiyon periyoduna sahip olduğunu ve yeni tanı konan bir çok hastanın aslında 20 ve 30'lu yaşlarda prostat kanser lezyonlarına sahip olduğunu göstermektedir (114).

Birçok çalışmada, prostat kanseri hastalarının akrabaları arasında prostat kanseri insidansının yüksek olduğu ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalar prostat kanserinin kalıtsal formlarının olduğunu göstermiştir. Kalıtsal prostat kanseri daha erken ortaya çıkan hastalıkla ilişkilidir (5, 114). Kalıtsal prostat kanserleri 55 yaşın altında ortaya çıkan prostat kanserlerinin %43'ünü, tüm prostat kanserlerininse %9'unu oluşturmaktadır. Kalıtsal prostat kanserlerinin geçişi, otozomal dominant kalıtım kalıbı ile uyumlu gözükmektedir (40, 114).

Farklı yerleşim alanlarında prostat kanseri insidansı bakımından farklılıklar saptanmıştır (5, 40, 114). Prostat kanseri insidansı Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde yüksek, Güney Amerika bölgesinde orta derecede, Uzak Doğu ülkelerinde ise düşüktür (114). Afrika kökenli Amerikalılarda görülme oranı Çin Shanghai'daki erkeklerdeki orandan 60 kat daha fazladır. Bu farklılıkta erken tanı ve tarama yöntemlerinin etkinliği gibi faktörlerin rolü olduğu düşünülse de, ölüm oranı gibi, bu tip farklılıkların çok büyük etkisinin olmadığı oranlarda da belirgin farklar mevcuttur. Göçmenlerle yapılan araştırmalar da çarpıcı sonuçlar vermiştir. Japon kökenli Amerikalılar Japonya'da yaşayan ırkdaşlarından 43 kat daha fazla yüksek risk altındadırlar (53).

Beslenmenin prostat kanseri insidansı üzerine etkisini araştıran çalışmalar da yapılmıştır (5, 114). Yağlı ve yüksek kolesterol içeren diyetle beslenme ve prostat kanser insidansı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar bir bütün olarak değerlendirildiğinde yüksek doymuş yağ oranı içeren diyetle beslenme ve prostat kanseri arasında küçük bir pozitif korelasyon (rölatif risk 1.3-2.0) saptanmıştır. Kırmızı et bakımından zengin bir diyet için de benzer sonuçlar söz konusudur (40, 68). Son zamanlarda D vitamininin aktif formu olan 1,25(OH)₂D₃ dolaşımdaki yüksek seviyelerinin prostat kanser riskini azalttığını bildiren bir çok araştırma yapılmıştır ancak bu konudaki veriler çelişkilidir (30, 34, 40, 43, 62, 76, 96).

Bakteriyal ve viral ajanların prostat kanseri üzerine epidemiyolojik etkisini araştıran çalışmalar yapılmış ancak çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (114).

Erkek hormonlarının prostat kanseri üzerine etkisi bir çok araştırmaya konu olmuştur. Prostat kanseri hadım edilen erkeklerde görülmemektedir (114). Prostat kanserlerinin birçoğu hormona duyarlıdır ve erkek hormonlarının varlığında hızla büyümektedirler. Kastrasyon prostat kanseri gelişiminde gerilemeye sebep olmaktadır (40, 114). Testosteron rat prostat kanserinin promotorudur. McNeal'ın gözlemleri prostat kanserinin, atrofik glandlardan çok geç görünümlü ve olasılıkla erkek hormonlarının kontrolü altındaki glandlarda başladığını göstermiştir (114).

Prostatın kendisi bir endokrin bez olmakla beraber, embriyolojik gelişimi dahil hayatın her döneminde hormona hassastır. Her türlü hormondan etkilenirse de, prostatik hücre proliferasyonu ve gelişiminde en önemli ve etkin olanı androjenlerdir (5).

Dolaşımdaki androjenler normal prostat gelişiminde etkin oldukları gibi, iyi huylu prostat hiperplazisi ve prostat kanserinde de etkilidirler. Karsinogenezdeki rolleri tam olarak bilinmemekle beraber, hücre büyüme ve bölünmesinde etkili oldukları düşünülmektedir. Yaşlanmayla birlikte serum testosteron seviyesi azalırken prostat kanseri insidansında artış olmaktadır (5).

Testosteron prostatta 5 α -redüktaz enzimiyle dihidrotestosterona (DHT) dönüşür. 5 α -redüktaz enzim eksikliği olan pseudohermafroditlerde prostat kanserine rastlanmamaktadır. Etnik gruplar arasında prostat kanseri insidansında değişiklikler görülmesi, DHT seviyesiyle ilgili olabilir; Japonlarda 5 α -redüktaz aktivitesi azalmış olarak saptanmaktadır (5).

Hepatik sirozda dolaşımdaki östrojenler artarken, testosteron seviyesi düşmektedir. Her iki değişikliğin de sirozlu hastalarda prostat kanseri riskinin azalmasında etkili oldukları düşünülmektedir (5).

Androjenlerin prostat kanserinin indüksiyonu, promosyonu veya progresyonuna olan etkileri tam anlaşılammakla birlikte, malign transformasyon oluştuktan sonra hücre aktivasyonu ve bölünmesinde önemli role sahip oldukları açıktır (5).

Sonuç olarak, hem genetik hem çevresel faktörlerin, erkek hormonlarının da tümör promotörü olarak ciddi anlamda eşlik etmesi ile prostat kanseri etiolojisinde önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (103, 114).

2.1.2.2. Prostatta Premaliğn Lezyonlar

Prostat kanseri genellikle prostat bezinin periferel zonunda, glandular epitelden köken alır. Solid tümör gelişiminin çok basamaklı bir olay olduğu düşünülmektedir. Prostat kanserinde kanserle sonuçlanan genetik ve epigenetik fenomenler tam olarak anlaşılammıştır (69).

Prostatik epitelyal displazi ya da atipiyi tanımlamak üzere bir çok terim kullanılmış olsa da bu heterojen morfolojik lezyonlar artık 'prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN)' başlığı altında toplanmaktadır. PIN, arkitektür olarak iyi huylu görünümü olan glandlar ve asiniler içerisinde sitolojik olarak atipik ya da displastik epitel hücrelerin bulunması olarak tanımlanmaktadır. PIN için üç farklı derece söz

konusudur; derece 1 (hafif), derece 2 (orta), derece 3 (şiddetli). Derece 2 ve 3 genelde “yüksek derece” olarak tanımlanır. PIN, prostat adenokarsinomlarına sıklıkla yakın konumlandığı için premalign lezyon olarak düşünülmüştür (14, 15, 69). Multifokal kanserlerde yüksek grade PIN lezyonları sıklıkla görülür. Otopsi çalışmaları sonucu PIN’in on yıl içerisinde prostat kanser gelişimine öncülük ettiği düşünülmektedir. Yine de, bir çok erken prostat kanseri vakasında görülmemesi sebebiyle PIN, prostat kanseri için ön koşul olarak görülmemektedir (29, 98).

Atipik adenomatöz hiperplazinin de premalign bir değişim olabileceği düşünülmekte ise de, bu konudaki veriler yetersizdir. Lezyonun arkitektür görünümü özellikle transisyon zonunda bazal hücre hattının harabiyeti açısından malignite kriterlerine uygunluk göstermektedir. Ancak kanser için diagnostik sitolojik değişikliklerden yoksundur (14, 69).

Prostat kanser gelişimi çok basamaklı bir süreçtir. Organa sınırlı tümör ilk başta prostat kapsülüne doğru genişler ve lokal lenf nodlarına komşu organlara ve nihayet uzak organlara, en çok da kemiklere metastaz yapar. Lokalize organa sınırlı kanser, radikal prostatektomi ya da radyoterapi ile tedavi edilebilmektedir. İleri prostat kanseri için genelde hormon tedavisi uygulanmaktadır. Nerdeyse tüm prostat kanserleri özünde büyümek için androjenlere ihtiyaç duyar. Androjen geri çekilmesi tümörün gerilemesine yol açmaktadır. Tedavi boyunca, hormon refrakter kanser geliştiğinde androjenden bağımsız bir kanser hücre popülasyonu da oluşmaktadır. Hormon refrakter prostat kanseri için etkili bir terapi bulunamamıştır (9, 98).

Prostat kanserinin latent tipi çok yaygındır. 70- 80 yaş civarındaki erkeklerin %50’sinden fazlasında kanserin mikroskopik lezyonları otopside saptanır (98). Bu lezyonların büyük bir kısmı prostat kanserine dönüşmez. Küçük histolojik kanserlerin agresif kansere dönüşümünü sağlayan mekanizma bilinmemektedir. Mikroskopik prostat kanserlerinin prostat kanserinin iki farklı formunu temsil ettiği düşünülmektedir: latent olarak kalanlar ve daha sonra klinik hastalığa dönüşenler (98, 106). İkisi arasındaki temel değişikliğin asıl nedeni bilinmemektedir.

2.1.2.3. Prostat Kanserinin Histolojisi

Prostat kanserlerinin %95'inden fazlası prostatik epitelyal hücrelerden kaynaklanan adenokarsinomlardır. Küçük çapta da olsa diğer histolojiler de tanımlanmıştır. Bunlar arasında, müsinöz hücre karsinomları, adenoid sistik karsinomlar, karsinoid tümörler, geniş prostatik kanal karsinomları ve küçük hücreli farklılaşmamış kanserler yer almaktadır. Bu kanserlerin bazı tiplerinde standart hormonal terapilere daha az yanıt alınabilmektedir. Nöroendokrin görünümlü tümörler (karsinoid ve küçük hücreli farklılaşmamış) prostatik epitelin bazal bölgelerinde yer alan hücrelerden kaynaklanabilmektedir. Prostatın küçük hücreli karsinomları, diğer ekstrapulmonar küçük hücre karsinomlarına benzer histolojik ve klinik özellikler gösterirler. Prostatın özünü içeren transisyonel hücre karsinomları da prostat adenokarsinomu olarak yanlış değerlendirilebilmektedir.

Birçok çalışma prostat adenokarsinomunda histolojik farklılaşmanın derecesinin primer prognostik önemini ortaya koymuştur. Farklılaşmanın derecesi tipik olarak gland formasyon paternleri ve daha az önemli olarak sitolojik detaylar ile belirlenir. Prostat adenokarsinomları için en yaygın kullanılan dereceleme sistemi Gleason tarafından geliştirilmiştir. Prostat karsinomlarındaki heterojen farklılaşmayı gözlemleyen Gleason, prostat tümörlerini iki dereceleme seviyesi temeline dayanarak sınıflamak üzere bir sistem geliştirmiştir. Gleason skorlama sisteminde primer farklılaşma paternine, bölgenin dominant morfolojisi ve normal görünümünden sapmasına göre 1 den 5 e kadar bir derece verilmektedir. İkinci en yaygın paterne de bir derece atanmakta ve sonuçta bu iki derecenin toplamından oluşan bir skor ortaya çıkmaktadır.

Gleason'un orjinal çalışmaları, yüksek Gleason skoru ile yüksek ölüm oranı arasında açık bir ilişki göstermiş bu daha sonra da doğrulanmıştır. Tümörün sitolojik karakteristikleri ya da glandı oluşturan tümörün oranı temeline dayalı alternatif sistemler de geliştirilmiştir. Ayrıca, klinik davranış için, prostat spesifik antijen (PSA), klinik aşama, tümör hacmi, DNA plojidileri, nükleer morfometri gibi diğer bir çok prediktörler araştırılmıştır. Bir çok moleküler markır da araştırılmıştır ancak Gleason

dereceleme sistemi halen prognostik olarak en uygun ve en yaygın kullanılan sistem olma özelliğini korumaktadır (69). Gleason skorlama sistemindeki derecelerin özeti çizelge 2.2 de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Gleason Dereceleme Sistemi (55).

Gleason Dereceleme Sistemi		
DERECE	HİSTOLOJİ	BİYOLOJİK DAVRANIŞ
1 ve 2	Sıkı bir şekilde paketlenmiş glandlar, sınırlanmış bir nodül	Acısız(durgun fazda) hastalık, nadiren progresif
3	Küçük, nüfuz etmeye başlamış glandlar, tam lümen oluşumu	En yaygın patern, daha agresif
4	Kaynaşmış glandlar, tam olmayan lümen oluşumu	Tümör progresyonuna işaret eder
5	Solid tabaka ya da tek hücreler, lümen oluşumu yok	Çok agresif , geç faz

2.1.2.4. Prostat Kanserinin Genetiği

2.1.2.4.1. Prostat Kanserinde Kromozomal Bozukluklar

Gerek mikrostalleit markerlar kullanılarak yapılan heterozigotluk kaybı (LOH) çalışmalarında, gerekse karşılaştırmalı genomik hibridizasyon çalışmalarında kanserde genetik materyalde meydana gelen değişiklikler ortaya koyulabilmektedir. Benzer çalışmalar prostat kanseri için de yapılmıştır. Prostat kanserinde genetik materyalde meydana gelen kayıplar, kazançlardan daha yaygındır (3, 39, 98, 120). Bu da sıklıkla delesyona uğrayan bölgelerde yer alan tümör supresor genlerin prostat tümör gelişiminde önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. İkinci olarak, kromozomal kayıpların bir çoğu erken prostat kanserinde de gözlenebilirken, amplifikasyonların

gelişmiş prostat kanserlerinde gözleniyor olması, onkogenlerin hastalığın ileri fazlarında aktive olduğu fikrini akla getirmektedir (3, 24, 35, 98, 120).

Prostat kanserinde sıklıkla kaybedilen bölgeler 6q, 8p, 10q, 13q, 16q ve 18q'dur. Bu bölgelerin prostat tümörlerinde yer alan tümör supresor genlere ev sahipliği yaptıkları düşünülmektedir (29, 36).

Kromozomal bölgelerin yüksek düzeyde amplifikasyonu prostat kanserinde, özellikle erken evrede sık gözlenen bir olay değildir. Hormon refrakter ve metastatik tümörlerde, 7p ve 7q, 8q ve Xq CGH çalışmalarında en çok artış gösteren bölgelerdir (36).

Bütün bunların dışında, DNA hipo ve hipermetilasyonu histon asetilasyonu ve deasetilasyonu gibi epigenetik değişiklikler de saptanmıştır. Prostat kanserinde hipermetile oldukları saptanan tümör süpresör genler arasında glutatyon-S-transferaz π -sınıf geni (GSTP1), E-kaderin (CDH1) ve CD44 yer almaktadır (71, 72, 75). Prostat kanserinde bozukluk gösteren genlerin özeti Çizelge 2.3'de belirtilmiştir.

Bunların dışında, BRCA2, CHEK2, 17 α -hidroksilaz, VDR, CYP17, PON1 ve 5 α -redüktaz (SRD5A2), KLF-6, ELAC-2, RNASEL, MSR1, β -katenin gibi genlerdeki mutasyonların prostat kanseri üzerine etkisi olduğunu bildiren çalışmalar yapılmışsa da, sonuçlar çelişkilidir (99).

Çizelge 2.3. Prostat kanserinde bozukluk gösteren genlerin özeti (98).

Gen Adı	Kromozomal Lokasyon	Tanımlı Fonksiyon	Prostat kanserindeki bozukluk	Kaynak
PTEN	10q13	lipid/tirozin fosfotaz	ileri tümörlerde mutasyon ve delesyon	21, 44, 112
TP53	17p13	transkripsiyon faktörü,hücre döngüsü kontrolü	ileri tümörlerde mutasyon	13, 51, 87
NIK3.1	8p21	transkripsiyon faktörü	ileri tümörlerde LOH, ekspresyon kaybı	17
GSTP1	11q13	detoksifiye edici enzim	PIN lezyonları ve karsinomalarda hipermetilasyon	18, 70, 71
CDH1	16q22	hücre adhezyonu	hipermetilasyon	42, 72
KAI1	11p11	metastaz süpresörü	azalmış ekspresyon	31, 117
CD44	11p11	hücre adhezyonu	hipermetilasyon	75, 89, 119
AR	Xq12-q13	androjen reseptörü	hormon refrakter tümörlerde amplifikasyon	120
MYC	8q24	transkripsiyon faktörü proliferasyon,farklılaşma ve apoptozu düzenler	primer ve ileri tümörlerde amplifikasyon	20, 63, 92, 101

2.1.2.4.2. Kalıtsal Prostat Kanseri

Prostat kanser lokusları bu güne dek genellikle 1q24-25, 1q42, Xq27-28, 1p36 ve 20q13'e haritalanmıştır. Yapılan çalışmalarda kalıtsal prostat kanserleri için üzerinde en çok durulan iki bölge 1q24-25'de yer alan HPC1 ve Xq27-28 bölgesinde yer alan HPCX'dir (107).

2.1.2.5. Prostat Kanseri Tarama Metodları

Prostat kanserinin erken tanısında sıklıkla kullanılan metodolar parmakla rektal muayene (PRM), prostat spesifik antijen (PSA) kan testi, transrektral ultrasonografi (TRUS) ve iğne biyopsisidir (69).

2.1.2.5.1. Parmakla Rektal Muayene (PRM)

Prostat bezinin palpe edilebilen asimetrisi ve özellikle sert nodüler alanlar bazen prostat kanserinin varlığını işaret etmektedir. PRM taramasının prostat kanserinden ölümleri %50'den %70'e kadar azaltacağını öne sürülmüş olsa da, çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. PRM'nin prensipsel olarak kısıtlı olduğu noktalar arasında, palpe edilebilir kanserlerin erken evrede olmayışı ve klinik açıdan önemli kanserlerin glandın dijital olarak palpe edilemeyen kısımlarında yer alması sayılabilir. Ancak yine de PRM, düşük maliyeti ve iyi huylu prostat hiperplazisi gibi diğer prostat anomalilerinin tanısında da yararlı olması sebebi ile prostat kanser taramalarının bir parçası olma özelliğini sürdürmektedir (69).

2.1.2.5.2. Prostat Spesifik Antijen (PSA)

Geniş kapsamlı çalışmalarda etkinliği tam olarak ortaya konamamış olsa da PSA prostat kanser taramalarında geniş çapta kullanılan bir tanı kriteridir (69). PSA ayrıca prostat kanserine spesifik değildir. Normal, benign ve malign prostat epitel hücrelerince üretilir. Malign prostat dokusu normal epitel hücrelerine ve benign prostat

hiperplazisine (BPH) göre daha az PSA üretir. Buna karşın malign dokudaki bazal membran bütünlüğünün bozulması, asini içerisindeki salgıda yoğun olarak bulunan PSA'nın interstisyuma ve oradan da lenfatiklerle kana geçerek serum PSA değerinin kanserde daha çok artmasına neden olur (5).

Prostat spesifik antijen prostatik hücrelerin sitoplazmasında salgılanan bir glikoproteindir (mol. ağı. 33.000). Yarılanma ömrü 2.2-3.5 gündür ve kodlayan gen kromozom 19q13'dedir. Seminal sıvıdaki PSA konsantrasyonu serumdakinden yaklaşık bir milyon kat daha fazladır. Bir serin proteazdır ve semenin sıvılaşmasına yardımcı olur (5, 114). Genç erişkinlerde PSA'nın normal değeri 0-4 ng/mL arasındadır. Çalışmalar BPH glandlarında PSA yükselmesinin transisyon zonunun boyutu ile orantılı olduğunu ve BPH'nın 1 gr'ının PSA'yı yaklaşık 0.3 ng/dL yükselttiğini göstermiştir. Malign dokular tarafından PSA üretimi farklılaşmanın derecesine bağlı olarak değişmekte, iyi diferansiye glandlarda PSA üretimi daha fazla olmaktadır (114).

Prostat kanseri tanısında PSA'nın duyarlılık ve spesifitesini artırmak, BPH'a bağlı PSA artışını prostat kanserine bağlı olandan ayırmak için çeşitli parametreler düşünülmüştür. Yapılan araştırmalarda iki tip serum PSA'sı olduğu ortaya koyulmuştur: kanserle ilişkili olan kompleks PSA ve BPH ile ilişkili olan serbest PSA (5).

PSA'nın gland hacmine oranı PSA dansitesidir (PSAD). PSA dansitesi (serum PSA/prostat hacmi) Benson ve arkadaşları tarafından hangi hastaların iğne biyopsisine ihtiyaç duyduğunu belirlemek için geliştirilmiştir. Kanser dokusunda gram başına seruma salınan PSA miktarı BPH dokusuna oranla daha fazla olduğundan prostat dokusunun santimetre kübüne düşen PSA'nın nanogram olarak ölçülmesi ile ortaya çıkar (114). Artmış PSA ve negatif biyopsi sonucu olan hastalarda biyopsi takibinin gerekliliği PSA velositesi ve PSA dansitesi ile belirlenebilir. PSA dansitesi (a) artmış PSA'nın BPH dan kaynaklanma ihtimalinin olduğu prostat hacmi büyük olan hastalarda (b) inisiyal biyopsinin negatif olduğu PSA'nın artış gösterdiği hastalarda faydalı olabilmektedir. Çalışmalar 0.1-0.15'in üstündeki PSA dansitesi %15 kanser insidansı ile ilişkili olduğunu, 0.15' in üzerindeki yoğunluğunsa %60 kanser ile ilişkili

olduğunu göstermiştir. Yine de PSAD'nin kullanımı ile ilgili araştırmalardan çelişkili sonuçlar gelmektedir (114). Özellikle Richie ve arkadaşlarının 5000 erkekte yaptıkları çok merkezli çalışmada PSAD sınır değeri 4.1-9.9 ng/ml arasında olanlarda kanserli vakaların yarısının atlandığı bildirilmiştir. PRM'si normal ve PSA'sı gri zonda (4-10 ng/ml) olanlarda, PSAD 0.15'in altında bile olsa %9-88 oranında kanser tesbit edilebileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca PSAD klinik olarak anlamlı kanseri (>0.2 ml) anlamsız kanserden ayırd edemez. PSAD nin duyarlılık ve spesifikliğini sınırlayan faktörler ise; TRUS ile prostat hacim ölçümünde yapılabilen %10 civarındaki hatta PSAD'nin yaşla değışiklik göstermesi ve prostatlar arasında epitel stromanın 10 misline ulaşabilen farklılığı olarak sayılabilir (5).

Bu veriler dikkate alındığında düşük PSA seviyeli daha çok genç erkek taranacak ve artmış PSA düzeyli daha az sayıda yaşlı erkek iğne biyopsisine ihtiyaç duyacaktır (114).

PSA'nın erken tanıdaki değerini artırmayı amaçlayan bir diğerkavram da zaman içinde PSA'daki değışikliklerin ölçümüdür ki bu PSA velositesi (PSAV) olarak anılmaktadır.

PSA'nın üretim ve salgılanmasındaki yaşa bağılı değışiklikleri göz önüme alan yaşa bağılı PSA değeri ilk kez Oesterling ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Yaşbağılı PSA'nın normal değeri:

- 40-49 yaş için 0-2.5 ng/ml
- 50-59 yaşlar için 0-3.5 ng/ml
- 60-69 yaşlar için 0-4.5 ng/ml ve
- 70 yaş üzeri için 0-6.5 ng/ml

olarak kabul edilir. Bu değeri kullandığında, 60 yaş altındaki PSA'nın sensitivitesi 60 yaş üstünde ise spesifitesi artmaktadır (5, 114).

Periferik kan lenfositlerinden RNA ekstrakte edilerek RT-PCR PSA (reverse transcriptase polymerase chain reaction) çalışma ile organa sınırlı kanserleri, organ dışına yayılmış veya metastaz yapmışlardan ayırmaya gayret edilmektedir. Ayrıca histokimyasal yöntemlerle, anaplastik ve hormona refrakter kanserlerde PSA membran antijeni (PSAM) yüksek bulunduğundan, bu antijenin tespitinin evre ve prognoz tayininde yararlı olduğu belirtilmiştir (5).

2.1.2.5.3. Transrektal Ultrasonografi (TRUS)

TRUS'da, tüm glandı gözlemek üzere prostat bezine karşı yerleştirilen küçük bir rektal prob kullanır. Farklı morfolojiye sahip olan alanlar farklı görüntüler oluşturacaktır. Ne yazık ki, kanser eşsiz ve güvenilir biçimde taranan ultrasonografik bir sinyale sahip değildir ve TRUS'un da tek başına kullanım için çok düşük bir spesifitesi vardır. Ancak yine de erken tarama proseslerinde önemli rol oynamaktadır. Gland boyutlarının ölçülebilmesinin ve toplam hacmin hesaplanabilmesinin etkili bir yoludur. Bu bilgi PSAD kullanılarak PSA artış sınırının değerlendirilmesinde faydalı olmaktadır. Daha da önemlisi, TRUS, diyagnostik amaçlarla prostat bezinin iğne biyopsilerinin yönlendirilmesine aracılık etmektedir (69).

2.1.2.5.4. İğne Biyopsisi

Prostat kanser riski, rektal muayene, PSA parametresi ya da bu faktörlerin birlikteliği ile artıyor ise, tanı için iğne biyopsisi gerekmektedir. Transrektal ultrason eşliğinde prostatik dokudan iğne biyopsisi ile örnekler alınmaktadır. Prostat kanseri çok odaklıdır. Tümör hücreleri bening kanallar ve asiniler içerisine infiltrasyon yapar ve genellikle belli bir tümör nodülü oluşturmaz. Bu da radyografi ya da fiziksel muayene ile tanı konabilmesini güçleştirmektedir. Ayrıca tümörün prostatta yayılımı da tek tip değildir. Bir çok araştırmacı, tanıyı optimize etmek için alınması gereken biyopsi örneği ile ilgili modeller geliştirmiştir (55).

2.1.3. Bening Prostat Hiperplazisi (BPH)

BPH, prostat glandının stromal ve epitelyal komponentlerinin malign olmayan büyümesidir. Yıllar boyunca yavaş yavaş büyüyen gland şiddetli vakalarda normal yetişkin prostatından 10 kat daha fazla büyüebilir. BPH yaşla ilişkili yaygın bir bozukluktur. Bir çok erkek asemptomatiktir. Ancak 65 yaş üzerindeki erkeklerin 3'te 1'inde klinik semptom ve belirtiler görünmektedir (80).

2.1.3.1. Bening Prostat Hiperplazisinin Etiyolojisi

BPH'nin nedeni bilinmemektedir. Yine de, yaşlanma ve hormonal faktörler net bir şekilde önem taşımaktadır. Prostat boyutunda yaşla ilişkili artışlar otopside ispatlanmıştır ve semptomların gelişimi yaşla ilişkilidir. Otopsilerden elde edilen veriler 30'lu yaşlardaki erkeklerin %10'undan daha azında, 40'lı yaşlardakilerin %40'ında, 60'lı yaşlardakilerin %70'inden daha fazlasında, 80'li yaşlardaki erkeklerin neredeyse %90'ında BPH'nin patolojik bulguları olduğunu göstermektedir. Prostatik antijen düzeyleri özellikle dihidrotestosteron düzeyleri, bu bozukluğun gelişiminde önemli rol oynamaktadır (80).

2.1.3.2. Bening Prostat Hiperplazisinin Patolojisi

Normal prostat hem stromal (düz kas) hem epitelyal (glandular) elementlerden oluşmaktadır. Bu elementlerden her biri tek veya birlikte, hiperplastik nodüllerde artışa ve nihayet BPH semptomlarına sebep olabilmektedir. Küçük nodüller bütün gland boyunca yer alabilirken BPH genellikle glandın periüretral ve transisyon zonlarından kaynaklanmaktadır. Artan yaşla birlikte nodüllerin sayı ve boyutundaki artış gibi transisyon zonunun boyutunda da bir artış olur Bu büyüme sonucu üretra sıkışmaktadır.

Prostatik nodüller hem hiperplastik glandlar hem de hiperplastik stromal kastan oluşmaktadır. Periüretral nodüllerin çoğu stromal karakterlidir ancak transisyon

zonu nodülleri daha çok glanduler doku tipindedir. Glandlar proliferatif glandlar arasında stromal kasla birlikte normalden daha büyük hale gelmektedir. Hiperplastik prostatın yaklaşık %40'ı olasılıkla düz kastr. Hücresel çoğalma belli bir alanda glandların sıkıca paketlenmesine yol açmaktadır. İçteki epitel hücrelerinin hipertrofisi de bildirilmiştir (80).

2.1.3.3. Bening Prostat Hiperplazisinin Patogenezi

BPH'nin kesin nedeni bilinmemekle birlikte, patogenezinde bir çok faktör yer almaktadır. Bunlar, yaşla ilgili prostat büyümesini, prostatik kapsülü, androjenik hormonları ve reseptörlerini stromal epitelyal etkileşimleri ve büyüme faktörlerini, detrusör cevapları kapsamaktadır (80).

2.2. D VİTAMİNİ

Vitamin D₃ vücuttaki pek çok biyokimyasal fonksiyonda görev alan yağda çözünebilen bir prehormondur. D vitamini ancak yeterince güneş ışığı olmadığı için deride sentezlenemiyorsa vitamin olarak kabul edilmelidir. D vitaminini iki formu vardır: bazı bitkilerde ve ışına maruz bırakılmış mayalarda bulunan D₂ vitamini veya ergokalsiferol ve hayvanlarda ve balık yağında doğal olarak bulunan D₃ vitamini ya da kolekalsiferol. Bu iki molekül birbirinden ergokalsiferoldeki 22. ve 23. karbonlar arasındaki çift bağ ile ayrılır (4).

2.2.1. D Vitamini Metabolizması

İnsan vücudunun Vitamin D₃ içeriğinin üçte ikisi deride, güneş ışığının etkisi ile öncül madde 7-dehidrokolesterolden sentez edilmekte, üçte biri ise diyetle alınmaktadır. 7-dehidrokolesterolün fotolizi ile previtamin D, bunun izomerizasyonu ile de D₃ vitamini oluşur (4). D₂ ve D₃ vitaminleri inaktiftirler ve karaciğer ile böbrekte meydana gelen iki hidroksilasyon basamağı (Şekil 2.3) ile aktive edilmeleri gerekmektedir (4).

2.2.1.1. Karaciğerdeki Metabolizma

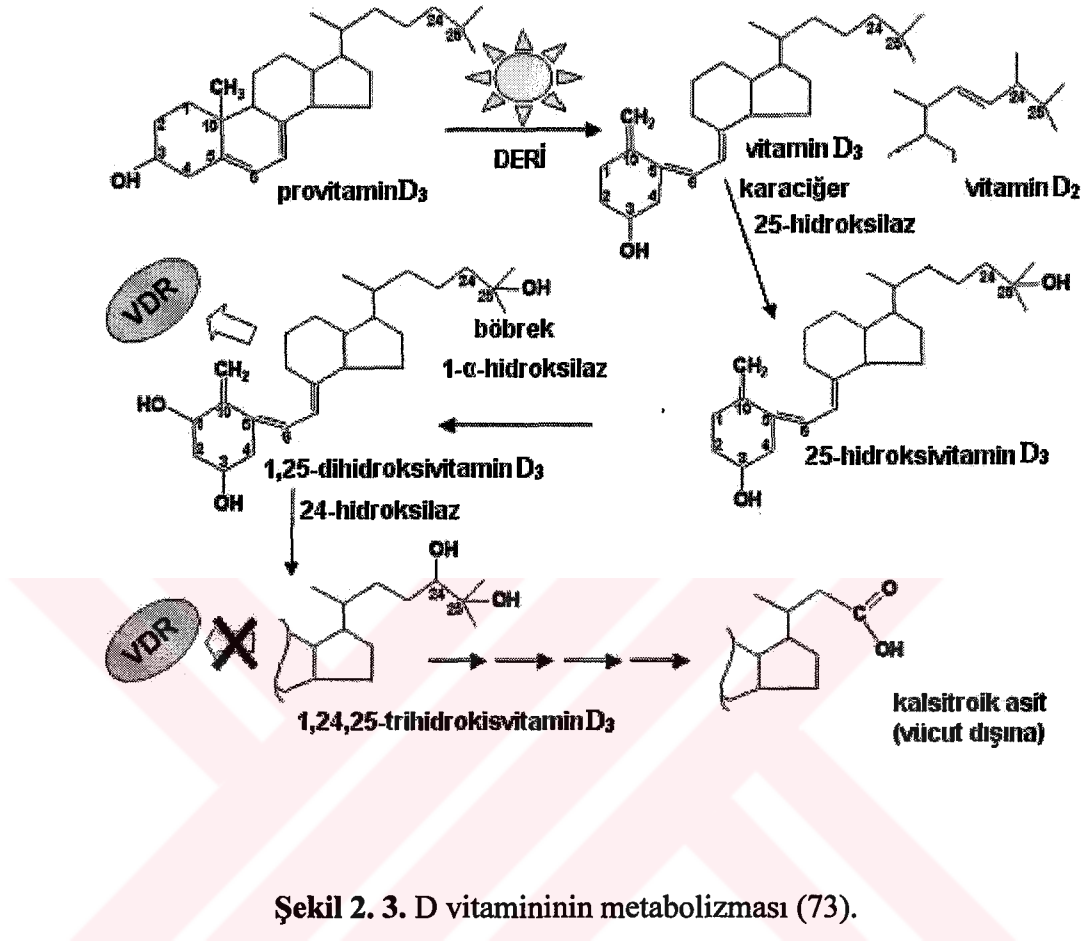
Vitamin D₃ kan dolaşımına girdiğinde onu, biyoaktivasyon için böbrek ve karaciğere taşıyan vitamin D₃ bağlayan proteine bağlanmaktadır (66). Vitamin D₃'ün ilk hidroksilasyonu karaciğerde 25-hidroksilaz (CYP24) enzimi tarafından gerçekleştirilir. Bu enzim karaciğer mikrozomlarında bulunur ve moleküler oksijen, NADPH ve magnezyuma ihtiyaç duyar. Bu reaksiyon sonucunda 25-hidroksivitamin D (25-hidroksikalsiferol) oluşmaktadır (Şekil 2.3). 25-hidroksivitamin D'nin yarı ömrü yaklaşık 15 gündür. Dolayısı ile biyolojik olarak daha aktif olan ancak yarı ömrü yaklaşık 15 saat olan 1,25-dihidroksivitamin D'nin depo formu gibidir (4).

2.2.1.2. Böbreklerdeki Metabolizma

D vitamini metabolizmasının esas aktivasyon basamağı böbreklerde yer alır ve 25-hidroksivitamin D₃-1- α -hidroksilaz (1 α -hidroksilaz, CYP27B1) enzimi tarafından katalizlenir. Bu enzim mitokondride bulunmaktadır. Moleküler oksijen ve NADPH'ye ihtiyaç duyar. Bu hidroksilasyon sonucu oluşan 1,25-dihidroksivitamin D(1,25-dihidroksi kolekalsiferol), D vitamininin en aktif formudur ve bütün etkilerinden sorumludur (4, 95). Yağda çözünen bir molekül olarak, 1,25(OH)₂D₃ katabolize edildiği hedef hücrelerinin plazma membranına kolayca penetre olur (66).

2.2.1.3. D Vitamininin Emilimi

Kolekalsiferoller hidrofobik oldukları için, diyetteki D vitamini ince barsaklardan yağ ile birlikte emilir. Emildikten sonra D vitamini başlangıçta plazmanın şilomikron fraksiyonunda bulunur. Daha sonra yavaşça, spesifik bir D-vitamini bağlayıcı proteine bağlanır (4).



2.2.1.4. D Vitamininin Taşınması

D vitamini büyük oranda serumdaki spesifik bağlayıcı proteine bağlanır. Bu protein bütün kolekalsiferoller için tek bir bağlanma bölgesi içerir. 25-hidroksivitamin D'ye olan afinitesi, 1,25-dihidroksivitamin D'ye olan afinitesinden yüksektir. Fonksiyonu değişik D vitamini formlarını metabolizmadan ve böbrekler yoluyla atılmaktan korumak ve hidroksillenmemiş kolekalsiferollerin sulu ortamdaki çözünürlüklerini arttırmaktır (4).

2.2.1.5. D Vitamininin Yıkımı Ve Vücuttan Uzaklaştırılması

Vitamin D bileşikleri, öncelikli olarak yan zincirin oksidasyonu ile katabolize olmaktadır. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün hidroksilasyonu, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ' den on kat daha az potansiyeli olan 1,24,25- trihidroksivitamin D_3 oluşumuna yol açan ilk katabolik basamaktır. 1,24,25- trihidroksivitamin D_3 'ün devam eden oksidatif reaksiyonları biyolojik aktivitenin progresif kaybına ve nihayetinde idrarla dışarı verilen suda çözünebilen kalsitriolik asit üretimine yol açmaktadır (4).

2.2.1.6. Serumda $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Konsantrasyonunun Düzenlenmesi

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, serum kalsiyum ve fosfat düzeylerini yükseltme potansiyeline sahiptir. Bu yüzden, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün dolaşımdaki miktarı ($\sim 75\text{pM}$) çok sıkı bir düzenlenmeye tabidir. Bu kontrol sentez ve yıkım oranlarının karşılıklı kontrol edilmesi ile gerçekleştirilmektedir (4, 19, 65, 66).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ konsantrasyonunun başlıca düzenleyicileri paratiroid hormon (PTH), kalsiyum, fosfat ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün kendisidir (Çizelge 2.4). Paratiroid bezi serumda kalsiyum konsantrasyonunu gözlemler ve hipokalsemiye yanıt olarak PTH salgılar (70, 4). PTH, 1α -hidroksilaz geninin transkripsiyonunu artırarak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün serum düzeyini yükseltir ve 24 hidroksilaz aktivitesini azaltarak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ yıkımını yavaşlatır (66, 85). Kalsiyum ve fosfatın $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeyini PTH'dan bağımsız bir şekilde de düzenleyebildiğine dair kanıtlar bulunmaktadır (19, 66). Bu regülasyonun aynı zamanda 24-hidroksilaz ve 1α -hidroksilaz genlerinin mRNA düzeylerindeki değişiklikler aracılığıyla da yapıldığı görülmektedir (66).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ PTH salınım ve sentezini baskılayarak kendi üretimini inhibe edebilmektedir. Yüksek $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeyleri renal 1α -hidroksilaz ekspresyonunu inhibe ederek kendi sentezini downregüle edebilir ve D-24-hidroksilaz gen ekspresyonunu artırarak kendi degradasyonunu arttırabilir (66).

Çizelge 2. 4. 1,25(OH)₂D₃' ün serum konsantrasyonunun kontrolünde yer alan anahtar faktörler ve hedef enzimlerin özeti (66).

İndükleyici	Aracı	Hedef enzim	[1,25-(OH) ₂ D ₃]
yüksek Ca ²⁺ PO ₄ ⁻³		1α-hidroksilaz ↓	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↓
yüksek Ca ²⁺ , PO ₄ ⁻³	PTH ↓	1α-hidroksilaz ↓	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↓
yüksek Ca ²⁺ , PO ₄ ⁻³	PTH ↓	24-hidroksilaz ↑	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↓
düşük Ca ²⁺ , PO ₄ -3	PTH ↑	1α-hidroksilaz ↑	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↑
düşük Ca ²⁺ , PO ₄ -3	PTH ↑	24-hidroksilaz ↓	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↑
yüksek 1,25-(OH) ₂ D ₃	PTH ↓	24-hidroksilaz ↑	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↓
yüksek 1,25-(OH) ₂ D ₃		1α-hidroksilaz ↓	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↓
yüksek 1,25-(OH) ₂ D ₃		24-hidroksilaz ↑	1,25-(OH) ₂ D ₃ ↓

2.2.2. D Vitamininin Fizyolojik Etkileri

1,25(OH)₂D₃ nükleer reseptörü (VDR) aracılığıyla genomik olayları module ederek, vücuttaki bir çok fonksiyonu düzenlemektedir. Klasik olarak, 1,25(OH)₂D₃'ün temel rolü, 1,25(OH)₂D₃'ün klasik hedef organları olarak anılan kemik, paratiroid bezi, böbrek ve bağırsaklar yoluyla serumda kalsiyum ve fosfor konsantrasyonlarını düzenlemektir. Aynı zamanda, 1,25(OH)₂D₃, mineral homeostazı ile ilgili olmayan pek çok fonksiyonu da (D vitamininin klasik olmayan etkileri) meydana getirme yeteneğine sahiptir (Çizelge 2.5). Yaklaşık 30 tane bu türden fonksiyon tesbit edilmiştir (16, 66).

Genomik fonksiyonlara ek olarak, 1,25(OH)₂D₃ herhangi bir protein sentezi gerektirmeyen hızlı biyolojik cevaplar da meydana getirebilmektedir (11, 66, 90). 1,25(OH)₂D₃ için bir hücre membran reseptörünün, bir çok protein kinaz ve fosfolipaz C yolağında olduğu gibi, bir dizi sinyal transdüksiyonu sistemini aktive etmek suretiyle bu cevaplara aracılık ettiği düşünülmektedir. Hızlı cevapların, nükleer VDR'nin fosforilasyonu aracılığıyla 1,25(OH)₂D₃ genomik yolağını modüle etme yeteneğine

sahip olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Reseptör fosforilasyonu VDR'nin koaktivatör komplekslerine afinitesini ve böylece gen aktivasyonunu artırabilir (66, 90).

2.2.2.1. Mineral Homeostazının Kontrolü

1,25(OH)₂D₃'ün ve PTH'nin prensipsel fonksiyonu iskelet mineralizasyonu için olduğu kadar, canlının biyolojik fonksiyonları için gerekli minerallerin varlıklarını sürekli dengede tutmak için kalsiyum ve fosfat metabolizmasını kontrol etmektir. Bu, böbreklerin, paratiroid bezinin, ince bağırsağın ve kemiğin koordinasyonu ile sağlanmaktadır.

1,25(OH)₂D₃'ün mineral homeostazındaki en kritik rolü ince bağırsağın diyetel kalsiyum ve fosfatı absorbe etme yeteneğini artırmaktır. Kalsiyumun eritrosit membranından girişini, kalsiyumun sitoplazmada ve bazolateral membrandan sirkülasyona doğru olan hareketini artırır. 1,25(OH)₂D₃ kalsiyumun böbreklerden geri emilimini arttırarak idrarla atılan kalsiyum miktarını azaltır. Ayrıca, eğer diyetle alınan kalsiyum yeterli değilse, kalsiyumun kemikten dolaşıma geçmesini sağlar (66, 111).

2.2.2.2. Kemik Ve 1,25(OH)₂D₃

Kemik, 1,25(OH)₂D₃'ün klasik hedef organlarından biridir. 1,25(OH)₂D₃ yalnızca kemik kalsiyum mobilizasyonunda rol almakla kalmaz, kemik gelişimi, mineralizasyonunda ve kemiğin dinamik doğasının sürdürülmesinde de görev alır. 1,25(OH)₂D₃ bu fonksiyonları kalsiyum ve fosfatın erişilebilirliğini arttırarak ve PTH, PTH ilişkili peptid ve insülin-benzeri büyüme faktörü gibi faktörlerin düzeylerini regüle ederek kolaylaştırmaktadır. Aynı zamanda, tip I kollojen, alkalın fosfotazlar, osteokalsin, osteopontin ve matriks-Gal protein gibi kemik matriks proteinlerinin sentezinde de rol alır (66).

2.2.2.3. [1,25(OH)₂D₃]'ün Yeni Tanımlanan Fonksiyonları

Son yıllarda D vitamininin mineral metabolizması üzerindeki etkileri ile ilişkili olmayan yeni fonksiyonlarının varlığını gösteren pek çok hedef hücre bulunmuştur. D vitamini hedef hücrelerinin 1,25(OH)₂D₃ konsantrasyonunun lokal regülasyonu için kendi enzim mekanizmalarına sahip olduğu ve bunun da mineral homeostazının düzenlenmesine ve diğer aksiyonlarına da olanak tanıdığı gösterilmiştir (52, 66).



Çizelge 2.5. D vitamininin fonksiyonları ve hedef dokulara ilişkin bir özet (66).

HÜCRE/DOKU	ETKİ
Kas	Çoğalmayı engelleyici, farklılaştırıcı
Düz kas hücresi, myoblast ve atriyal miyositler	Antinatriüretik faktör sentezinin engellenmesi
Pankreas β hücreleri	İnsülin sentez ve salgılanmasının artırılması
Meme bezi	Büyümenin düzenlenmesi
Kanser hücreleri	Çoğalmayı engelleyici, farklılaştırıcı
Adrenal bezin medullar Hücreleri	Katekolamin metabolizmasının düzenlenmesi
Prostat	Çoğalmayı engelleyici, farklılaştırıcı
Beyin hipokampusu/belli nöronlar	Nöronal rejenerasyon, sinir büyüme faktörü ve nörotropin sentezinin artırılması, sfingomiyelin döngüsünün kontrolü
Kıkırdak kondrositi	Çoğalmayı engelleyici, farklılaştırıcı
Ovaryan, miyometrial ve endometriyal hücreler	Çoğalmayı engelleyici, folikül oluşumunda görevli hücrelerin kontrolü
Karaciğer parenkim hücreleri	Karaciğer onarımının artırılması, glikojen ve transferin sentezinin kontrolü
Akciğer ve fetal pnömositler	Olgunlaşmanın, fosfolipit sentezinin ve sürfaktant salınımının artırılması
Yetişkin pnömositleri	Hücre büyümesi
Erkek üreme organları, seminifer tüp	Sertoli hücre fonksiyonunun ve spermatogenezin artırılması
Tükürük bezi	T3-indüklü büyüme hormonunun, prolaktinin ve tirotropinin kontrolü
Tiroid	Kalsitonin sentezinin engellenmesi

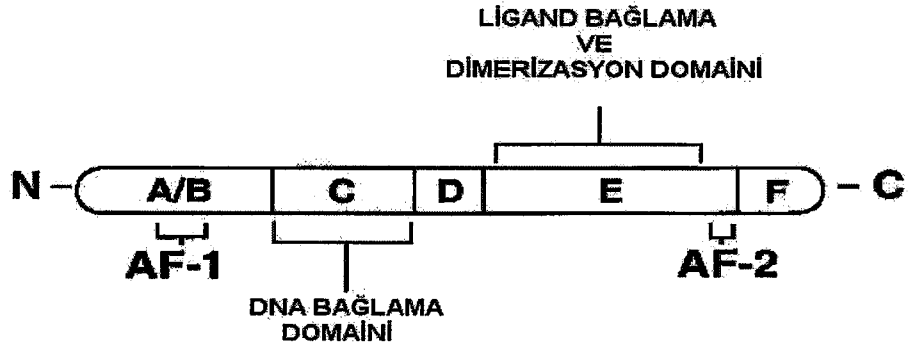
2.3. NÜKLEER HORMON RESEPTÖRLERİ

Nükleer reseptörler oldukça büyük bir aileyi meydana getirmektedir. Ortak özellikleri gen ifadesinin düzenlenmesinde görev almalarıdır (8, 66). Nükleer hormon reseptörleri prokaryot ve ökaryotlarda yaklaşık 350 üyeden oluşan büyük bir aileyi temsil etmektedirler (8, 32, 66). İnsanlarda 48 üyelerinin bulunduğu bildirilmiştir (1). Moleküler filogeni metodlarına göre reseptörler altı ana gruba ayrılırlar. Büyük bir grup, tiroid hormon reseptörlerini (TR), retinoik asit reseptörleri (RAR), vitamin D reseptörleri (VDR), peroksizom proliferatör activated reseptörler (PPAR) gibi elemanları kapsamaktadır. Nükleer hormon reseptör süperalesi henüz ligandı tanımlanamamış bir dizi reseptörü de içerir ki bunlara orfan reseptörleri denilmektedir (2, 8, 66).

2.3.1. Nükleer Hormon Reseptörlerinin Genel Yapısı

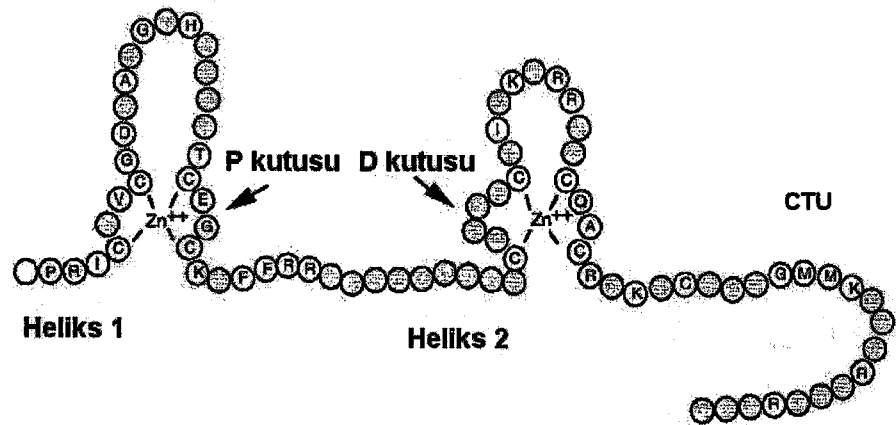
Nükleer hormon reseptörleri fonksiyonlarına göre başlıca dört domaine ayrılarak incelenirler (Şekil 2.4). Tipik bir nükleer reseptör, değişken bir NH₂ terminal (A/B) domaini, korunmuş bir DNA bağlama domaini (C), bir menteşe domaini (D), ve bir ligand bağlama domaini (E-F) içermektedir. Bazı reseptörler fonksiyonu tam bilinmeyen bir COOH terminal bölgesi (F) de içermektedir. Bazı reseptörlerin NH₂ terminalinde, ligandan bağımsız aktivite gösterebilmelerini sağlayan AF-1 adında bir otonom transaktivasyon bölgesi de yer almaktadır. AF-2 ise ligand bağımlı aktivasyon fonksiyonudur ve ligand bağlama bölgesinin COOH (karboksi) terminalinde yer almaktadır (8).

A/B Domaini, modülatör domain olup, hem dizi hem de boyut bakımından son derece değişken olup AF-1 için ev sahipliği de yapar. NH₂ (amino) terminal bölgesinde yer alan A/B domaini promotör ve hücreye spesifik etki göstermektedir.



Şekil 2.4. Nükleer hormon reseptörlerinin yapısının şematik gösterimi (8).

DNA bağlama Domaini (C), Nükleer reseptörlerin en iyi korunmuş bölgesi olup, reseptörlere, spesifik hedef dizileri tanıma ve genleri aktive etme yeteneğini vermektedir. Dokuz sistein rezidüsü içermektedir ve bu rezidüer yüksek afiniteli DNA bağlamak için şarttır. Bu domain, yaklaşık 60-70 amino asit uzunluğunda iki çinko-parmak motifinden ve T ve A kutuları içeren bir COOH terminal uzama bölgesinden oluşmaktadır. Heliks 1, cevap elementlerinin ayırt edilmesi için gerekli olan P kutusunu içermektedir. İkinci heliks üzerindeki D kutusu ise dimerizasyon arabirimi oluşturmaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Nükleer hormon reseptörlerinin DNA bağlama domaininin yapısı (8).

Ligand Bağlama Domaini, liganda bağlanmanın yanı sıra, homodimerizasyon ve heterodimerizasyon gibi bazı diğer fonksiyonlara da aracılık eden multifonksiyonel bir domaindir. Ligand bağlama domaini, iyi korunmuş iki bölge içerir; bir “imza motifi” ve ligand bağımlı transkripsiyon fonksiyonundan sorumlu bir COOH terminal AF-2 motifi. Ligand bağlandığında bu bölgede bir konformasyonel değişiklik meydana gelmektedir (8).

Menteşe Domaini (D), DNA bağlama domaininin rotasyonunu kolaylaştıracak şekilde LBD ve DBD’yi birbirine bağlayan domaindir.

2.3.1.1. Hormon Cevap Elementleri

Nükleer reseptörler, hedef genler üzerinde yer alan ve hormon cevap elementleri olarak adlandırılan spesifik DNA dizilerine bağlanarak transkripsiyonu düzenlemektedirler. Bu elementler genellikle hedef genlerin 5’-flanking bölgelerinde yer almaktadırlar. Genellikle promotora yakın konumlanmakla birlikte, bazı durumlarda transkripsiyon başlangıç bölgesinden kilobazlarca uzaktaki enhansırlar içerisinde de yer alabilmektedirler. Bu elementler için iki tip dizi üzerinde uzlaşmaya varılmıştır; genellikle steroid sınıf III reseptörlerince tanınan AGGAACA, ailenin diğer reseptörleri tarafından tanınan AGG/TTCA (8).

2.3.2. Vitamin D Reseptörü

Steroid bir hormon olan D vitamini ve onun reseptörü olan VDR, D vitamini endokrin sistemini meydana getirmektedirler. Bu sistem, bağırsaktan kalsiyum emilimini de içeren kemik metabolizmasında olduğu kadar, yeni tanımlanan fonksiyonlarıyla immün sistem ve kanserde de son derece önemli roller üstlenmektedir (49). İmmün sistemde, D vitamini, monosit farklılaşmasını, lenfosit proliferasyonunu ve interleukin 2, interferon γ , IL 12 gibi sitokinlerin salgılanmasını uyarmaktadır. Birçok farklı kanser türünde D vitamininin antiproliferatif etkisi olduğu gösterilmiştir (118).

İnsanlarda, VDR proteini yaklaşık 48 kDa'luk bir moleküler kitleye sahip olup 427 aminoasit içermektedir (66). Diğer nükleer reseptörleri gibi, VDR de fonksiyon bakımından domainlere ayrılabilir. Aminoterminal A/B domaini diğer insan nükleer reseptörleri ile karşılaştırıldığında daha kısadır (1, 10, 61).

Delesyon/mutasyon analizleri diğer nükleer reseptörlerle karşılaştırma ve yapı-fonksiyon çalışmaları, VDR de A/B, C, D, E olarak anılan dört ayrı domainin varlığını ortaya koymuştur (1, 61). Nükleer reseptörlerin bir çoğunda ligandan bağımsız transaktivasyon fonksiyonu olarak bilinen AF-1, A/B domaininde konumlanmaktadır (8). Son zamanlarda VDR'nin de 1,25-dihidroksivitamin D₃'den bağımsız etki gösterdiğini belirten çalışmalar vardır (33).

VDR'nin DNA bağlama domaini (C), insan VDR'sinin 24-89. aminoasitleri arasında yer alır. D (menteşe) domaini 90-115. aminoasitler arasında yer alır. Ligand bağlama domaini (domain E) VDR nin 116-427. aminoasitleri arasında yer alır. Ligand bağlama domaini RXR (retinoid X reseptörü) ile dimerizasyon ve transkripsiyon faktörlerine bağlanmak için, yüksek afinite ile DNA bağlama yeteneğine sahip bir protein kompleksidir (82, 111).

2.3.2.1. VDR Aksiyonunun Mekanizması

Genellikle reseptöre ligandın bağlanması hedef genlerin aktivasyon ya da represyonu ile sonuçlanan bir dizi olayı başlatır (Şekil 2.6). Bu süreçte yer alan başlıca olaylar:

- reseptörün ligandı tarafından aktive olması
- dimerizasyon
- aktif reseptörün DNA'da spesifik hormon cevap elementlerine bağlanması
- hedef genlerin transkripsiyonunda pozitif ya da negatif etki

olarak özetlenebilir (8).

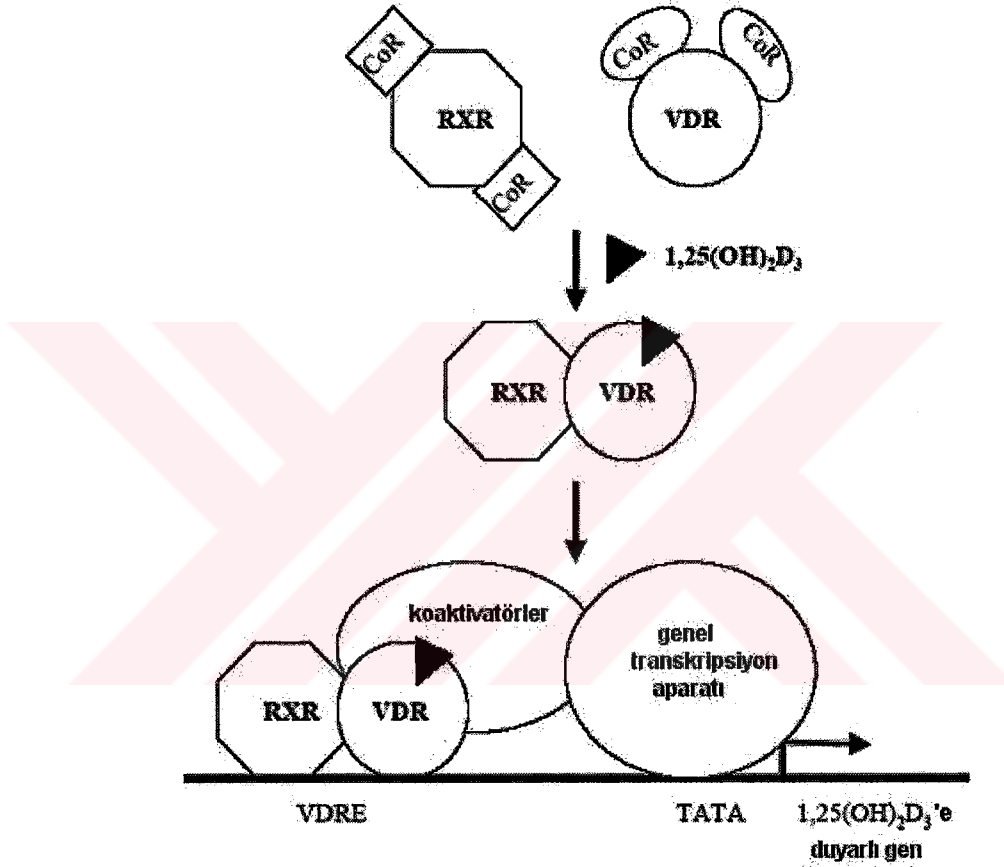
Moleküler düzeyde, $1,25(OH)_2D_3$ ve onun sentetik analogları gen ekspresyonunu VDR ve retinoid X reseptörü arasındaki bir heterodimer üzerinden modüle etmektedirler. 9 cis-retinoikası için bir nükleer protein olan RXR $1,25(OH)_2D_3$ aksiyonuna aracılık etmede VDR'nin zorunlu partneridir. Hücresel sistemlerde ligand yokluğunda VDR'nin büyük bir kısmı sitoplazmada yer alır. VDR ligandı RXR VDR heterodimerizasyonunu ve oluşan bu kompleksin nükleusa taşınmasını indükler. RXR-VDR heterodimeri hedef genlerin promotor dizilerinde yer alan vitamin D3 cevap elementlerine (VDRE'lere) bağlanır (86).

VDR aracılı transkripsiyonel düzenlemenin kontrol edilmesinde A ve D vitaminlerinin metabolitleri arasında hormonal bir karşılıklı ilişki söz konusu görünmektedir. VDR'nin temel partneri RXR olsa da VDR RAR, TR ve VDR'nin kendisi ile de dimerizasyon yapabilir (1, 22).

2.3.2.2. Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

Nükleer reseptörlerin gen ekspresyonu üzerindeki etkilerine koregülatörler, korepresörler ve koaktivatörler aracılık etmektedir (Şekil 2.6) (8). Ligandlanmamış VDR histon deasetilaz aktivitesi içeren multikomponentler içinde bulunan NCoR ya da Alien (97) gibi korepresör proteinlerine bağlanır (8). Histon deasetilasyonu kromatin kompaksiyonuna yol açar ve transkripsiyon baskılanır. VDR'ye $1,25(OH)_2D_3$ bağlanması korepresörlerin ayrılmasına yol açan bir dizi konformasyonel değişikliğe neden olur ve RXR ile heterodimerizasyonu ve aktivatör-recruited kofaktör/ vitamin D reseptör interagting protein (ARC/DRIP) kompleksleri ve p160 ailesi üyeleri SRC-1, TIF2 ve RAC3 de olduğu gibi AF-2 domainlerinin koaktivatör proteinleri ile etkileşimini hızlandırır (1). Bazı koaktivatör proteinleri kromatin-remodeling faktörleridir ya da histon asetilaz aktivitesine sahiptir. Diğer bazıları ise temel transkripsiyon mekanizması ile direk olarak etkileşim gösterirler (8). Transkripsiyon faktörleri ve koaktivatörler VDRE-bağlı reseptörler, histon asetilazlar ve RNA polimeraz II arasındaki kantağa köprü olurlar (1, 61). Koaktivatör komplekslerinin

hedef promotora yönlendirilmesi bağlanma ve transkripsiyon mekanizmasının bir araya gelmesi ve transkripsiyonun başlaması için kromatin dekondensasyonuna yol açar (8).



Şekil 2.6. VDR aksiyonuna ilişkin bir model (86).

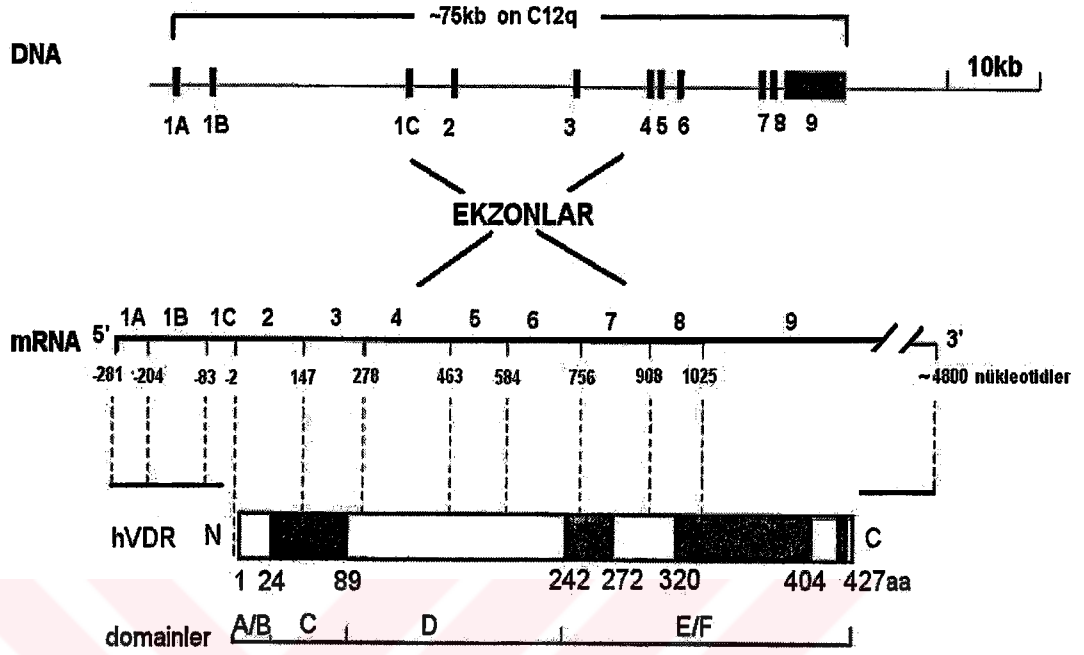
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün VDR'ye bağlanması korepresör proteinlerinin (CoR) ayrılmasına yola açan ve RXR ile heterodimerizasyonu kolaylaştıran bir konformasyonel değişikliği indükler. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ duyarlı genlerin transkripsiyonel aktivasyonu VDR-RXR heterodimerinin spesifik bir DNA dizisi Vitamin D cevap elementi ve ile etkileşimi ve reseptörler ve genel transkripsiyon aparatları arasında kondağa köprülük yapan koaktivatörlerin görev başına gelmesi ile olmaktadır (86).

Nükleer hormon reseptörleri tarafından transkripsiyonun baskılanması bir dizi mekanizma ile meydana gelir. Transkripsiyon faktörü fonksiyonunun inhibüsyonu VDR nin transkripsiyonun baskılanmasına yol açtığı mekanizmalardan biri olabilir. VDR, aynı zamanda, TR, RAR ve büyüme hormon reseptörününün transkripsiyonel fonksiyonunu RXR ile dimerizasyonda yarışmak sureti ile inhibe edebilir (1).

2.4. VİTAMİN D RESEPTÖR GENİ

2.4.1. Vitamin D Reseptör Geninin Yapısı

İnsan vitamin D reseptör geni cDNAsı' 1988 yılında Baker ve arkadaşları tarafından klonlanmıştır (10, 56). Miyamoto ve arkadaşları 1997 yılında insan VDR geninin ve promotorunun karakterizasyonu ortaya koymuşlardır (56, 82). 12q13.11'de yer alan VDR geni 11 ekzon içermektedir ve yaklaşık 75kb'dır. Genin kodlamayan 5' ucu ekzon 1A, 1B ve 1C'yi içermektedir. Sekiz ilave ekzon (2-9 arası) VDR gen ürününün yapısal kısmını kodlar. 1A'nın upstream kısmında uzanan DNA dizisi guanin sitozince zengindir ve belirgin bir TATA kutusu içermez (Şekil 2.7). Transkripsiyon faktörü SP1 ve bir çok diğer aktivatörler için bağlanma bölgeleri saptanmıştır (56).



Şekil 2.7. VDR geni DNA, mRNA ve domain yapılarının şematik gösterimi (82).

2.4.2. VDR Genindeki Polimorfizmler

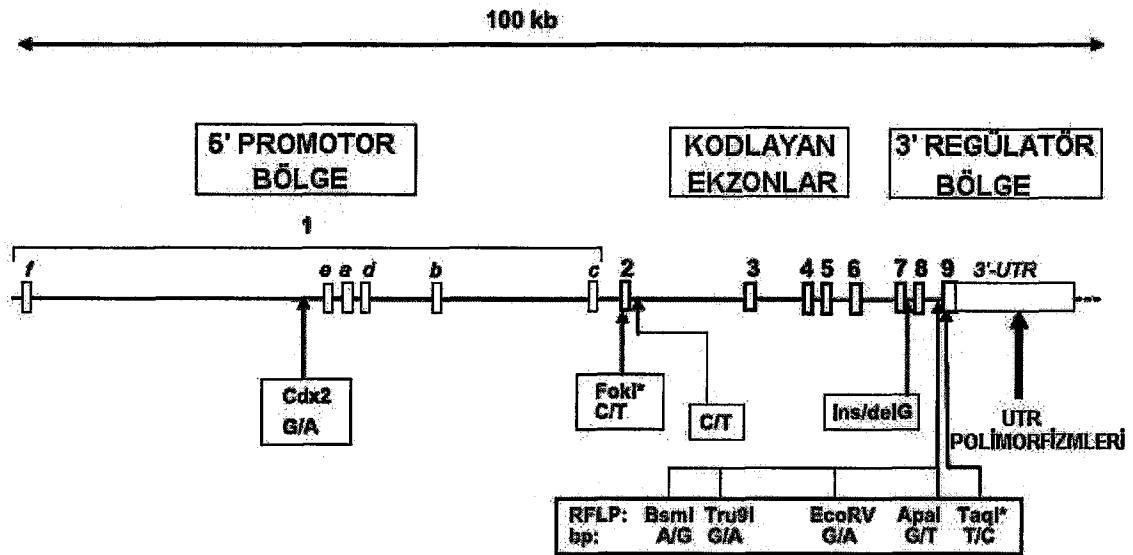
VDR lokusunda bu gün için 25'in üzerinde polimorfizm bilinmektedir. Bunların çoğu 3' bölgesinde yer almaktadır. Ancak genin 5' bölgesinde de farklı polimorfizmler tanımlanmıştır (Şekil 2.8) (118).

VDR geninde üzerinde sıklıkla durulan polimorfizmler arasında 3' regülatör bölgede yer alan Apa I (37, 59), EcoRV (59, 83), Bsm I (84), Tru9I (125), Taq I (59, 83) ve 5' promotor bölgede yer alan Cdx2 (7), ekzon II' de yer alan Fok I (6, 102) bulunmaktadır (66).

Baker ve arkadaşlarının VDR geni cDNA'sının dizisi ile ilgili yaptığı çalışmalardan sonra, iki potansiyel başlangıç kodonunun olduğu saptanmıştır. İlk ATG deki timinin sitozine (T>C) dönüşümü ile translasyon başlangıç bölgesi üç aminoasit kaymaktadır. Uzun protein 427 aminoasit içerirken, kısa protein 424 aminoasit

içermektedir. Bu polimorfizm Fok I restriksiyon enzimi ile taranabilmekte ve oluşan kısa protein F varyantı, uzun protein ise f varyantı olarak adlandırılmaktadır. Kısa proteinin transkripsiyonel aktivasyonunun daha fazla olduğu bildirilmiştir. Kısa proteinin (F varyantı), ayrıca, düşük kemik mineral dansitesi ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir ancak bu konudaki veriler çelişkilidir (6, 67, 118, 121).

VDR geninin 8. intronunda yer alan Bsm I ve Apa I polimorfizmleri ile, 9. ekzonunda konumlanan Taq I polimorfizmi ile ilgili de bir çok çalışma yapılmıştır. Morrison ve arkadaşları Bsm I polimorfizminin varlığının serum osteokalsin konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu bildirmiş, ardından ikizlerle ve postmenopozal bayanlarda yapılan bir çalışmada kemik mineral dansitesindeki değişikliklerle ilgisinin olduğu öne sürülmüştür (84). Daha sonra yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Gross ve arkadaşları, VDR Bsm I polimorfizmi ile ilişkili olarak yaptıkları çalışmada, bu polimorfizmin vitamin D reseptör fonksiyonunda önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, bu polimorfizmin, prostat kanseri ve osteoporozda direkt etkili olmadığı ancak, bu iki patolojide yer alabilecek yakınlardaki bir genin markırı olabileceği öne sürülmüştür (45).



Şekil 2.8. Vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin şematik gösterimi (118).

2.5. PROSTAT KANSERİNDE D VİTAMİNİ

Bir çok in vitro çalışma, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün bir dizi normal ve kanserleşmiş hücrede büyüme ve farklılaşmayı düzenlediğini göstermiştir. Hücre döngüsünün, apoptoz, büyüme faktörü ve hormon salgılanması, telomeraz aktivitesi, farklılaşma, angiogenez, invazyon ve metastazın modülasyonu gibi bir çok farklı mekanizmasının D vitamininin anti kanser etkisine aracılık ettiği düşünülmektedir (110, 48).

Birçok ülkede prostat kanseri erkekler arasında sık tanısı konan kanserler içerisinde yerini almaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar prostat kanserinin yaşlanma, koyu deri rengi, prostat kanserine ilişkin aile öyküsü, kuzey enlemlerde yaşama, ve diyet gibi bir çok genetik ve çevresel faktörü kapsayan multifaktöriyel bir hastalık olduğuna işaret etmektedir. Prostat kanserlerinin çoğunluğu (%90) sporadiktir ve yaklaşık %10 u kalıtsaldır. Cinsiyet hormonları olasılıkla prostatik karsinogeneze yol açıyorsa da, dolaşımdaki cinsiyet hormonu düzeyleri prostat kanseri için yetişkin erkeklerde kesin etiyolojik faktör olarak belirlenememiştir (115). 1990 yılında Shwartz ve Hulka D vitamini eksikliğinin bir risk faktörü olabileceğine ilişkin hipotezlerini yayımlamaları üzerine D vitamininin prostat kanseri etiyolojisinde rolü olabileceğine ilişkin epidemiyolojik çalışmalar gündeme gelmiştir (105). Bu konsepsiyona göre klinik prostat kanseri için bilinen tüm risklerin (yaşlanma, siyah deri, kuzey enlemlerinde yaşama), D vitamininin azalmış sentezi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Coğrafik çalışmalardan elde edilen sonuçlar solar UV radyasyonu ve prostat kanseri arasında ters bir orantı olduğunu doğrulamakta (47) ve Corder ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda (27), düşük serum $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seviyesi ve prostat kanseri arasında ilişki görülmüşse de D vitamininin prostat kanseri etiyolojisindeki rolü ile ilgili yapılan analitik epidemiyolojik çalışmalardan net bir sonuca varılamamıştır (1, 23, 88). Öte yandan, günlük yiyeceklerden alınan diyetsel kalsiyumun prostat kanser riskinin büyük olasılıkla 1α -hidroksilaz enziminin enzimatik aktivitesini baskılamak ve böylece serum $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ konsantrasyonunu düşürmek aracılığıyla prostat kanser riskini artırdığı da gösterilmiştir (23).

Grant ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, bölgesel UV radyasyonunun prostat kanser mortalitesi ile çok zayıf ilişkisinin olduğu bildirilmiştir (43). Jacobs ve arkadaşları ile, Platz ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda, 1,25(OH)₂D₃'ün yüksek düzeyleri ile prostat kanseri riskinin indirgenmediği doğrulanmamıştır (62, 96).

2.5.1. Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ve Prostat Kanseri

Tümüyle olmamakla birlikte bazı epidemiyolojik çalışmaların sonuçları VDR gen polimorfizmlerinin prostat kanseri riskine katkıda bulunabileceklerini göstermektedir.

D vitamininin aktif formunun etkilerine VDR geni aracılık etmektedir. Vitamin D reseptör geninde birçok polimorfizm tesbit edilmiştir. Bunlar arasında bulunan, 3' flanking bölgede yer alan Poly-A mikrosatellit polimorfizmi, intron VIII'de yer alan Bsm I ve Apa I, ekzon IX'da yer alan Taq I polimorfizmi ve ekzon II'de yer alan Fok I polimorfizmleri prostat kanseri ile ilişkileri bir çok araştırmacı tarafından araştırılan polimorfizmlerdir. Ancak, D vitamini düzeyleri ile ilgili çalışmalarda olduğu gibi, vitamin D reseptör gen polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalardan net bir sonuca henüz varılamamıştır (91).

2.6. İNSAN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ

Mutasyonların çoğu zararlı değildir ancak seçici olarak nötral oldukları da düşünülmektedir. Anne babanın birinin genomunda olmayan bazı çifti değişikliklerinin, her bir yeni zigotta 100 kadar olacağı beklenmektedir. Bu değişimlerin çoğu kodlayan dizilerde değildir. Kromozomların kodlamayan bölgelerinde meydana gelirler. Evrim yönü sırasında, nükleotid değişimlerinin sabit akımı, genetik çeşitliliği ve bireyselliği sağlamaktadır.

2.6.1. Genetik Polimorfizm Kavramı

Dünyadaki birçok bireyin kromozomlarında aynı yerde bulunan DNA dizileri birbirine benzerlik gösterir. Populasyonda iki farklı birey arasında DNA'nın yaklaşık 1000 bç uzunluğundaki herhangi bir kısmı ortalama sadece bir baz çifti değişimi içerir. Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel denir. Allellerin genel populasyonda kromozomlarda %1 den fazla bulunması genetik polimorfizm olarak tanımlanmaktadır. İntronlarda ve genler arasında lokalize olmuş DNA dizilerinde değişim gösteren bazı alleller vardır. Kodlanan dizi farklılıkları protein çeşitliliğine ve farklı fenotiplerin ortaya çıkmasına sebep olurlar. Genetik hastalığa sebep olan zararlı mutasyonların birçoğu nadir değişimlerdir. Ağır hastalığa neden olan mutant alleller genetik çeşitliliğin bir sonucudur. Birçok proteinin, farklı populasyonlarda nisbeten yaygın ve ayrılabilen şekillerde olduğu tesbit edilmiştir (93).

2.6.1.1. Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri

Restriksiyon enzimler, DNA'daki dizileri özgül olarak tanırlar ve sonuç olarak genomik DNA'da dizi değişiklikleri, belirli kesim bölgeleri yaratır veya onları yok eder. Bu nedenden dolayı boyutları değişen bir veya birden fazla DNA fragmenti Southern blot ve klonlanmış DNA parçası ile hibridizasyondan sonra görünür hale gelir. 1970'lerin sonunda genom analizi için Southern blot tekniğinin uygulanmasından kısa bir süre sonra, restriksiyon enzim bölgelerinin dağılımının bütün insanlarda tam olarak aynı olmadığı keşfedilmiştir. Her ne kadar bazı nükleotid değişikliklerinin varlığı, mutasyon ve protein polimorfizmleri hakkındaki bilgiler vasıtası ile saptanabiliyese de, Southern blotting tekniğiyle belirlenen değişim derecesi bir sürpriz olarak ortaya çıkmıştır. Southern blot ile belirlenen enzim kesim yerlerindeki DNA değişimleri, Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) olarak adlandırılır (93).

Belirli restriksiyon endonükleaz kesilme bölgelerindeki değişimlerden oluşan RFLP'ler, tek nükleotid polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphism) olarak bilinirler. Tek nükleotid polimorfizmleri genetik haritalar için belirleyici olarak

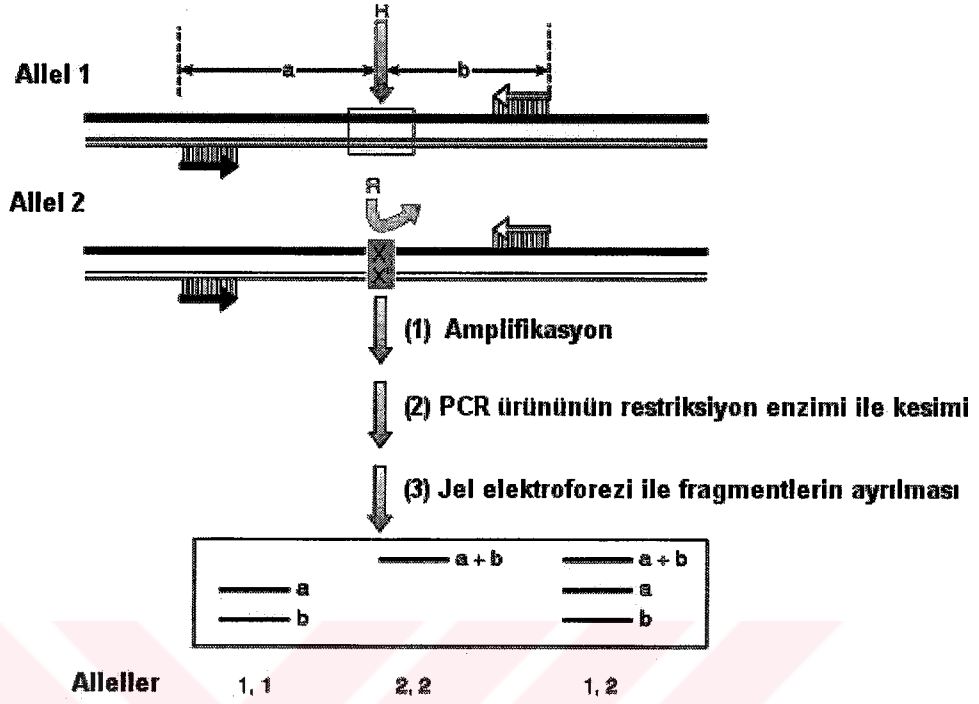
kullanılabilir. Kompleks hastalıklardan sorumlu belirli genlerin kalıtımını incelemek için tek nükleotid polimorfizmlerine gerek vardır.

DNA sarmalı özgül restriksiyon enzimleri ile kesildiği zaman farklı uzunluklarda fragmentler oluşur ve bu fragmentler, elektroforetik davranışlarındaki farklılıklar ile jel elektroforezinde gözlemlenebilirler (93).

2.6.1.2. Polimorfik Markırların Genotiplenmesinde PCR'in Kullanımı

Tek nükleotid polimorfizmleri Southern blot ile ortaya konabildiği gibi, polimeraz zincir reaksiyonunun ardından restriksiyon enzim kesimi yöntemi kullanılarak da belirlenebilir (Şekil 2.9). Bunun için polimorfik bölgeyi içine alan primerler kullanılarak PCR aracılığıyla bölge çoğaltılır. Uygun restriksiyon enzimi ile PCR ürününün kesiminin ardından elde edilen fragmentler agaroz jel elektroforezinde yürütülür ve analiz edilir (109).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), herhangi bir DNA örneğinde istenen bölgenin çoğaltılmasını sağlayan hızlı bir in vitro yöntemdir. PCR, elde bulunan DNA örneklerinde seçici olarak istenen bölgenin çoğaltılmasını sağladığı için, çoğaltılacak bölge hakkında önceden bilgi sahibi olunmasını gerektirmektedir. Bu bilgi, istenen bölgeyi çoğaltmak için gereken, 15-25 nükleotid arasında değişen uzunluklarda bir çift primerin belirlenebilmesi için şarttır. Denatüre edilen kalıp DNA içerisine primerler eklendikten sonra, bu primerler tamamlayıcı dizilerine bağlanırlar. Uygun bir polimeraz enzimini ve dört çeşit deoksiniükleozid trifosfattan (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) yeterli miktarda bulunması halinde, primerler hedef DNA'nın komplementerinin sentezlenmesini sağlarlar (109).



Şekil 2.9. Polimorfik markırların genotiplenmesinde PCR'ın kullanımı (109).

PCR, bir zincir reaksiyonudur, çünkü, yeni sentezlenen DNA dalları, ardışık döngülerde sentezlenecek diğer DNA'lar için kalıp görevi yapmaktadırlar. Isı ile bozulmayan polimeraz enzimlerinin kullanımı gerekmektedir çünkü PCR ısı değişimlerine dayanan üç temel basamaktan oluşmaktadır:

- i. Denatürasyon : Yaklaşık 93-95⁰C'de gerçekleşir. DNA tek dal haline gelmektedir.
- ii. Bağlanma : 50-70⁰C arasında gerçekleşen ve primerlerin hedef DNA'ya bağlanmasının gerçekleştiği basamaktır
- iii. Uzama : 70-75⁰C arasında gerçekleşir ve yeni DNA dallarının elde edildiği aşamadır (109).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri

Prostat kanserli olguların ve kontrol grubundaki erkeklerin periferik kanından QIAamp DNA Blood Mini Kit ile elde edilen DNA'larda, PCR-RFLP tekniği (109) kullanılarak VDR geni Bsm I ve Fok I polimorfizmlerini inceleyen bu çalışma, Kasım 2004 – Haziran 2005 tarihleri arasında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nın belirlediği 50- 89 yaş arası 75 prostat kanseri hastası erkek olgu ve 112 prostat kanseri olmayan benign prostat hiperplazili erkek kontrol ile gerçekleştirilmiştir. Hasta ve kontrol grupları histopatolojik bulgular doğrultusunda oluşturulmuştur.

3.1.2. Kullanılan Gereçler

Elektroforez için güç kaynağı (EKR)
Hassas terazi (Setra)
Pipet takımı (Gilson)
Jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (Gene Genius)
Manyetik karıştırıcı (ısıtıcılı) (Heidolph)
Elektroforez aleti (Consort E844)
Mikrosantrifüj (Eppendorf)
Pastör pipeti
PCR aleti (thermal cycler) (PE GenAmp PCR System 9700)
Su banyosu (Nüve)
Vorteks (Heidolph)
Mezür (100'lük 1000'lik)
Beher (250'lik, 500'lük)

Deep-freeze (Arçelik)
Mikrodalga fırın (Arçelik)
Buzdolabı (Arçelik)
Falkon tüpü (50'lik)
Ependorf Tüpü (1,5 ml'lik)
PCR tüpleri (strip) (Perkin Elmer)
Toplama tüpü (QIAGEN)
Spin kolonu (QIAGEN)
Mini soğutucu

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

UltraPure Agaroz (İnvitrogen)
Borik asit (Sigma)
dNTP seti (Promega)
EDTA (Sigma)
Etanol (95%) (Tekel)
Etidyum Bromid (Sigma)
Proteinaz K (QIAGEN)
Mineral yağ (Roche)
TrismaBase (Sigma)
MgCl₂ (PCR için) (Roche)
10XPCR buffer (Sigma)
Buffer AW1(QIAGEN)
Buffer AW2 (QIAGEN)
Buffer AE (QIAGEN)
AL buffer (QIAGEN)
Moleküler Weight Marker (Sigma)
Taq DNA polimeraz (Sigma)
6X Jel yükleme tamponu (Sigma)
Bsm I restriksiyon enzimi (Q-Biogene)

Fok I restriksiyon enzimi (New England BioLabs)

3.2 YÖNTEMLER

3.2.1 QIAamp DNA Mini Kiti Kullanarak Periferik Kandan DNA İzolasyonu

- Olgulardan 4-6 cc taze kan, Na-EDTA ile 1/10 oranında karıştırılarak alınmıştır.
- 1.5 ml'lik ependorf tüpünün içerisine 20 µl QIAGEN ya da proteinaz K konmuştur.
- 200 µl lik kan örneği tüpe eklenmiştir.
- 200 µl lik Buffer AL eklenip 15 saniye vortekslenmiştir.
- 56°C de 10 dakika inkübe edilmiştir.
- 1.5 ml'lik ependorf tüpünün kapağında oluşan damlacıkların düşmesi için kısa süreli santrifüj yapılmıştır.
- %96 lık 200 µl etanol eklenip, 15 saniye vorteksledikten sonra kısa süreli santrifüj yapılmıştır.
- Dikkatli bir şekilde karışım ependorf tüpünden alınıp kitle birlikte gelen QIAamp spin kolonuna (2ml lik toplama tüpünün içerisinde bulunan) boşaltılmıştır ve 1 dakika 8000 rpm de santrifüj yapılmıştır. QIAamp spin kolonu 2 ml'lik temiz başka bir ependorf tüpüne yerleştirilip filtratı içeren tüp atılmıştır.
- QIAamp spin kolonunun kapağı açılıp 500 µl AW1 solüsyonu eklenmiştir. Kapağı kapatılıp 8000 rpm de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.

-Filtratlı tüp atılmış, spin kolonu yeni bir toplama tüpünün içerisine yerleştirilmiştir. QIAamp spin kolonunun kapağı açılıp 500 µl AW2 solüsyonu eklenmiştir. Kapağı kapatılıp 14 bin rpm de 3 dakika santrifüj yapılmıştır

- Spin kolonu 1.5 ml lik temiz ependorf tüpüne yerleştirilip, QIAamp spin kolonunun kapağı açılıp 200 µl lik Buffer AE eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletilip daha sonra 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen DNA +2/+4 °C de saklanmıştır.

3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu

FokI enzimi ile kesim için VDR geni Ekzon II'nin amplifikasyon karışımı;

ddH ₂ O	19.8 µl
10xPCR buffer	5 µl
dNTP mix	5 µl
primer 1	5 µl
primer 2	5 µl
Taq pol	0.2 µl
DNA	5 µl
MgCl ₂	5 µl
	+

	50 µl

Bsm I enzimi ile kesim için intron VIII'in amplifikasyon karışımı;

ddH ₂ O	22,7 µl
10xPCR buffer	5 µl
dNTP mix	5 µl
primer 1	6 µl
primer 2	6 µl
Taq pol	0.3 µl
DNA	5 µl
	+

	50 µl

3.2.2.1. VDR Geni İçin Kullanılan Amplifikasyon Şartları

3.2.2.1.1. Ekzon II'nin Amplifikasyon Şartı

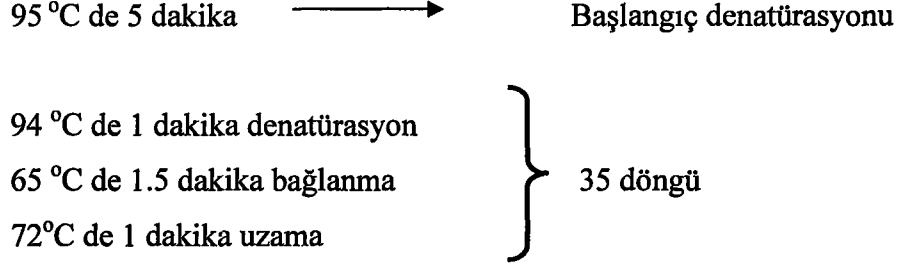
95 °C de 5 dakika → Başlangıç denatürasyonu

95 °C de 45 saniye denatürasyon
60 °C de 45 saniye bağlanma
72°C de 45 saniye uzama

} 35 döngü

En sonunda 72°C de 5 dakika tutularak ürünün arttırılması sağlanmıştır.

3.2.2.1.2 Intron VIII'in Amplifikasyon Şartı



En sonunda 72°C de 7 dakika tutularak ürünün arttırılması sağlanmıştır.

3.2.2.2. VDR Geni İçin Kullanılan Primerler

II. Ekzonda yer alan Fok I için;

OPMI R 5'-ATG GAA ACA CCT TGC TTC TTC TCC CTC -3'

OPMI F 5'-AGC TGG CCC TGG CAC TGA CTC TGC TCT -3'

VIII. İntronda yer alan Bsm I için;

F: 5'- CAA CCA AGA CTA CAA GTA CCG CGT CAG TGA -3'

R: 5'- AAC CAG CGG GAA GAG TCA AGG G-3'

3.2.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleazlarla Kesimi

3.2.3.1. VDR Geni Ekzon II bölgesinin FokI Restriksiyon Enzimi İle Kesimi

20 µl lik PCR ürününe 2.5µl FokI enzimi ve 2.5µl enzim tamponu eklenmiş, 37°C' de 16 saat inkübe edilerek kesilmiştir.

3.2.3.2 VDR Geni Intron VIII Bölgesinin Bsm I Restriksiyon Enzimi İle Kesimi

15 µl lik PCR ürününe 0.4 µl Bsm I enzimi ve 2.5 µl enzim tamponu eklenmiş, 60 °C de 16 saat inkübe edilerek kesilmiştir.

3.2.4. Enzim Kesim Ürünlerinin Agoroz Jel Elektroforezi İle Ayrılması

PCR örneklerinin FokI ve Bsm I restriksiyon enzimleri ile kesimlerinden sonra oluşan ürünlerin incelenmesi için %2 lik ultra pure agoroz jeli hazırlanarak örnekler agoroz jel elektroforezi yöntemine tabi tutulmuştur. %2 lik ultrapure agoroz jel için hazırlanan agoroz mikrodalga fırın kullanılarak yüksek ısıda 1XTBE solüsyonu içinde çözüldürülmüştür. Çözeltinin soğuması beklenerek içerisine konsantrasyonu 0.5 µl/ml olacak şekilde etidyum bromür eklenmiştir.

-Elektroforeze başlamadan önce tank, taraklar ve jel yatağı temizlenip, tankın benç üzerindeki dengesi ayarlanmış, tarak ve jel küveti tanka yerleştirilip, hazırlanan jel küvete dökülmüştür. Jel donduktan sonra tank 1×TBE çözeltisi ile doldurulmuştur.

-20 µl PCR ürünü alınıp, üzerine 4 µl 6X lik yükleme tamponundan konarak karıştırılmış ve jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir [Her jelin bir kuyusuna marker yüklenmiştir].

-Yükleme işlemi bittikten sonra elektrodlar yerleştirilerek 150 voltta yürütülmüştür.

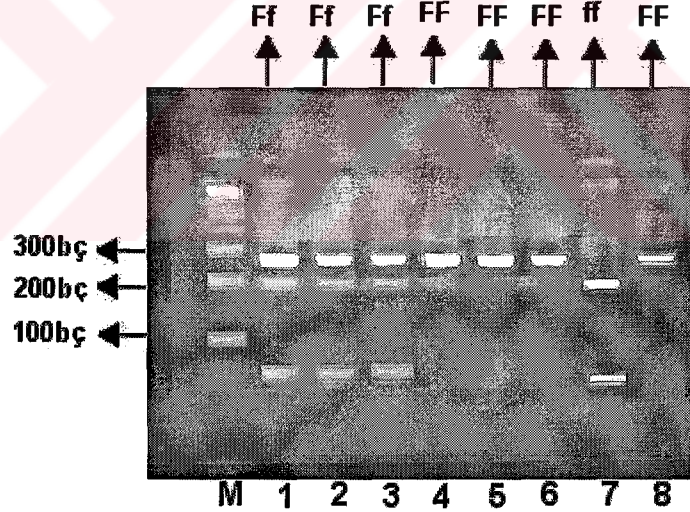
-Elektroforez tamamlandıktan sonra jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi ile incelenerek görüntüsü alınmıştır.

3.2.5. Jelin Görüntüleme Sistemi İle Değerlendirilmesi

Kesilen DNA örnekleri agaroz jel elektroforeziyle ayrılmış ve jel görüntüleme sistemi yardımı ile FF, Ff, ff, BB, Bb, bb genotipleri tanımlanmıştır. Sonuçlara göre bireyler homozigot veya heterozigot olarak adlandırılmıştır.

3.2.5.1. VDR Geninin FokI İle Kesim Sonucu

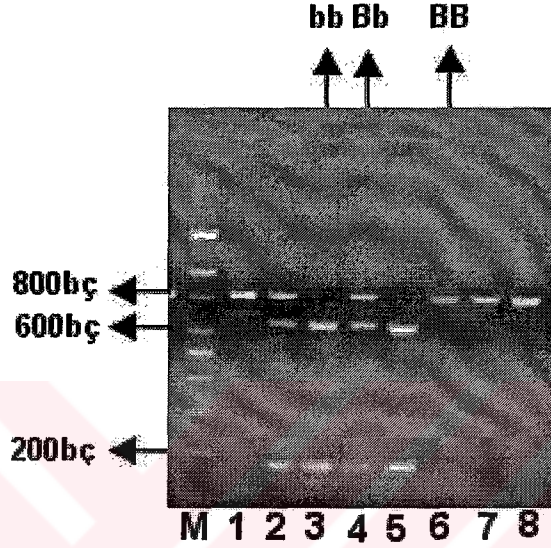
265 bç'lik PCR ürününün Fok I RE ile kesimi sonucu, kesim bölgesinin olup olmasına ve kesim sonucu oluşan fragmentlerin büyüklüğüne göre bireyler FF (265 bç), Ff (265 bç, 196 bç, 65 bç) ve ff (196 bç ve 65 bç) olarak adlandırılmıştır.



Resim 3.1. Fok I enzimi ile kesim sonucu oluşan fragmentlerin jel görüntüsü (M: marker, 1-8 örnekler).

3.2.5.2. VDR Geninin Bsm I İle Kesim Sonucu

825 bç'lik PCR ürünü, RE ile kesim sonucu elde edilen bantlara göre BB (825 bç), Bb (825 bç, 650 bç, 175 bç), bb (650 bç ,175 bç) olarak adlandırılmıştır.



Resim 3.2: Bsm I enzimi ile kesim sonucu oluşan fragmentlerin jel görüntüsü (M:marker, 1-8 örnekler).

3.2.6. Kullanılan Çözeltiler

3.2.6.1. Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltileri

Ultra Pure Agaroz jel (%2) Hazırlanması:

-8 gram agaroz tartılıp bir beher içinde 1XTBE solusyonu ile 400 ml ye tamamlanmış ve mikrodalga fırında %30 luk güçte 10 dakika kaynatılmıştır.

-20XTBE Stok Solüsyonunun Hazırlanması;

121 gr Tris (1M), 61.7 gr borik asit (1M) ve 7.44 gr EDTA(20mM) tartılarak, 1000 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür.

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS.11 paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında genotip dağılımları kıkare (X^2) testi ile değerlendirilmiştir. Gleason skorları ile genotipler arasında ilişki olup olmadığı ANOVA testi ile araştırılmıştır.



4. BULGULAR

Bu çalışmada, VDR geni Bsm I ve Fok I polimorfizmlerine ilişkin bulgular prostat kanserli olgular (yaş ortalaması 69 ± 7.11) ve prostat kanseri olmayan benign prostat hiperplazili kontrol grubu (yaş ortalaması 65 ± 7.17) arasında karşılaştırılmıştır. Çalışmada ayrıca, Gleason skorlarının kanser olgularındaki polimorfik genotiplerle ilişkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Gleason skorlarının hastalardaki dağılımı çizelge 4.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Hastalarda Gleason skor dağılımları

Hastalarda Gleason Skor Dağılımı	Hasta Sayısı	%
Gleason < 7	27	% 36
Gleason \geq 7	40	% 53.3
Gleason skoru verilemeyen	8	%10.7

4.1. Hasta Ve Kontrol Gruplarının Genotip Frekanslarının Karşılaştırılması

Hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları kıkare (χ^2) testi ile karşılaştırılmıştır.

4.1.1. VDR Geni Fok I Genotip Frekanslarının Hasta Ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması

Çizelge 4.2. Fok I genotip frekanslarının kanser ve kontrollerdeki dağılımı

Fok I Genotipleri	Kanserler		Kontroller	
	N	%	N	%
FF	36	48.0	46	41.1
Ff	31	41.3	54	48.2
ff	8	10.7	12	10.7
F allel frekansı	67	89.3	100	89.2
f allel frekansı	39	52.0	66	58.9

Kikare testi sonucunda, VDR geni Fok I polimorfizminin meydana getirdiği üç farklı genotip açısından (FF, Ff, ff) kanser olguları ve kontroller arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($P=0.6$, $P>0.05$). F ve f allel frekansları da hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark göstermemektedir ($P=0.6$, $P>0.05$).

4.1.2. VDR Geni Bsm I Genotip Frekanslarının Hasta Ve Kontrol Gruplarında Karşılaştırılması

Çizelge 4.3. Bsm I genotip frekanslarının kanser ve kontrollerdeki dağılımı

Bsm I Genotipleri	Kanserler		Kontroller	
	N	%	N	%
BB	17	22.6	38	33.9
Bb	31	41.3	47	42.0
bb	27	36.0	27	24.1
B allel frekansı	48	64.0	85	75.9
b allel frekansı	58	77.3	74	66.1

Yapılan kıkare (X^2) testi sonucunda, VDR geni Bsm I polimorfizminin meydana getirdiği üç farklı genotip açısından (BB, Bb, bb) kanser olguları ve kontroller arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($P=0.1$, $P>0.05$). B ve b allel frekansları da hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark göstermemektedir ($P=0.1$, $P>0.05$).

4.2. Hastaların Gleason Skorları İle Genotipleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hastaların Gleason skorları ile genotipler arasında anlamlı bir ilişkinin olup olmadığı ANOVA testi kullanılarak araştırılmıştır.

4.2.1. Prostat Kanseri Olgularında Gleason Skorları İle Fok I Genotip Dağılımları Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Çizelge 4.4. Gleason skorlarına göre hastaların Fok I genotip frekansları

Genotip	Gleason <7 Birey Sayısı(%)	Gleason ≥7 Birey Sayısı(%)
FF	14 (51.9)	16 (40.0)
Ff	11 (40.7)	19 (47.5)
ff	2 (7.4)	5 (12.5)

Yapılan ANOVA testi sonucunda, Gleason skorları ile Fok I genotipleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($P=0.5$, $P>0.05$).

4.2.2. Prostat Kanseri Olgularında Gleason Skorları İle Bsm I Genotipleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Çizelge 4.5. Gleason skorlarına göre hastaların Bsm I genotip frekansları

Genotip	Gleason <7 Birey Sayısı(%)	Gleason ≥7 Birey Sayısı(%)
BB	9 (33.3)	7 (17.5)
Bb	8 (29.6)	18 (45.0)
bb	10 (37.0)	15 (37.5)

Yapılan ANOVA testi sonucunda, Gleason skorları ile Bsm I genotipleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (P=0.2, P>0.05).

4.3. Hastaların Gleason Skorlarına Göre Sınıflandırılarak Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması

Yüksek ya da düşük Gleason skorlarına sahip hastaların genotip dağılımlarının kontrollerin genotip dağılımlarından farklı olup olmadığı kıkare (χ^2) testi ile araştırılmıştır.

4.3.1. Gleason Skoru 7 ve 7'den Büyük Hastaların Fok I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması

Çizelge 4.6. Gleason skoru 7 ve 7'den büyük hastalar ile kontrol grubunun Fok I Genotip dağılımlarının karşılaştırılması

Genotip	Kontrol Birey Sayısı (%)	Gleason ≥ 7 Birey Sayısı(%)
FF	46 (41.1)	16 (40.0)
Ff	54 (48.2)	19 (47.5)
ff	12 (10.7)	5 (12.5)

Yapılan kıkare(X^2) testi sonucunda, Gleason skoru ≥ 7 olan hastalar ile kontroller arasında genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (P=0.9, P>0.05)

4.3.2. Gleason Skoru 7'den Küçük Olan Hastaların Fok I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması

Çizelge 4.7. Gleason skoru 7'den küçük hastalar ile kontrol grubunun Fok I genotip dağılımlarının karşılaştırılması

Genotip	Kontrol Birey Sayısı (%)	Gleason < 7 Birey Sayısı(%)
FF	46 (41.1)	14 (51.9)
Ff	54 (48.2)	11 (40.7)
ff	12 (10.7)	2 (7.4)

Yapılan kıkare(χ^2) testi sonucunda, Gleason skoru < 7 olan hastalar ile kontroller arasında genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (P= 0.5, P>0.05).

4.3.3. Gleason Skoru 7 ve 7'den Büyük Hastaların Bsm I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması

Çizelge 4.8. Gleason skoru 7 ve 7'den büyük hastalar ile kontrol grubunun Bsm I genotip dağılımlarının karşılaştırılması

Genotip	Gleason ≥ 7 Birey Sayısı(%)	Kontrol Birey Sayısı (%)
BB	7 (17.5)	38 (33.9)
Bb	18 (45.0)	47 (42.0)
bb	15 (37.5)	27 (24.1)

Yapılan kıkare(χ^2) testi sonucunda, Gleason skoru ≥ 7 olan hastalar ile kontroller arasında genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (P= 0.09, P>0.05).

4.3.4. Gleason Skoru 7'den Küçük Olan Hastaların Bsm I Genotip Dağılımlarının Kontroller İle Karşılaştırılması

Çizelge 4.9. Gleason skoru 7'den küçük hastalar ile kontrol grubunun Bsm I genotip dağılımlarının karşılaştırılması

Genotip	Kontrol Birey Sayısı (%)	Gleason <7 Birey Sayısı(%)
BB	38 (33.9)	9 (33.3)
Bb	47 (42.0)	8 (29.6)
bb	27 (24.1)	10 (37.0)

Yapılan karekare(X^2) testi sonucunda, Gleason skoru < 7 olan hastalar ile kontroller arasında Bsm I genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (P= 0.3, P>0.05).

5. TARTIŞMA

Vitamin D reseptör geni ve prostat kanseri arasında herhangi bir ilişki olup olmadığı, bu güne dek bir çok araştırmaya konu olmuştur. Prostat kanseri insidansının kuzey enlemlerde yaşayan populasyonlarda daha yüksek olması, daha az ultraviyole ışınına maruz kalma ve dolayısı ile daha az D vitamini üretiminin, prostat kanser riski ve progresyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür (105). D vitamininin aktif formu olan $1,25(OH)_2D_3$, bir çok hücrede olduğu gibi, normal prostat ve prostat kanseri hücrelerinde de, hücre çoğalmasını baskılamakta ve hücre farklılaşmasını uyarmaktadır (1, 76). D vitamininin fizyolojik etkilerine nükleer hormon reseptörleri süper ailesinin bir üyesi olan vitamin D reseptör geni aracılık etmektedir. Vitamin D reseptör geni üzerinde bir çok tek nükleotid polimorfizmi saptanmış ve bunların prostat kanseri ile ilişkisini araştıran bir çok çalışma yapılmıştır (118). Bu güne kadar vitamin D reseptör geni Fok I ve Bsm I polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların özellikleri Çizelge 5.1’de, elde edilen genotip dağılımları ise Çizelge 5.2 ve Çizelge 5.3’ de özetlenmiştir.

Çalışmamızda, prostat kanserli toplam 75 olgu ve bening prostat hiperplazili 112 kontrolden oluşan bir Türk populasyonu, vitamin D reseptör geninin II. ekzonunda yer alan ve Fok I (g.27823C>T) polimorfizmi ve vitamin D reseptör geninin VIII. intronunda yer alan ve Bsm I (g.60890G>A) polimorfizmi açısından değerlendirilmiştir.

Chokkalingam ve arkadaşları (26), Asya populasyonunda prostat kanseri ile vitamin D reseptör geni Fok I polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişler, yalnızca ff genotipli bireyler arasında, plazma insulin-benzeri büyüme faktörü- 3 (IGFBP- 3) düzeyi yüksek olanların prostat kanser riskini azalttığını öne sürmüşler, IGFBP-1 içinde benzer bir ilişki saptadıklarını bildirmişlerdir. Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada (108), $1,25D$ ’nin büyümeyi inhibe eden etkileri için IGFBP-3’ün gerekli olmadığını ortaya koymuştur. Dolayısı ile hastaları IGFBP-3 düzeylerine göre gruplandırmak çok anlamlı gözükmemektedir. Ayrıca, aynı araştırmacılar, genel olarak prostat kanseri ile Fok I polimorfizmleri arasında ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir.

Yine Asya populasyonunda Yang ve arkadaşları da (124), yaptıkları çalışmada Fok I polimorfizmi ile prostat kanseri arasında ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir. Yapılan iki çalışmanın sonucunda, vitamin D reseptör geni Fok I polimorfizminin prostat kanseri ile doğrudan ilişkisinin olmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızdaki sonuçlar bu çalışmalardakiler ile uyumludur. Mishra ve arkadaşları ise (81), Hindistan'da gerçekleştirdikleri çalışmada F alelinin prostat kanseri riskini belirlemede önemli rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Biz, çalışmamızda Fok I polimorfizmi ile prostat kanseri arasında ilişki olmadığını saptadık. Çalışmamızın sonuçları, Mishra ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olmamakla birlikte, Yang ve arkadaşları, Chokkalingam ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyumludur.

Correa-Cerro ve arkadaşlarının Avrupa kökenlilerde yaptığı çalışmada (28) prostat kanseri ile Fok I genotipleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Oakley-Girvan ve arkadaşları (94), Afrikalı Amerikalılar, Amerikalı beyazlar ve çoğunluğu beyazlardan oluşan ailelerde yaptıkları çalışmalarda beyazlarda prostat kanseri ile VDR fok I genotipleri arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır. Bulgular bizim çalışmamız ile uyumludur. Aynı çalışmada, Afrika kökenli Amerikalılar'da F alelinin homozigotluğu ile prostat kanseri arasında ilişki saptanmıştır. Ancak Afrika kökenli Amerikalılar ile beyazlar arasında Fok I genotip dağılımları açısından son derece büyük farklar olduğu da bildirilmiştir. Afrika kökenli Amerikalılar'da Fok I polimorfizmine ilişkin yapılan başka bir çalışma olmadığı için verilerin ileriki çalışmalar ile doğrulanması gerektiği bildirilmiştir. John ve arkadaşları ise (64), güneş ışığına yüksek oranda maruz kalanlarda FF ve ff genotiplerinin riskte indirgenme ile ilişkili olduğunu bildirdikleri çalışmada Afrika kökenlilere yer vermiş, ancak genotip değerlendirmelerini beyazlarla bir bütün olarak gerçekleştirmişlerdir. Cheteri ve arkadaşları da (25), beyazlarda gerçekleştirdikleri çalışmada prostat kanser riski ve fok I genotipleri arasında ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir. Hayes ve arkadaşları (50), Avrupa kökenli bireylerden oluşan populasyonda gerçekleştirdikleri çalışmada prostat kanseri ile vitamin D reseptörü Fok I polimorfizmi arasında ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir. Hayes ve arkadaşlarının, bu güne dek yapılan çalışmalar arasında en fazla örnek içeren çalışma olduğu göze çarpmaktadır. Sonuç olarak verilerimiz Oakley

–Girvan ve arkadaşları (beyazlarda), Cheteri ve arkadaşları, Hayes ve arkadaşları, Cerro ve arkadaşlarının verileri ile uyum göstermektedir.

Bodiwala ve arkadaşları (12) ile John ve arkadaşları (64), yaptıkları çalışmalarda genel genotip dağılımları açısından bütün olarak değerlendirme yapıldığında prostat kanseri ile Fok I genotipleri arasında anlamlı bir ilişki bildirmemişlerdir. Çalışmamız bu sonuç ile uyumludur. Ancak aynı araştırmacılar, UV radyasyonu veya güneş ışığına maruz kalma oranı yüksek olan erkeklerde, FF ve Ff genotiplerinin yüksek aktiviteleri ile prostat kanser riskinin indirgenmesini öne sürmüşlerdir. İki çalışmada da vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin prostat kanser riskindeki önemi UV radyasyonu ve güneş ışığına maruz kalma ve dolayısı ile D vitamini düzeylerindeki değişiklik ekseninde incelenmiştir. Ancak, 1,25-dihidroksivitamin D düzeylerini değiştiren tek faktör UV radyasyonuna maruz kalma değildir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada (38), UV radyasyonuna maruz kalmanın 25(OH)D konsantrasyonları ile ilişkisinin, vücut kitle indeksi, fiziksel aktivite ve D vitamini alımı gibi diğer prediktörlerden daha zayıf olduğu öne sürülmüştür. Cheteri ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada diyetel takviyeleri de incelemişler, ancak Fok I genotipleri açısından prostat kanseri hastaları ve kontroller arasında anlamlı bir ilişki bildirmemişlerdir. Dolayısıyla Bodiwala ve John'un çalışmaları Cheteri ve arkadaşlarının çalışması ile çelişmektedir. Ayrıca John ve arkadaşları ile Bodiwala ve arkadaşlarının çalışmalarında, hasta ve kontrollerin bütün olarak değerlendirilmesinde, genotip dağılımlarının birbirine yakın olması da, bizim çalışmamızla uyumludur.

Xu ve arkadaşları (123), ABD'de yaptıkları çalışmada, ff genotipli bireylerde Gleason derecesi 4/5 olan hasta oranının, FF ve Ff genotipine sahip bireylerdeki orandan daha düşük olduğunu ve sonuç olarak da, ff genotipinin FF ve Ff genotipine göre daha az agresif prostat kanser tanısı ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Luscombe ve arkadaşları ise, Avrupa popülasyonunda, ff genotipinin metastaz riskini artırdığını, dolayısı ile daha agresif hastalık ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (78). Bu iki çalışmanın bulguları birbiri ile taban tabana zıt olduğu gibi, hastalığın histopatolojik özellikleri ile Fok I genotiplerinin herhangi bir ilişkisinin

olmadığını saptadığımız bizim çalışmamız ve histopatolojik bulgular ile Fok I genotipleri arasında anlamlı bir ilişki bildirmeyen Tayeb ve arkadaşlarının (116) ve histopatolojik özellikler ile genotip dağılımları arasında herhangi bir ilişki saptamadıklarını bildiren Mishra ve arkadaşlarının çalışmaları ile de çelişki göstermektedir. Ntais ve arkadaşlarının (91), yaptıkları meta analizde bildirdikleri gibi , histopatolojik sınıflama özellikleri çalışmalar arasında farklılıklar gösterdiği için karşılaştırma yapmak güçleşmekte, bulgulardaki zıtlıklar göz önüne alındığında, sonuçların realiteden çok tesadüfi olma olasılığı gündeme gelmektedir.

Ma ve arkadaşları (79), ABD’de büyük çoğunluğu beyazlardan oluşan bir çalışmada, VDR Bsm I genotipleri ile prostat kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, düşük plazma 1,25 dihidroksivitamin D düzeylerine sahip bireylerde BB ve Bb genotiplerinin, kanser riskinde % 57 azalma ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu veriyi doğrulayıcı bir çalışma yapılmadığı gibi, in vitro çalışmalarda Bsm I polimorfizminin vitamin D reseptörü ekspresyonunda etkisinin olmadığı da bildirilmiştir (45). Ma ve arkadaşlarının genel karşılaştırmalarda, prostat kanseri ile Bsm I polimorfizmi arasında ilişki saptamamış olmaları da bizim verilerimizi doğrulamaktadır.

Ingles ve arkadaşları (60), Afrika kökenli Amerikalılar ile yaptıkları çalışmada, b alellerinin ileri prostat kanseri riskini yarı yarıya indirdiğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışma, VDR Bsm I polimorfizmleri ile prostat kanser riski arasında Afrikalı Amerikalılar’da herhangi bir ilişki saptayamayan Oakley-Girvan ve arkadaşlarının (94) çalışması ile çelişmektedir. Bizim çalışmamızda da prostat kanseri ile Bsm I genotipleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Dolayısıyla çalışmamızın sonuçları Ingles ve arkadaşlarınıninki ile uyumlu değildir.

Oakley-Girvan ve arkadaşları (94), gerçekleştirdikleri çalışmada, beyazlarda prostat kanseri ile vitamin D reseptör geni Bsm I polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir. Cheteri ve arkadaşları da, Amerikalı beyazlardan oluşan bir populasyonda, lokalize hastalığa sahip bireylerde Bsm I bb

genotipinin çok az oranda artmış prostat kanseri riski ile ilişkili olduğunu, ancak sonuç olarak VDR genotiplerinin prostat kanserinin önemli bir belirteci olmadığını vurgulamışlardır. Bu nedenle çalışmamız bu iki araştırmacının çalışması ile uyumludur.

Huang ve arkadaşları (58), Taiwan popülasyonunda, en az bir B alelinin özellikle 72 yaşın altındaki erkeklerde prostat kanserine karşı koruyucu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Habuchi ve arkadaşları da (46), Asya popülasyonunda Bb ve BB genotiplerinin prostat kanseri riskinde 1/3'lük, benign prostat hiperplazisi riskinde ise 1/2'lik indirgenme ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Ancak bu iki çalışma, Suzuki ve arkadaşları (113) tarafından, Japonya'da ailesel prostat kanserlerinde gerçekleştirilen ve BB genotipinin riskte hafif artışla ilişkili olduğunu bildiren çalışması ile taban tabana zıt olduğu gibi, yine Asya popülasyonunda prostat kanseri ile Bsm I genotipleri arasında ilişki saptamadıklarını bildiren Liu ve arkadaşlarının çalışmaları (74) ile, Chokkalingam ve arkadaşlarının (26), Asya popülasyonunda prostat kanseri ile VDR Bsm I polimorfizminin ilişkisinin olmadığını bildiren çalışması ve Türk popülasyonunda VDR Bsm I genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkisinin olmadığını ortaya koyduğumuz bizim çalışmamızla da çelişmektedir. Dolayısı ile bizim çalışmamız Liu ve arkadaşları, Chokkalingam ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur.

Hayes ve arkadaşları (50), Avustralyalı beyazlardan oluşan büyük bir popülasyonda yaptıkları çalışmada vitamin D reseptör geni Bsm I polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisinin olmadığını ortaya koymuşlardır. Çalışmamızın sonuçları Hayes ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur.

Williams ve arkadaşları (122), Afrika kökenli Amerikalı ve Beyaz Amerikalı hastalara ait biyopsi örneklerden yaptıkları çalışmada Bsm I polimorfizmi ile, prostat kanserinin Gleason skoru arasında ilişki bildirmemişlerdir. Biz de çalışmamızda hastaların histopatolojik özellikleri ile Bsm I genotipleri arasında herhangi bir ilişki olmadığını saptadık. Suzuki ve arkadaşları da (113), çalışmalarında histopatolojik özelliklere göre sınıflama yapılması sonucu VDR Bsm I genotipleri ile

prostat kanseri arasında ilişki göstermediğini bildirmişlerdir. Dolayısı ile çalışmalarımız Williams ve arkadaşları, Suzuki ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyumludur.

Ntais ve arkadaşları (91), yaptıkları meta analizde, vitamin D reseptör gen Fok I ve Bsm I genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamız da meta analizde ortaya konulan bu sonucu desteklemektedir.

D vitamininin, birçok diğer dokuda olduğu gibi gerek normal prostat ve gerekse prostat kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını baskılayıcı ve hücre farklılaşmasını indükleyici etkileri saptanmış, bunun üzerine çalışmalar, D vitamininin biyolojik etkilerine aracılık eden VDR genindeki polimorfizmler üzerinde yoğunlaşmıştır (1, 30, 48, 62, 76, 88). Vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin vitamin D reseptör üretimi ya da fonksiyonunda ne ölçüde önemli olduğunu araştıran bir çok çalışma yapılmış, ancak çelişkili veriler elde edilmiştir (45, 121). VDR gen polimorfizmlerinin oluşturduğu genotip frekansları popülasyondan popülasyona son derece büyük farklılıklar göstermektedir. Elde edilen veriler de birbirinden çok farklıdır. Gerek Asya ve Afrika popülasyonlarında, gerekse ‘Caucasian’ olarak anılan Avrupa popülasyonlarında VDR gen polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda bu denli farklı sonuçlara ulaşılması, bizim de çalışmamızda VDR gen polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda prostat kanseri ile ilişkisinin olmadığını ortaya koymamız, VDR geni Fok I ve Bsm I polimorfizmlerinin prostat kanserinin önemli belirteçleri olmadıklarını göstermektedir. Çalışmamız VDR geni Fok I ve Bsm I polimorfizmleri ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi Türk popülasyonunda araştıran ilk çalışmadır.

Çizelge 5.1. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda kullanılan grupların özellikleri

Çalışmalardaki Grupların Özellikleri				
Araştırmacı, Yıl	Ülke	Populasyon	Prostat Kanseri Olguları	Kontrol Grubu Bireyleri
Ingles ve arkadaşları, 1998 (60)	ABD	Afrika	45-75 yaş arası 151 kişi	45-75 yaş arası rasgele seçilen 174 kişi
Ma ve arkadaşları, 1998 (79)	ABD	Avrupa	40-84 yaş arası 376 kişi	40-84 yaş arası 597 doktor
Correa-Cerro ve arkadaşları, 1999 (28)	Almanya	Avrupa	46-90 yaş arası 132 kişi	64-86 yaş arası 105 kişi
Habuchi ve arkadaşları, 2000 (46)	Japonya	Asya	Ortalama 72.1 yaş 222 kişi	128 erkek 209 BPH 198 bayan
Chokkalingam ve arkadaşları 2001 (26)	ABD	Asya	50-94 yaş arası 275 kişi	Ortalama 71.9 yaş, rasgele seçilen 509 kişi
Luscombe Ve arkadaşları, 2001 (77,78)	İngiltere	Avrupa	Ortalama 70.6 yaş, 210 kişi	Ortalama 67 yaş, 155 kişi, BPH
Suzuki Ve arkadaşları, 2003 (113)	Japonya	Asya	40-88 yaş arası 81 ailesel vaka	51-88 yaş arası 105 kişi
Xu ve arkadaşları, 2003 (123)	ABD	Avrupa	227 parafin doku	-
Liu ve arkadaşları, 2003 (74)	Çin	Asya	100 kişi	106 kişi
Huang ve arkadaşları, 2004 (58)	Taiwan	Asya	Ortalama 72 yaş 160 kişi	Ortalama 72 yaş, 205 kişi
Williams ve arkadaşları, 2004 (122)	ABD	Avrupa	428 kişi	-
Williams ve arkadaşları, 2004 (122)	ABD	Afrika	310 kişi	-

Çizelge 5.1'in devamı.

Çalışmalardaki Grupların Özellikleri				
Araştırmacı Yıl	Ülke	Populasyon	Prostat Kanseri Olguları	Kontrol Grubu Bireyleri
Oakley-Girvan ve arkadaşları, 2004 (94)	ABD	Afrika	51-70 yaş arası 113 kişi	51-70 yaş arası 121 kişi
Oakley-Girvan ve arkadaşları 2004 (94)	ABD	Avrupa	51-70 yaş arası 232 kişi	51-70 yaş arası 171 kişi
Bodiwala ve arkadaşları, 2004 (12)	İngiltere	Avrupa	Ortalama 70.4 yaş, 368 kişi	Yaş ortalaması 67.2 Olan 243 kişi, BPH
Cheteri ve arkadaşları 2004 (25)	ABD	Avrupa	40-64 yaş arası 559 kişi	40-64 yaş arası 523 kişi
Tayeb ve arkadaşları, 2004 (116)	İngiltere	Avrupa	28 biyopsi örneği	56 kişi, BPH
Mishra ve arkadaşları, 2005 (81)	Hindistan	Hint	43- 89 yaş arası 128 kişi	42-91 yaş arası 147 kişi
Hayes ve arkadaşları, 2005 (50)	Avusturalya	Avrupa	812 kişi	713 kişi
John ve arkadaşları, 2005 (64)	ABD	Avrupa ve Afrika	40-79 yaş arası 426 kişi	40-79 yaş arası 440 kişi
Bizim çalışmamız	Türkiye	Türk	50-89 yaş arası 75 prostat kanseri hastası	50-89 yaş arası 112 BPH kontrolü

Çizelge 5.2. Çalışmalarda elde edilen Fok I genotip dağılımları

Araştırmacı/Yıl	Populasyon	Prostat Kanseri Hastaları			Kontroller		
		FF(%)	Ff (%)	ff (%)	FF (%)	Ff (%)	ff (%)
John ve ark., 2005 (64)	Avrupa ve Afrika	36	48	16	39	48	13
Mishra ve ark., 2005 (81)	Hint	60.9	35.2	3.9	42.2	46.9	10.9
Hayes ve ark., 2005 (50)	Avrupa	42	44	14	41	45	14
Oakley-Girvan ve ark.,2004 (94)	Afrika	74	22	4	61	35	4
Oakley-Girvan ve ark.,2004 (94)	Avrupa	37	52	11	40	45	15
Cheteri ve ark., 2004 (25)	Avrupa	36.5	44.2	18.1	39.6	44.7	15.3
Tayeb ve ark., 2004 (116)	Avrupa	57	36	7	37	43	20
Bodiwala ve ark., 2004 (12)	Avrupa	39.4	44.3	16.3	44.4	41.2	14.4
Chokkalingam ve ark., 2001 (26)	Asya	27.3	50.8	21.9	28.8	50.7	20.5
Luscombe ve ark.,2001 (77)	Avrupa	42.2	42.2	15.6	40.7	44.0	15.3
Correa-Cerro ve ark., 1999 (28)	Avrupa	42	49	9	44	37	8
Bizim Çalışmamız	Türkiye	48.0	41.3	10.7	41.1	48.2	10.7

Çizelge 5.3. Çalışmalarda elde edilen Bsm I genotip dağılımları

Araştırmacı/Yıl	Populasyon	Prostat Kanseri Hastaları			Kontroller		
		BB (%)	Bb (%)	bb (%)	BB (%)	Bb (%)	bb (%)
Hayes ve ark., 2005 (50)	Avrupa	36	46	18	33	49	18
Oakley-Girvan ve ark., 2004 (94)	Avrupa	17	53	30	19	46	35
Oakley-Girvan ve ark., 2004 (94)	Afrika	10	40	50	10	42	48
Cheteri ve ark., 2004 (25)	Avrupa	21.5	38.6	37	24.9	40.2	32.5
Huang ve ark., 2004 (58)	Asya	1.3	6.9	91.9	2.9	12.7	84.4
Suzuki ve ark., 2003 (113)	Asya	7.4	21	71.6	1.9	19	79
Liu ve ark., 2003 (74)	Asya	0	7.77	92.23	0	5.66	94.34
Chokkalingam ve ark., 2001 (26)	Asya	2.5	10.6	86.9	2.4	10.4	87.2
Habuchi ve ark., 2000 (46)	Asya	3.6	18.9	77.5	4.5	33.5	77.5
Ma ve ark., 1998 (79)	Avrupa	14	49.7	36.3	15.2	50.8	34
Bizim çalışmamız	Türkiye	22.6	41.3	36.0	33.9	42.0	24.1

Sonuç olarak, Vitamin D reseptör gen polimorfizmleri, Türk populasyonunda, ilerleyen yaşlarda prostat Őikayetleri olan hastalar arasında iyi huylu ve kötü huylu büyümeyi ayırt etmeye yardımcı olacak genetik markırlar olmaktan çok uzaktırlar.



6. SONUÇ

Çalışmamızda, prostat kanserli 75 erkek olgu ve prostat kanseri olmayan, benign prostat hiperplazili 112 erkek kontrolde, PCR-RFLP tekniği ile Fok I ve Bsm I polimorfizmleri araştırılmıştır. Bu polimorfizmlerin hasta ve kontroller arasında genotip dağılımı açısından farklılık gösterip göstermediğini ve prostat kanserinde genetik markır olarak kullanılabilirliklerini belirlemek amaçlanmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda;

- a. Türk populasyonunda VDR geni Fok I polimorfizmi FF, Ff ve ff genotiplerinin dağılımının prostat kanseri hastaları ve benign prostat hiperplazisine sahip bireylerden oluşan kontrol gruplarında birbirine çok yakın oldukları, genotip dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı ($P= 0.6$, $P>0.05$),
- b. Türk populasyonunda VDR geni Bsm I polimorfizmi BB, Bb ve bb genotiplerinin dağılımının prostat kanseri hastaları ve benign prostat hiperplazisine sahip bireylerden oluşan kontrol gruplarında birbirine çok yakın oldukları, genotip dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı ($P= 0.1$, $P>0.05$)
- c. Prostat kanseri olgularının Gleason skorları ile Fok I ($P= 0.5$, $P>0.05$) ve Bsm I ($P= 0.2$, $P> 0.05$) genotipleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olmadığı,

saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR DİZİNİ

1. AHONEN, M.: Vitamin D in Human Ovarian and Prostate Cancer. Academic Dissertation, Acta Universitatis Tamperensis 885, University of Tampere, (2002).
2. ALBERTS, B., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WALTER, P.: Molecular Biology of the Cell, Fourth Edition, Garland Publishing, Newyork, (2002).
3. ALERS, J.C., KRIJTENBURG, P.J., VIS, A.N., HOEDEMAEKER, R.F., WILDHAGEN, M F., VAN DER KWAST, SCHRODER, F.H., TANKE, H.J., VAN DEKKEN, H.:Molecular cytogenetic analysis of prostatic adenocarcinomas from screening studies: early cancers may contain aggressive genetic features. Am J Pathol, 158:399-406, (2001).
4. ALTAN, N.: Biyokimya, Olgu Sunumlu Yaklaşım, Altıncı Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, (2000).
5. ANAFARTA, K., GÖĞÜŞ, O., ARIKAN, N., BEDÜK, Y.: Temel Üroloji. Güneş Kitabevi, Ankara, (1998).
6. ARAI, H., MIYAMOTO, K., TAKETANI, Y., YAMAMOTO, H., IEMORI, Y., MORITA, K., TONAI, T., NISHISHO, T., MORI, S., TAKEDA, E., A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. J. Bone Miner. Res., 12(6): 915-921, (1997).
7. ARAI, H., MIYAMOTO, K.I., YOSHIDA, M., YAMAMOTO, H., TAKETANI, Y., MORITA, K., KUBOTA, M., YOSHIDA, S., IKEDA, M., WATABE, F., KANEMASA, Y., TAKEDA, E.: The polymorphism in the caudal-related

homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J. Bone Miner. Res.*, 16(7):1256-64, (2001).

8. ARANDA, A., PASCUAL, A.: Nuclear Hormone Receptors and Gene Expression. *Physiological Reviews*, vol. 81, No. 3, U.S.A., (2001).

9. ARNOLD, J.T., ISAACS, J.T.: Mechanisms involved in the progression of androgen-independent prostate cancers: it is not only the cancer cell's fault. *Endocr. Relat. Cancer*, 9:61-73, (2002).

10. BAKER, A.R., MCDONNELL, D.P., HUGHES, M., CRISP, T.M., MANGELSDORF, D.J., HAUSSLER, M.R., PIKE, J.W., SHINE, J., O'MALLEY, B.W.: Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 85: 3294-3298, (1988).

11. BARAN, D.T.: Nongenomic actions of the steroid hormone $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃. *Cell. Biochem.*, 56: 303-306, (1994).

12. BODIWALA, D., LUSCOMBE, C.J., FRENCH, M.E., LIU, S., SAXSBY, M.F., JONES, P.W., FRYER, A.A., STRANGE, R.C.: Polymorphisms in the vitamin D receptor gene, ultraviolet radiation and susceptibility to prostate cancer. *Environ. And Molecular Mutagenesis*, 43(2): 121-127, (2004).

13. BOOKSTEIN, R., MACGROGAN, D., HILSENBECK, S.G., SHARKEY, F., ALLRED, D.C.: p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. *Cancer Res.*, 53:3369-3373, (1993).

14. BOSTWICK, D.G., QIAN, J.: Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: relationship with carcinoma in 217 whole-mount radical prostatectomies. *Am. J. Surg. Pathol.*, 19:506-18, (1995).

15. BOSTWICK, D.G.: Prostatic intraepithelial neoplasia is a risk factor for cancer. *Semin. Urol. Oncol.*, 17:187-98, (1999).
16. BOUILLON, R., OKAMURA, W.H., NORMAN, A.W.: Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocr. Rev.*, 2: 200-257, (1995).
17. BOWEN, C., BUBENDORF, L., VOELLER, H.J., SLACK, R., WILLI, N., SAUTER, G., GASSER, T.C., KOIVISITO, P., LACK, E.E., KONONEN, J., KALLIONIEMI, O.P.: Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Res.*, 60:6111-6115, (2000).
18. BROOKS, J.D., WEINSTEIN, M., LIN, X., SUN, Y., PIN, S.S., BOVA, S.S., EPSTEIN, J.I., ISAACS, W.B., NELSON, W.G.: CG island methylation changes near the GSTP1 gene in prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, 7:531-536, (1998).
19. BROWN, A.J., DUSSO, A., SLATOPOLSKY, E.: Vitamin D. *Am. J. Physiol.*, 277: 157-175, (1999).
20. BUBENDORF, L., KONONEN, J., KOIVISTO, P., SCHRAML, P., MOCH, H., GASSER, T.C., WILLI, N., MIHATSCH, M.J., SAUTER, G., KALLIONIEMI, O.P.: Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high-throughout fluorescence in situ hybridisation on tissue microarrays. *Cancer Res.*, 59:803-806, (1999).
21. CAIRNS, P., OKAMI, K., HALACHMI, S., HALACHMI, N., ESTELLER, M., HERMAN, J.G., JEN, J., ISAACS, W.B., BOVA, G.S., SIDRANSKY, D.: Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res.*, 57:4997-5000, (1997).
22. CARLBERG, C., POLLY, P.: Gene regulation by vitamin D3. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr., Review*, 8(1):19-42, (1998).

23. CHAN, J.M., GIOVANNUCCI, E.L.: Dairy products, calcium, and vitamin D and risk of prostate cancer. *Epidemiol. Rev.*, 23(1):87-92, (2001).
24. CHER, M.L., BOVA, G. S., MOORE, D.H., SMALL, E.J., CARROL, P.R., PIN, S.S., EPSTEIN, J.I., ISAACS, W.B., JENSEN, R.H.: Genetic alterations in untreated metastases and androgen-independent prostate cancer detected by comparative genomic hybridisation and allotyping. *Cancer Res*, 56:3091-3102, (1996).
25. CHETERI, M.B.K., STANFORD, J.L., FRIEDRICHSEN, D.M., PETERS, M.A., IWASAKI, L., LANGOIS, M.C., FENG, Z., OSTRANDER, E.A.: Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Prostate Cancer Risk. *The Prostate*, 59:409-418, (2004).
26. CHOKKALINGAM, A.P., MCGLYNN, K.A., GAO, Y.T., POLLAK, M., DENG, J., SESTERHENN, I.A., MOSTOFI, F.K., FRAUMENI, J.F., HSING, A.W.: Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms, Insulin-like Growth factors, and Prostate Cancer Risk: A Population-based Case- Control Study in China. *Cancer Research*, 61:4333-4336, (2001).
27. CORDER, E.H., GUESS, H.A., HULKA, B.S., FRIEDMAN, G.D., SADLER, M., VOLLMER, R.T., LOBAUGH, B., DREZNER, M.K., VOGELMAN, J.H., ORENTREICH, N.: Vitamin D and prostate cancer: a prediagnostic study with stored sera. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2(5):467-72, (1993).
28. CORREA-CERRO, L., BERTHON, P., DRELON, S., MANGIN, P., FOURNIER, G., CUSSENOT, O., VOGEL, W.: Vitamin D receptor polymorphisms as markers in prostate cancer. *Hum. Genet.*, 105:281-287, (1999).
29. DE MARZO, A.M., NELSON, W.G., ISAACS, W.B., EPSTEIN, C.I.: Pathological and Molecular Aspects of Prostate Cancer. *Lancet*, 361:955-964, (2003).

30. DEUTSCH, E., MAGGIORELLA, L., ESCHWEGE, P, BOURTHIS, J.: SORIA, J.C.: Environmental, genetic, and molecular features of prostate cancer. *Lancet Oncol.*, 5:303-313, (2004).
31. DONG, J. T., SUZUKI, H., PIN, S. S., BOVA, G.S., SCHALKEN, J.A., ISAACS, W.B., BARRETT, J.C., ISAACS, J.T.: Down-regulation of the KAI1 metastasis suppressor gene during the progression of human prostatic cancer infrequently involves gene mutation or allelic loss. *Cancer. Res.*, 56:4837-4390, (1996).
32. DUARTE, J., PERRIERE, G., LAUDET, V., ROBINSON-RECHAVI, M.: NUREBASE: Database of nuclear hormone receptors. *Nucleic Acids Res* 30: 364-368, (2002).
33. DUSSO, A.S., BROWN, A.J., SLATOPOLSKY, E.: Vitamin D. *American J. Phsiol.*, 289(1): F8-28, (2005).
34. EKMAN, P., GRÖNBERG, H., MATSUMAYA, H., KIVINEVA, M., BERGERHEIM, S.R., LI, C.: Links between genetic and environmenatal factors and prostate cancer risk. *The Prostate*, 39:262-268, (1999).
35. EL GEDALY, A., BUBENDOR, L., WILLI, N., FU, W., RICHTER, J., MOCH, H., MIHATSCH, M.J., SAUTER, G., GASSER, T.C.: Discovery of new DNA amplification loci in prostate cancer by comperative genomic hybridisation. *Prostate*, 46:184-190, (2001).
36. ELO, J.P., VISAKORPI, T.: Molecular genetics of prostate cancer. *Ann. Med.*, 33:130-141, (2001).
37. FARACO, J.H., MORRISON, N.A., BAKER, A., SHINE, J., FROSSARD, P.M.: Apa I dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic Acids Res.*, 17: 2150, (1989).

38. FESKANICH, D., MA, J., FUCHS, C.S., KIRKNER, G.J., HANKINSON, S.E., HOLLIS, B.W., GIOVANUCCI, E.L.: Plasma Vitamin D Metabolites and Risk of Colorectal Cancer in Women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2004,13(9), (2004).
39. FU, W., BUBENDORF, L., WILLI, N., MOCH, H., MIHATSCH, M.J., SAUTER, G., GASSER, T.C.: Genetic changes in clinically organ-confined prostate cancer by comparative genomic hybridisation. *Urology*, 56:880-885, (2000).
40. GANN, P.H.: Risk Factors for Prostate Cancer. *Reviews in Urology*, Vol. 4 Suppl. 5, (2002).
41. GIOVANUCCI, E.: The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: A review (United States). *Cancer Causes and Control*, 16: 83-95, (2005).
42. GRAFF, J.R., HERMAN, J.G., LAPIDIUS, R.G., CHOPRA, H., XU, R., JARRAD, D.F., ISAACS, W.B., PITHA, P.M., DAVIDSON, N.E., BAYLIN, S.B.: E-cadherin expression is silenced by DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. *Cancer Res*, 55:5195-5199, (1995).
43. GRANT, W.B., An estimate of premature cancer mortality in the U.S. due to inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer*, 15,94(6):1867-75, (2002).
44. GRAY, I.C., STEWART, L.M., PHILLIPS, S.M., HAMILTON, J.A., GRAY, N.E., WATSON, G.J., SPURR, N.K., SNARY, D.: Mutation and expression analysis of the putative prostate tumour-suppressor gene PTEN. *Br. J. Cancer.*, 78:1296-1300, (1998).
45. GROSS, C., INES, M., MUSIOL, T., ECCHLESHALL, R., MALLOY, P.J., FELDMAN, D.: Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms: Analysis of Ligand Binding and Hormone Responsiveness in Cultured Skin Fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 242: 467-473, (1998).

46. HABUCHI, T., SUZUKI, T., SASAKI, R., WANG, L.Z., SATO, K., SATOH, S., AKAO, T., TSUCHIYA, N., SHIMODA, N., WADA, Y., KOIZUMI, A., CHIHARA, J., OSAMU, O.A., KATO, T.: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Research*, 60 (2): 305-308, (2000).
47. HANCHETTE, C.L., SCHWARTZ, G.G.: Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation, *Cancer*, 70: 2861–2869, (1992).
48. HANSEN, C.M., BINDERUP, L., HAMBERG, K.J., CARLBERG, C.: Vitamin D and cancer: effects of 1,25(OH)₂D₃ and its analogs on growth control and tumorigenesis, Review. *Front. Biosci.* 1,6:D820-48, (2001).
49. HAUSSLER, M.R., WHITFIELD, G.K., HAUSSLER, C.A., HSIEH, J.C., THOMPSON, P.D., SELZNICK, S.H., DOMINGUEZ, C.E., JURUTKA, P.W.: The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J. Bone Miner. Res.*, 13(3):325-349, (1998).
50. HAYES, V.M., SEVERI, G., PADILLA, E.J.D., SARAH, A., SOUTHEY, M.C., SUTHERLAND, R.L., HOPPER, J.L., GILES, G.G.: Genetic Variants in the Vitamin D Receptor Gene and Prostate Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14(4): 997-999, (2005).
51. HEIDENBERG, H.B., SESTERHAN, I.A., GADDIPATI, J.P., WEGHORST, C.M., BUZARD, G.S., MOUL, J.W., SRIVASTAVA, S.: Alteration of the tumor suppressor gene p53 in a high fraction hormone refractory prostate cancer. *J. Urol.*, 154:414-421, (1995).
52. HEWISON, M., ZEHNDER, D., BLAND, R., STEWART, P.M.: 1 α -Hydroxylase and the action of vitamin D. *J. Mol. Endocrinol.*, 25: 141-148, (2000).

53. HSING, A.W., TSAO, L., DEVESA, S.S.: International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *Int J Cancer*, 85:60–67, (2000).
54. <http://www.endotext.org/male/male9/male9.htm>
55. <http://www.endotext.org/male/male10/male10.htm>
56. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=601769>
57. <http://www.saglik.gov.tr/extras/istatistikler/apk2001/094.htm>
58. HUANG, S.P., CHOU, Y.H., CHANG, W.S.W., WU, M.T., CHEN, Y.Y., YU, C., WU, T.T., LEE, Y.H., HUANG, J.K., WU, W.J., HUANG, C.H.: Association between vitamin D receptor polymorphisms and prostate cancer risk in a Taiwanese population. *Cancer Letters*, 207(1): 69-77, (2004).
59. HUSTMYER, F.G., DELUCA, H.F., PEACOCK, M.: Apa I, Bsm I, EcorV, AND Taq I polymorphisms at the human vitamin D receptor gene locus in Caucasians, Blacks and Asians. *Hum. Mol. Genet.*, 2:487, (1993).
60. INGLES, S.A., COETZEE, G.A., ROSS, R.K., HENDERSON, B.E., KOLONEL, L.N., CROCITTO, L., WANG, W., HAILE, R. W.: Association of prostate cancer with vitamin D receptor haplotypes in African Americans. *Cancer Research*, 58(8):1620-1623, (1998).
61. ISSA, L.L., LEONG, G.M., EISMAN, J.A.: Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflamm. Res., Review*, Dec, 47(12):451-75. (1998).
62. JACOBS, E.T., GIULIANO, A.A.R., HOLLIS, B.W., REID, M.E., MARSHALL, J.R.: Plasma levels of 25-hydroxyvitamin D, 1,25-Dihydroxycalcitriol and the risk of prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*: 89-90: 533-537, (2004).

63. JENKINS,R.B., QIAN,J., LIEBER,M.M., BOTSWICK,D.G.: Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridisation. *Cancer. Res.*, 57:524-531, (1997).
64. JOHN, E.M., SCHWARTZ, G.G., KOO, J., VAN DEN BERG, D., INGLES, S.A.: Sun exposure, vitamin D receptor gene polymorphisms, and risk of advanced prostate cancer. *Cancer Res.*, 15,65(12):5470-5479, (2005).
65. JONES, G., STRUNGNELL, S.A., DELUCA, H.F.: Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol. Rev.* 78: 1193-1231, (1998).
66. JUNTUNEN, K.: Functional and Structural Characterisation of Nuclear Vitamin D Receptor and Its Ligand Binding Domain. Research Center For Molecular Endocrinology, Faculty of Medicine and Biocenter Oulu, University of Oulu, (2002).
67. JURUTKA, P.W., WHITFIELD, G.K., HSIEH, J.C., THOMPSON, P.D., HAUSSLER, M.R.: Molecular nature of vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 2: 203-216, (2001).
68. KOLONEL, L.N.: Fat, meat, and prostate cancer. *Epidemiol. Rev.*, 23:72-81, (2001).
69. KUFEL, D.W., POLLOCK, R.E., WEICHSELBAUM, R.R., BAST, R.C.Jr., GANSLER, T. S., HOLLAND, J.F., FREI, E.: *Cancer Medicine*, 6th edition , BC Decker Inc, USA (2003).
70. LEE, W.H., MORTON, R.A., EPSTEIN, J.I., BROOKS, J.D., CAMPBELL, P.A., BOVA, G.S., HSIEH, W.S., ISAACS, W.B., NELSON, W.G.: Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91:11733-11737, (1994).

71. LEE, W.H., ISAACS, W.B., BOVA, G.S., NELSON, W.G.: CG island methylation changes near the GSTP1 gene in prostatic carcinoma cells detected using the polymerase chain reaction: a new prostatic cancer biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6:443-450, (1997).
72. LI, L.C., ZHAO, H., NAKAJIMA, K., OH, B.R., FILHO, L.A., CARROLL, P., DAHIYA, R.: Methylation of the E-cadherin gene promoter correlates with progression of prostate cancer. *J Urol*, 166:705-709, (2001).
73. LIN, R., WHITE, J.H.: The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioassays*, 26: 21-28, (2003).
74. LIU, J.H., LI, H.W., WANG, J.O., LI, M., XIN, D.O., NA, X., ZHANG, M., YE, S.Y., NA, Y.O.: Vitamin D receptor gene Bsm I polymorphism and the susceptibility to prostate cancer in northern Chinese Han population. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 9 (6):413-416, (2003).
75. LOU, W., KRILL, D., DHIR, R., BECICH, M.J., DONG, J.T., FRIERSON, H.F.JR., ISAACS, J.T., GAO, A.C.: Methylation of the CD44 metastasis suppressor gene in human prostate cancer. *Cancer Res.*, 59:2329-2331, (1999).
76. LOU, Y-R., QIAO, S., TALONPOIKA, H., SYVALA, H., TUOHIMAA, P.: The role of vitamin D₃ metabolism in prostate cancer. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 92: 317-325, (2004).
77. LUSCOMBE, C.J., FRENCH, M.E., LIU, S., SAXBY, M.F., JONES, P.W., FRYER, A.A., STRANGE, R.C.: Prostate cancer risk: associations with ultraviolet radiation, tyrosinase and melanocortin-1 receptor genotypes. *British Journal of Cancer*, 85(10): 1504-1509, (2001).

78. LUSCOMBE, C.J., FRENCH, M.E., LIU, S., SAXBY, M.F., JONES, P.W., FRYER, A.A., STRANGE, R.C: Outcome in prostate cancer: associations with skin type and polymorphism in pigmentation related genes. *Carcinogenesis*, vol.22 no.9 pp.1343-1347, (2001).

79. MA, J., STAMPFER, M.J., GANN, P.H., HOUGH, H.L., GIOVANNUCCI, E., KELSEY, K.T., HENNEKENS, C.H., HUNTER, D.J.: Vitamin D receptor polymorphisms, circulating vitamin D metabolites, and risk of prostate cancer in United States physicians. *Cancer Epidemiol. Biomarker Prev.*, 7(5):385-390, (1998).

80. MCPHEE, S.J., LINGAPPA, V.R., GANONG, W.F., LANGE, J.D.: Pathophysiology of disease. An introduction to clinical medicine. Lange Medical Books/McGraw-Hill, Third Edition, (2000).

81. MISHRA, D.K., BID, H.K., SRIVASTAVA, D.S.L., MANDHANI, A., MITTAL, R.D.: Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer in India. *Urologia Internationalis*, 74(4): 315-318, (2005).

82. MIYAMOTO, K., KESTERSON, R.A., YAMAMOTO, H., TAKETANI, Y., NISHIWAKI, E., TATSUMI, S., INOUE, Y., MORITA, K., TAKEDA, E., PIKE, J.W.: Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Molec. Endocr.*, 11: 1165-1179, (1997).

83. MORRISON, N.A., YEOMAN, R., KELLY, P.J., EISMAN, J.A.: Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphisms and circulating osteocalcin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 89: 6665-6669, (1992).

84. MORRISON, N.A., QI, J.C., TOKITA, A., KELLY, P.J., CROFTS, L., NGUYEN, T.V., SAMBROOK, P.N., EISMAN, J.A.: Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 20,367(6460):284-7, (1994).

85. MURAYAMA, A., TAKEYAMA, K., KITANAKA, S., KODERA, Y., KAWAGUCHI, Y., HOSOYA, T., KATO, S.: Positive and negative regulations of the renal 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α -hydroxylase gene by parathyroid hormone, calcitonin, and 1 α ,25(OH)₂D₃ in intact animals. *Endocrinology* 140: 2224-2231, (1999).
86. NAGPAL, S. NA, S., RATHNACHALAM, R: Non-calcemic Actions of Vitamin D Receptor Ligands. *Endocrine Reviews*, 26(5):662-87, (2005).
87. NAVONE, N.M., TRONCOSO, P., PISTERS, L.L., GOODROW, T.L., PALMER, J.L., NICHOLS, W.W., VON ESCENBACH, A.C., CONTI, C.J.: p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 85:1657-1669, (1993).
88. NOMURA, A.M., STEMMERMANN, G.N., LEE, J., KOLONEL, L.N., CHEN, T.C., TURNER, A., HOLICK, M.F.: Serum vitamin D metabolite levels and the subsequent development of prostate cancer (Hawaii, United States). *Cancer Causes Control.*, 9(4): 425-432, (1998).
89. NOORDIJ, M.A., VAN STEENBRUGGE, G.J., SCHRODER, F.H, VAN DER KWAST, T.H.: Decreased expression of CD44 in metastatic prostate cancer. *Int. J. Cancer.*, 84:478-483, (1999).
90. NORMAN, A.W., ISHIZUKA, S., OKAMURA, W.H.: Ligands for the vitamin D endocrine system: different shapes function as agonists and antagonists for genomic and rapid response receptors or as a ligand for the plasma vitamin D binding protein. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 76: 49-59, (2001).
91. NTAIS, C., POLYCARPOU, A., IOANNIDIS, J.P.A.: Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer: A meta- analysis. *Cancer Epidemil. Biomarkers & Prev.*, 12 (12) : 1395-1402, (2003).

92. NUPPONEN, N.N., KAKKOLA, L., KOIVISTO, P., VISAKORPI, T.: Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostate carcinomas. *Am. J. Pathol.*, 153:141-148, (1998).
93. NUSSBAUM, R.L., MCINNES, R.R., WILLARD, H.F., CORNELIUS, F.B.III.: Thompson & Thompson Tıbbi Genetik, 6. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Saunders, (2005).
94. OAKLEY-GIRVAN, I., FELDMAN, D., ECCLESHALL, R.T., GALLAGHER, R.P., WU, A.H., KOLONEL, L.N., HALPERN, J., BALISE, R.R., WEST, D.W., PAFFENBARGER, Jr.R.S., WHITTEMORE, A.S.: Risk of Early-Onset Prostate Cancer in Relation to Germ Line Polymorphisms of the Vitamin D Receptor. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 13(8): 1325-1330, (2004).
95. OKUDA, K., USUI, E., OHYAMA, Y.: Recent progress in enzymology and molecular biology of enzymes involved in vitamin D metabolism. *J. Lipid. Res.*, 36: 1641-1652, (1995).
96. PLATZ, E.A., LEITZMAN, M.F., HOLLIS, B.W., WILLET, W.C., GIOVANNUCCI, E.: Plasma 1,25-dihydroxy- and 25-hydroxyvitamin D and subsequent risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control*, 15: 255-265, (2004).
97. POLLY, P., HERDICK, M., MOEHREN, U., BANIAHMAD, A., HEINZEL, T., CARLBERG, C.: VDR-Alien: a novel, DNA-selective vitamin D(3) receptor-corepressor partnership. *FASEB J.*, Jul,14(10):1455-63. (2000).
98. PORKKA, K.: Differentially Expressed Genes in Prostate Cancer. *Acta Universitatis Tamperensis 959*, University of Tampere, Tampere, (2003).
99. PORKKA, K., VISAKORPI, T.: Molecular Mechanisms of Prostate Cancer, *European Urology*, 45:683-691, (2004).

100. PRICE, D.K., FRANKS, M.E., FIGG, W.D.: Genetic variations in the vitamin D receptor, androgen receptor and enzymes that regulate androgen metabolism. *The Journal of Urology*, Vol. 171, S45-S49, (2004).
101. REITER, R.E., SATO, I., THOMAS, G., QIAN, J., GU, Z., WATABE, T., LODA, M., JENKINS, R.B.: Coamplification of prostate stem cell antigen (PSCA) and MYC in locally advanced prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 27:95-103, (2000).
102. SAIJO, T., ITO, M., TAKEDA, E., HUQ, H., NAITO, E., YOKOTA, I., SONE, T., PIKE, J.W.: A unique mutation in the vitamin D receptor gene in three Japanese patients with vitamin D-dependent rickets type II: utility of single-strand conformation polymorphism analysis for heterozygous carrier detection. *Am. J. Hum. Genet.*, 49(3):668-73, (1991).
103. SCHAID, D.J.: The Complex Genetic Epidemiology of Prostate Cancer. *Human Molecular Genetics*, Vol.13, Review Issue 1, (2004).
104. SCHULZ, W.A., BURCHARD, M., CRONAUER, M.V.: Molecular Biology of Prostate Cancer. *Molecular Human Reproduction*, Vol.9, 8: 437-448, (2003).
105. SCHWARTZ, G.G., HULKA, B.S.: Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res.*, 10(5A): 1307-1311, (1990).
106. SELMAN, S.H.: "Latent carcinoma of the prostate: a medical misnomer? *Urology*, 56:708-711, (2000).
107. STANFORD, J.L., OSTRANDER, E.A.: Familial Prostate Cancer. *Epidemiological Reviews*, 23:19-23, (2001).

108. STEWART, L.V., WEIGEL, N.L.: Role of Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins in $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃-Induced Growth Inhibition of Human Prostate Cancer Cells. *The prostate*, 64:9-19, (2005).
109. STRACHAN, T., READ, A.P.: *Human Molecular Genetics 2*, 2nd Edition, BIOS Scientific Publishers, Ltd., Oxford, UK, (1999).
110. SUNG, V., FELDMAN, D.: $1,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ decreases human prostate cancer cell adhesion and migration. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 164(1-2):133-143, (2000).
111. SUTTON, A.L., MACDONALD, P.N.: Vitamin D: More than a bone-a-fide hormone. *Mol. Endocrinol.*, 17:777-791, (2003).
112. SUZUKI, H., FREIJE, D., NUSSKERN, D.R., OKAMI, K., CAIRNS, P., SIDRANSKY, D., ISAACS, W.B., BOVA, G.S.: Interfocal heterogeneity of PTEN/MMAC 1 gene alterations in multiple metastatic prostate cancer tissues. *Cancer Res*, 58:204-209, (1998).
113. SUZUKI, K., MATSUI, H., OHTAKE, N., NAKATA, S., TAKEI, T., KOIKE, H., NAKAZATO, H., OKUGI, H., HASUMI, M., FUKABORI, Y., KURAKAWA, K., YAMANAKA, H.: Vitamin D receptor gene polymorphism in familial prostate cancer in a Japanese population. *International Journal of Urology*, 10 (5): 261-266, (2003).
114. TANAGHO, E.A., MCANNINCH, J.W.: *Smith's General Urology*, 14th edition. Appleton & Lange, Prentice-Hall International Inc. London, (1995).
115. TAPLIN, M.E., HO, S.M.: Clinical review 134: The endocrinology of prostate cancer, *Review. J Clin Endocrinol Metab* 86(8):3467-77, (2001).

116. TAYEB, M.T., CLARCK, C., HAITES, N.E., SHARP, L., MURRAY, G.I., MCLEOD, H.L.: Vitamin D receptor, HER-2 polymorphisms and risk of prostate cancer in men with benign prostate hiperplasia. *Saudi Med. J.*, 25 (4): 447-451, (2004).

117. UEDA, T., ICHIKAWA, T., TAMARU, J., MIKATA, A., AKAKURA, K., AKIMOTO, S., IMAI, T., YOSHIE, O., SHIRAISHI, T., YATANI, R., ITO, H., SHIMAZAKI, J.:Expression of the KAI1 protein in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Am. J. Pathol.*, 149:1435-1440, (1996).

118. UITTERLINDEN, A.G., FANG, Y., VAN MEURS, J.B.J., POLS, H.A.P., VAN LEEUWEEN, J.P.T.M.: Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, 338: 143-156, (2004).

119. VERKAIK,N.S., VAN STEENBRUGGE,G.J., VAN WEERDEN,W.M., BUSSEMAKERS,M.J., VAN DER KWAST,T.H.: Silencing of CD44 expression in prostate cancer by hypermethylation of the CD44 promotor region. *Lab. Invest.*, 80:1291-1298, (2000).

120. VISAKORPI, T., HYTINNEN, E., KOVISITO,P., TANNER, M., KEINÄNEN, R., PALMBERG, C., PALOTIE, A., TAMMELA, T., ISOLA, J., KALLIONIEMI, O.P.: In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat. Genet.*, 9: 401- 406, (1995).

121. WHITFIELD K. G., REMUS, L. S., JURUTKA, P. W., ZITZER H., OZA, A. K., DANG, H. T. L., HAUSLLER, C. A., GALLIGAN, M A., THATCHER, L. M., DOMINGUEZ, C. E., HAUSSLER M. R.: Functionally relevant polymorphisms in the nuclear vitamin D receptor gene. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 177:145-159, (2001).

122. WILLIAMS, H., POWEL, I.J., LAND, S.J., SAKR, W.A., HUGHES, M.R., PATEL, N.P., HEILBRUN, L.K., EVERSON, R.B.: Vitamin D receptor gene

polymorphisms and disease free survival after radical prostatectomy. *The Prostate*, 61:267-275, (2004).

123. XU, Y., SHIBATA, A., MCNEAL, J.E., STAMEY, T.A., FELDMAN, D., PEEHL, D.M.: Vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok I) and prostate cancer progression. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 12 (1): 23-27, (2003).

124. YANG, Y., WANG, S., YE, Z., YANG, W.: Association of single nucleotide polymorphism of vitamin D receptor gene start codon and the susceptibility to prostate cancer in the Han nationality in Hubei area. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 10(6): 411-414, (2004).

125. YE, W.Z., REIS, A.F., VELHO, G.: Identification of a novel Tru9 I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *J. Hum. Genet.*, 45(1):56-7, (2000).

ÖZGEÇMİŞ

1980 Eskişehir doğumluyum. İlköğrenimimi 1986 – 1994 yılları arasında Ziya Gökalp İlköğretim Okulu'nda, ortaöğrenimimi 1994-1998 yılları arasında Prof. Dr. Orhan Oğuz Lisesi'nde tamamladım. 1999 yılında girdiğim, Osmangazi Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü 2003 yılında tamamladım. 2003 yılından beri Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimini sürdürmekteyim.

