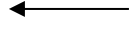
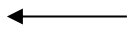


Adınızı soyadınızı giriniz

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



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



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**MİDE KANSERLERİNDE D VİTAMİNİ DÜZEYİ İLE D VİTAMİNİ
YOLAĞINDA KRİTİK POLİMORFİZMLERİN İNCELENMESİ**

ŞERMİN DURAK

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. ÖZLEM KÜÇÜKHÜSEYİN**

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

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İ.Ü.Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Programında Yüksek Lisans öğrencisi Şermin DURAK tarafından Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'in danışmanlığında hazırlanan "Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi ile D Vitamini Yolağındaki Kritik Poliforfizmlerin İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 27/08/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

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

**Prof. Dr. Bedia
ÇAKMAKOĞLU**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ali Osman
GÜROL**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
İmmünoloji Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Özlem
KÜÇÜKHÜSEYİN**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

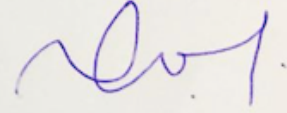
**Dr. Öğr. Üyesi Müjdat
AYTEKİN**

Haliç Üniv. Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya A.D

BEYAN

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

Şermin DURAK



İTHAF

Canım eşim Feyyaz DURAK'a ve biricik oğlum Ali Kemak DURAK'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince verdiği değerli bilgi ve desteği için İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. İlhan YAYLIM'a,

Yüksek lisans eğitimimde danışmanım olan, tez çalışmam süresince bilgi ve görüşlerini her daim benimle paylaşan, benden desteğini ve tecrübesini esirgeyemen, sonsuz sabır ve iyi niyetli danışmanım Sn. Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'e,

Tez çalışmam için gerekli örneklerin seçimi ve sağlanması ötürü Sn. Prof. Dr. Filiz AKYÜZ'e ve Sn. Doç. Dr. Soykan ARIKAN'a,

Tezimin yapımı ve yazımı süresince yardımseverliği ve destekleri için değerli arkadaşlarım MSc. Şeyda ERCAN'a, MSc. Dilara Sönmez'e, Bio. Murat ÖZDEMİR'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve yardımlarından dolayı Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Her zaman beni destekleyen ve cesaretlendiren, hoşgörüsünü ve yardımlarını benden esirgemeyen, başarılarımın kaynağı canım eşim Feyyaz DURAK'a, hayatım boyunca yanımda olan ve beni bugünlere getiren babam ve annem Murtaza – Şerife DAG'a,

Ailemin tüm değerli bireylerine teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018- 29205

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	Xİİ
ÖZET.....	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser.....	3
2.2. Mide Kanseri.....	5
2.3. Mide Kanseri ve Risk Faktörleri.....	6
2.3.1. <i>Helicobakter pylori</i> enfeksiyonu.....	6
2.3.2. Epstein-Barr virüsü (EBV).....	7
2.3.3. Sigara ve Alkol Tüketimi.....	7
2.3.4. Radyasyon.....	8
2.3.5. Pernisiyöz Anemi.....	8
2.3.6. Genetik Faktörler.....	8
2.3.7. Beslenme.....	9
2.4. Mide Kanserinin sınıflandırma ve evrelemesi.....	10
2.5. D Vitamini'nin Kaynak ve Metabolizması.....	12
2.6. Serumda D Vitamini Düzeyi.....	14
2.7. D Vitaminin Başlıca Görevleri.....	15
2.8. D Vitamini Reseptörü.....	18
2.9. D Vitamini Bağlayıcı Protein (VDBP).....	20
2.10. D Vitamini ve Mide Kanseri.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24

3.1. Hasta Örneklerinin Tanımı	24
3.2. Araştırmanın kriterleri.....	24
3.3. Kullanılan Gereçler	25
3.4. Kullanılan Kimyasallar.....	25
3.5. Kullanılan Çözeltiler	25
3.5.1. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler	25
3.5.1.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu.....	25
3.5.1.2. Etidyüm Bromür	26
3.5.1.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE) Tamponu.....	26
3.6. Kullanılan Yöntemler.....	26
3.6.1. Numunelerin toplanması.....	26
3.6.2. Periferik Kandan DNA izolasyonu.....	26
3.6.3. Elde edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini.....	28
3.6.4. VDR Geninde rs: 2228570, rs: 731236 ve VDBP Geninde rs: 7041 Polimorfizmlerinin PZR Yöntemiyle Çoğaltılması	28
3.6.5. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi İle Kontrolü.....	31
3.6.5.1. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması.....	31
3.6.5.2. PZR Ürünlerinin %2'lik Agaroz Jele Yüklenmesi ve Kontrolü.....	32
3.6.6. VDR Geninde FokI rs: 2228570, TaqI rs: 731236 ve VDBP Geninde rs: 7041 Polimorfizmlerinin Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi ile Saptanması.....	32
3.6.6.1. VDR FokI rs: 2228570 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Saptanması...32	
3.6.6.2. VDR Geni TaqI rs: 731236 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Saptanması	34
3.6.6.3. VDBP Geni rs: 7041 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Saptanması	35
3.6.7. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi	36
3.7. İstatistik	38
4. BULGULAR	40
4.1. PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular.....	40
4.1.1. VDR geni FokI rs:2228570 PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular.....	40
4.1.2. VDR geni rs: 731236 PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular	41
4.1.3. VDBP geni rs: 7041 PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular	41
4.2. PZR-RFLP Yöntemine İlişkin Bulgular.....	42

4.2.1. VDR Geni FokI rs:2228570 Polimorfizm	42
4.2.2. VDR Geni TaqI rs: 731236 Polimorfizm	43
4.2.3. VDBP Geni rs: 7041 Polimorfizm	44
4.3. İstatistiksel Analiz Sonrası Bulguları.....	45
5. TARTIŞMA.....	56
KAYNAKLAR.....	62
HAM VERİLER.....	75
FORMLAR.....	78
ETİK KURUL KARARI	86
PATENT HAKKI İZNİ	87
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	88
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Mide kanseri sınıflandırması.....	11
Tablo 2-2: Serum 25-OH ₂ D ₃ düzeyleri.....	15
Tablo 2-3: D vitamini düzeyleri ve yorumları.....	15
Tablo 2-4: VDBP nin yaygın fenotipleri ve 25(OH)D ile karakteristik ilişkileri.....	21
Tablo 3-1: PZR için kullanılan primerler.....	29
Tablo: 3-2 VDR FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 polimorfizmlerin PZR karışımı.	29
Tablo 3-3: VDBP rs: 7041 polimorfizmi PZR karışımı.....	30
Tablo 3-4: VDR FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 polimorfizmlerinin PZR koşulları.....	30
Tablo 3-5: VDBP rs: 7041 polimorfizmi PZR koşulları.....	31
Tablo 3-6: FokI kesim enzimi için protokol.....	33
Tablo 3-7: TaqI kesim enzimi için protokol.....	34
Tablo 3-8: HaeIII kesim enzimi için protokol.....	36
Tablo 4-1: Çalışma grubunun yaş ve cinsiyet verileri.....	46
Tablo 4-2: Mide kanseri hastalarının klinik verileri.....	47
Tablo 4-3: Mide kanseri hastalarında ve kontrol gruplarında VDR geninde rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 ve VDBP geni rs:7041 polimorfizmlerine ait genotip ve allel frekansı.....	48
Tablo 4-4: VDR geni FokI rs: 2228570 polimorfizmi genotipinin hastaların klinik verileri üzerinde dağılımı.....	49
Tablo 4-5: VDBP geni rs: 7041 polimorfizmi genotipinin hastaların klinik verileri üzerinde dağılımı.....	50
Tablo 4-6: VDR rs: 731236 polimorfizmi genotipinin hastaların klinik verileri üzerinde dağılımı.....	51
Tablo 4-7: Hasta ve kontrol grubunda 25(OH)D serum düzeyleri.....	52
Tablo 4-8: VDR geninde rs: 2228570 ile rs: 731236 ve VDBP geninde rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımlarına göre serumda 25(OH)D düzeyleri.....	53
Tablo 4-9: D vitamini serum düzeyi durumu.....	54
Tablo 4-10: Hasta ve kontrol grubunda D vitamini eksikliği görülme oranları.....	54

Tablo 4-11: VDR geninde rs: 2228570 ile rs: 731236 ve VDBP geninde rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımlarına göre serumda D vitamini eksikliği oranları..... 55



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kanser hücrelerinin özellikleri ve tedavi yaklaşımları	5
Şekil 2-2: D Vitamini ve metabolitlerinin biyokimyasal yapısı.....	12
Şekil 2-3: İnsan vücudunda D vitamini kaynak ve metabolizması	14
Şekil 2-4: VDR yapısı ve polimorfizmleri.....	18
Şekil 2-5: VDR polimorfizmleri ile kanser riski arasındaki ilişki.....	19
Şekil 2-6: VDBP yapısı.....	20
Şekil 2-7: Mide kanseri hücrelerinde D vitaminin anti-kanser mekanizması.	23
Şekil 3-1: FokI restriksiyon enzimine ait kesim bölgesi.....	33
Şekil 3-2: FokI restriksiyon enziminin oluşturduğu DNA bantları.	33
Şekil 3-3: TaqI restriksiyon enzimine ait kesim bölgesi.....	34
Şekil 3-4: TaqI restriksiyon enziminin oluşturduğu DNA bantları.	35
Şekil 3-5: HaeIII restriksiyon enzimine ait kesim bölgesi.	35
Şekil 3-6: HaeIII restriksiyon enziminin oluşturduğu DNA bantları.	36
Şekil 3-7: HPLC protokolü	37
Şekil 3-8: HPLC yöntemiyle Vitamin D2/D3 ölçümüne ait elde edilecek kromatogram örneği.	38
Şekil 4-1: VDR geni FokI rs: 2228570 PZR ürünü agaroz jel görüntüsü.....	40
Şekil 4-2: VDR geni rs: 731236 PZR ürünü agaroz jel görüntüsü.....	41
Şekil 4-3: VDBP geni rs: 7041 PZR ürünü agaroz jel görüntüsü.....	42
Şekil 4-4: VDR geni FokI rs: 2228570 PZR-RFLP ürünleri	43
Şekil 4-5: VDR geni TaqI rs:731236 PZR-RFLP ürünleri.	44
Şekil 4-6: VDBP geni rs: 7041 PZR-RFLP ürünleri.	45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

µl:	Mikrolitre
ml:	Mililitre
°C:	Santigrat Derece
M:	Molar
ng:	Nanogram
gr:	Gram
pmol:	Pikomol
g:	Gravite
ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
APC:	Adenomatöz polipozis koli
CAMP:	Siklik adenoazin monofosfat
CASP:	Kaspaz
CDH1:	E cadherin 1
CTNNA1:	α e-catenin
c-MET:	Mezenkimal epitelyal geçiş faktörü
DNA:	Deoksiribonükleik asit
EGF:	Epidermal büyüme faktörü
FAP:	Ailesel adenomatöz poipozis
hTERT:	İnsan telomeraz ters transkriptaz
GSTP 1:	Gutasyon S transferaz pi 1
ICRA:	Uluslararası kanser araştırma ajansı
IGF-1:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
MHL1:	mutL homolog 1
MSH2 :	mutS homolog 2

MSH6:	mutS homolog 6
MUC1:	Müsin 1
MTX1:	Metaxin 1
NF-kB:	Nükleer faktör-kappa B
PKLR:	Piruvat kinaz
PLCE1:	Fosfolipaz c eplison
PRKAA1:	Protein kinaz AMP
PSCA:	Prostat kök hücre antijeni
PTH:	Paratiroid hormon
RANKL:	Nükleer faktör kappa B ligandı
RUNX1:	Runt ile ilişkili transkripsiyon faktörü 2
THSB1:	Antianjiyogenetik faktör trombospodin 1
TGF:	Dönüştürücü büyüme faktörü
TGFBR2:	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TNF:	Tümör nekroz faktör
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VDBP:	D vitamini bağlanma proteini
VDRE:	D vitamini yanıt elementleri
VDR:	D vitamini polimorfizmi
WHO:	Dünya sağlık örgütü

ÖZET

Durak, Ş. (2018). Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi İle D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizmlerin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı. Yüksek Lisans. İstanbul.

Mide kanseri dünya genelinde yaygın görülen ve yüksek morallite oranına sahip olan bir hastalıktır. D vitaminin hücre içerisindeki birçok biyolojik fonksiyonundan dolayı, D vitamininin serum düzeyi ve D vitamini yolağında bulunan polimorfizmler farklı kanser türünde ve kronik hastalıklarda araştırılmaktadır.

Çalışmamızda mide kanseri hastalarında D vitamini seviyeleri ile VDR geni FokI rs:2228570 ve TaqI rs:731236, VDBP geni rs:7041 polimorfizmlerinin sonuçlarını klinik parametrelerle değerlendirdik ve sonuçların mide kanseri gelişimindeki rolünü belirlemeyi amaçladık.

Çalışmada, serum D vitamini düzeyleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile ölçülmüştür. VDR geni FokI rs:2228570 ve TaqI rs:731236, VDBP geni rs:7041 polimorfizmleri, polimeraz zincir reaksiyonu - restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda VDR TaqI rs: 731236 genotip ve allel dağılımları ileri evre (tümör evresi III/IV) hastalarında TT, Tt ve tt genotip frekansları %17.1, %43.9, %39.0, erken evredeki hastalarda homozigot mutant genotipe rastlanmamışken, TT ve Tt genotip frekansları ise eşit oranda bulunmuş olup, erken evreli TT genotipine sahip hastaların frekansının geç evredeki hastalara göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte VDBP geni rs: 7041 polimorfizminin T alleli erkeklerde (%66.7) kadınlara (%43.8) göre daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak, mide kanserinde incelediğimiz VDR rs: 731236 ve rs: 2228570, VDBP rs: 7041 polimorfizmleri ile 25(OH)D seviyesi arasında bir ilişki bulunmamış olup ülkemizde yapılan ilk çalışma olması ve literatürde mide kanseri ile D vitamini arasındaki ilişkiyi inceleyen az sayıda yayın bulunması sebebiyle konu ile ilgili yapılacak çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Mide kanseri, VDR, VDBP, D vitamini, Kanser, Polimorfizm.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018- 29205

ABSTRACT

Durak, Ş. (2018). The Association Between Serum Vitamin D Levels or Critical Polymorphisms of Vitamin D Metabolism and Gastric Cancer. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. Master's of Science Thesis. Istanbul.

Gastric cancer is a common worldwide disease with a high rate of mortality. Due to many biological cell functions of vitamin D, serum levels of vitamin D and polymorphisms in vitamin D pathway are being investigated in different types of cancer and in chronic diseases.

In our study, we evaluated the results of polymorphisms of VDR gene FokI rs: 2228570 and TaqI rs: 731236, VDBP gene rs: 7041 polymorphisms, and vitamin D levels in gastric cancer patients in accordance with clinical parameters, and aimed to determine the role of the results in the development of gastric cancer.

In the present study, serum vitamin D levels were measured by high pressure liquid chromatography (HPLC). VDR gene FokI rs: 2228570 and TaqI rs: 731236 and VDBP gene rs: 7041 variants were genotyped by using Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR - RFLP) method.

The frequency of VDR TaqI rs: 731236 TT, Tt and tt genotypes in advanced stage (tumor stage III / IV) patients were 17.1%, 43.9%, 39.0%. However, although no homozygous mutant genotypes were found in early stage patients, TT and Tt genotype frequency was in equilibrium, and early-stage TT genotype was found to be higher than that in late-stage patients. On the other hand, VDBP rs: 7041 T allele was significantly higher in male patients (66.7%) than female patients (43.8%).

In conclusion, the present study was prior in Turkish population which evaluates the distribution of critical polymorphisms of the genes of vitamin D metabolism in gastric cancer and will contribute to literature in this manner.

Key Words: Gastric Cancer, VDR, VDBP, Vitamin D, Polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: TYL-2018- 29205.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mide kanseri dünya genelinde en yaygın dördüncü kanser türü olup, ikinci sırada mortalite oranına sahiptir (1). Hastalık patogenezinin tam olarak anlaşılabilmesi ve erken teşhis edilememesi gibi sebepler nedeniyle günümüzde halen tedavi edilmesi zor olan hastalıklar içinde yer alan mide kanserlerinde, beş yıllık sağ kalım oranı %30'dan azdır (2). Risk faktörleri arasında beslenme, sigara/alkol kullanımı, obezite, radyasyon, sedenter yaşam gibi klasik çevresel ve yaşam tarzı faktörlerinin yanında *Helicobakter pylori* enfeksiyonu, pernifer anemi ve kısmi gastrektomi gibi diğer etkenler de bulunmaktadır (3). Bununla beraber, D vitamini eksikliğinin mide adenokarsinomlarda kötü prognozla ilişkili olduğunu ve serum düzeyinde artan D vitamininin mide kanser riskini azalttığını ortaya koyan çalışmalar vardır (4).

D vitamininin kalsiyum ve kemik homeostazının korunmasında önemli bir rol oynadığı ve vücutta çeşitli biyolojik süreçlere katıldığı bilinmektedir (5). 1980'li yılların başlarında, ultraviyole-B (UVB) – D Vitamini - kanser hipotezi ilk olarak Garland tarafından ortaya atılmış ve D vitamininin kolon kanser gelişimine karşı koruyucu bir faktör olduğu gösterilmiştir (6). Sonraki çalışmalarda, D vitamini eksikliğinin hücre döngüsünü, profilerasyonunu, anjiyogenezi ve moleküler sinyalizasyonu inhibe ederek tümörjenik aktiviteyi ortadan kaldıracılabileceği ileri sürülmüştür (7). Güncel bir çalışmada ise D vitamininin maling mide tümör hücrelerini apoptozise götürdüğü gösterilmiştir (4). D vitamini etkilerini spesifik reseptörü olan D Vitamini Reseptörü (VDR) ile göstermektedir. Yapılan çalışmalar, D vitamini ile VDR etkileşiminin proliferasyonun bastırılması, apoptozis ve otofajinin uyarılması, anjiyogenezin inhibe edilmesi ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi gibi anti-tümör mekanizmalar için gerekli olan gen regülasyonunu ve hücre sinyalizasyonunu indükleyebileceğini göstermiştir (8-10).

Epidemiyolojik kanıtlar, kanser riskinde D vitamini ve VDR polimorfizmlerinin rolünü desteklemektedir. VDR ile beraber, D vitamininin biyolojik etkilerine, D vitamini metabolizmasında anahtar bir protein olan D Vitamini Bağlayıcı Protein (VDBP)'de aracılık eder. Bunun yanında, VDBP'yi kodlayan genin D vitamini yolağında önemli bir role sahip olduğu ve kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (11).

Literatürde, mide kanseri olgularında D vitamini ve metabolitleriyle ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Bilimler Anabilim Dalı ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniğinde mide kanseri tanısı konmuş 77 hasta ile 84 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunda D vitamini seviyeleri ile VDR FokI rs:2228570, VDR TaqI rs:731236, VDBP rs:7041 polimorfizmlerinin dağılımı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, klinik parametrelerle karşılaştırılmış ve mide kanseri gelişimine katkıları değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamız, D vitamini düzeyi ile D vitamini yolağında yer alan kritik varyantların mide kanseri patogenezindeki etkileri hakkında literature katkı sağlayacaktır. Ayrıca, mide kanserinin erken teşhisi açısından prognostik faktör olarak veya profilaktik tedavi yaklaşımları açısından anlamlı sonuçlar elde edilmesi ile önemli bir adım atılmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser somatik hücrelerde görülen genetik bir hastalıktır ve dünya üzerinde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (12). Amerika Kanser Derneği tarafından 2018'de Amerika Birleşik Devletleri'nde 1.735.350 yeni kanser vakası ve 609.640 kanser kaynaklı ölümünün meydana geleceği tahmin edilmektedir. Geçtiğimiz on yıl boyunca kanser insidansı oranı, kadınlarda stabil iken erkeklerde %2 oranında azalmıştır. Kanser ölüm oranlarında ise kadınlarda ve erkeklerde %2 azalma görülmüştür (13).

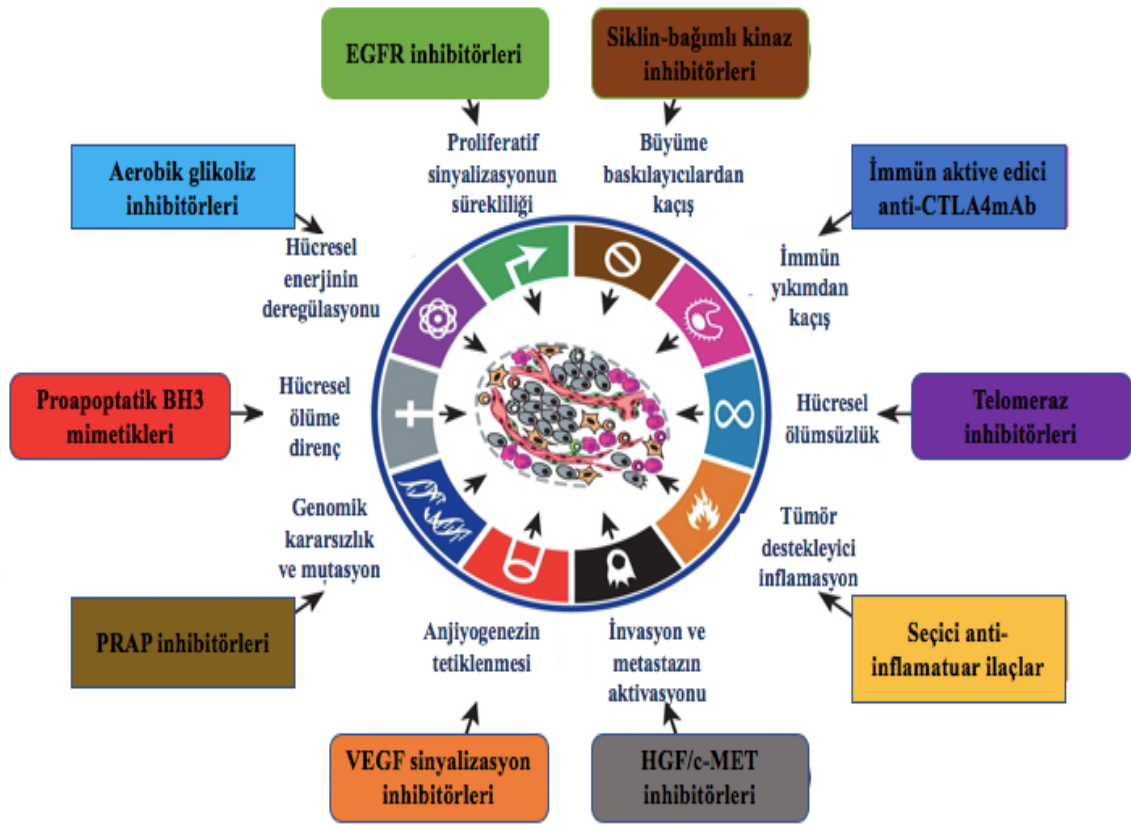
Tümörenezise neden olan 3 tip gen değişikliği vardır: onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve stabilite genleri. Bu genlerin mutasyonu hücre metabolizmasını hem doğrudan hem de dolaylı olarak etkileyebilmektedir (14). Özellikle protoonkogenler ve tümör suppresör genlerde meydana gelen mutasyonlar, apoptozdan kaçış ve DNA tamir mekanizmalarının inaktivasyonuna neden olarak kanser gelişimine sebep olmaktadır. Hanahan ve ark. (2011) yapmış olduğu çalışmalarda, kanser hücrelerini sağlıklı hücrelerden ayıran bazı özellikler tanımlamıştır (Şekil 2.1) (15);

1. Proliferatif sinyalizasyonun sürekliliği
2. Büyüme baskılayıcı sinyallerden kaçınma
3. Apoptozdan kaçış
4. Sınırsız replikasyon
5. Anjiyogenesis'te süreklilik
6. İnvazyon ve metastatik aktivasyon
7. Genomik kararsızlık
8. Tümör-promotör inflamasyonu
9. Enerji metabolizmasını yeniden programlamak
10. İmmün yıkımından kaçış

Sağlıklı hücrelerin proliferasyonu için, çeşitli transmembran reseptörler (büyüme faktörü reseptörü gibi) tarafından hücre içine mitojenik büyüme sinyallerinin

gönderilmesi gerekmektedir. Kanserli hücreler ise herhangi bir sinyalizasyona ihtiyaç olmadan kontrolsüz bir şekilde çoğalabilirler. Hanahan ve ark. (2000) hücre kültürüyle yapılan bir çalışmada normal hücelere verilen büyüme faktörlerinin hücre büyümesi ve gelişmesindeki yolları indüklediği gösterilmiştir. Bu durum tümör hücrelerinin büyüme faktörlerinden ve doku mikroçevresindeki sinyallerden bağımsız davrandığını gösterir (16). Tümör baskılayıcı genler apoptozu indükleyerek kanser hücresinin çoğalmasını ve büyümesini inhibe eder. Kanserli hücreler bu genlerin inaktivasyonunu sağlayarak tümör baskılayıcı genlerden kaçınırlar (17).

Kanser gelişiminde epigenetik mekanizmalar da önemli rol oynamaktadır. DNA dizisinde herhangi bir değişim olmadan gen ifadesinde meydana gelen değişimler ‘epigenetik değişimler’ olarak adlandırılmaktadır. En yaygın araştırma yapılan epigenetik mekanizmalar; DNA metilasyonu ve histon modifikasyonudur. DNA metilasyonu, genellikle CpG adacıklarında meydana gelir. S-adenozilmetiyonin’deki (SAM) bir metil grubunun (CH₃) sitozin (cytosin, C) nükleotidine kovalent bağlanıp metilsitozin oluşturmasıyla gerçekleşir. Genlerin promotör bölgelerinde ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen bu metilasyonlar genleri susturarak kanser gelişimine neden olmaktadır. Histon modifikasyonları ise kromatinin konformasyonunu değiştirerek proteinlerin DNA’ya bağlanmasını modüle etmektedir (18-20).



Şekil 2-1: Kanser hücrelerinin özellikleri ve tedavi yaklaşımları (15). EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü; CTLA4: Sitotokik T lenfosit ilişkili antijen 4; HGF/c-MET: Hepatosit büyüme faktörü/ reseptörü; VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü; PRAP: Poli ADP-riboz polimeraz.

2.2. Mide Kanseri

Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, mide kanseri insidansı ve mortalitesinde dünya genelinde düşüş gözlenmektedir (21). Buna rağmen mide kanseri dünya çapında en yaygın dördüncü kanser ve kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır. Her yıl 950.000'den fazla yeni tanı konmakta ve 720.000 hasta mide kanseri nedeniyle ölmektedir (22).

Yeni vakaların %50'den fazlası gelişmekte olan ülkelerde meydana gelmektedir. Mide tümörlerinin görülme sıklığı siyahi populasyonlar, düşük sosyoekonomik gruplar ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir. Tüm dünyada tütün kullanımı, fiziksel hareketsizlik, aşırı kilo gibi kötü yaşam tarzı yaygınlaşmaktadır (23). Dünya genelinde 80-60 yaş arasındaki bireylerde, her otuz altı erkekten birinde ve her seksen dört

kadınlardan birinde mide kanseri görülmektedir (24, 25). Mide kanser vakalarında erkeklerin, Japonya'da (%66,7) ve Kore'de (%64,6) görülme sıklığı İran'daki en yüksek oranın iki katıdır (%30,4). Kadınlarda, Japonya ve Kore'deki insidans oranları Ekvator ve Kosta Rika'daki en yüksek oranlardan %60 daha yüksektir (26). Türkiye'de 2014'te yayınlanan raporda, mide kanser insidansı yaşa göre erkeklerde %14,3 ile en sık görülen beşinci kanser türü, kadınlarda ise %6,5 ile altıncı sırada yer almaktadır (27). Bütün bunlar bize coğrafik varyasyonların mide kanseri insidasında büyük bir rol oynadığını göstermektedir.

Son elli yılda mide kanseri insidansında düşüşler göze çarpmaktadır. Bu düşüş özellikle sporadik ve intestinal mide kanserleri olan genç hastalarda analiz edilmiştir (28, 29). Ayrıca distal mide tümör insidansı azalırken, proksimal midedeki (kardiya ve gastroözofajiyal) tümörlerde artış saptanmıştır (24). Genel insidanstaki düşüş nedeni; yeterli miktarda taze meyve ve sebze tüketimi, *H. pylori* enfeksiyonunun engellenebilmesi, gıdaların daha iyi şartlarda korunması ve tuz alımının azaltılması gibi faktörler ile açıklanabilir (30).

2.3. Mide Kanseri ve Risk Faktörleri

Dünya üzerindeki mide kanseri dağılımında coğrafi ve etnik farklılıkların rolü büyüktür (31). Mide kanseri çevresel faktörlerin ve spesifik genlerdeki değişimlerle ilişkili bulunmuştur. Başlıca etiyolojik faktörler; *Helicobakter pylori* enfeksiyonu, epstein barr virüsü, sigara ve alkol tüketimi, radyasyon, pernisiyöz anemi, genetik faktörler ve beslenme.

2.3.1. *Helicobakter pylori* enfeksiyonu

Dünya üzerindeki popülasyonda *H. pylori* enfeksiyonu yaklaşık %60 civarındadır, fakat bu oranın mide kanseri hastalarında %84'lere ulaştığı görülmüştür. Marshal ve Warren (1983) *H. pylori* ve gastrit arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir (32). *H. Pylori* enfeksiyonu olan hastalarda atrofik gastrit gelişebilir, bunu takiben intestinal metaplazisi sonrasında displazi ve adenokarsinoma oluşmaktadır. *H. pylori* enfeksiyonu sporadik distal mide kanserin en önemli nedenidir. *H. pylori* enfeksiyonun neden olduğu inflamasyon nedeniyle hücre proliferasyonu, apoptozis ve tümör baskılayıcı genlerinde

değişiklikler ve bazı epigenetik mekanizmalarda modifikasyonlar meydana gelebilir ve bu da inflamasyona bağlı onkojeneze yol açabilir (33). Uzun vadede *H. pylori* enfeksiyonu mide iltihabı, persinisiyöz anemi, intestinal metaplazi ve devamında mide polipi oluşturabilir. Nükleer faktör-kappa B (nuclear factor-kappa B, NFkB) ve Vasküler endotelial büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor, VEGF) gibi faktörleri de upregüle eder (34, 35). Enfeksiyon nedeniyle açığa çıkan serbest radikaller oksidatif strese ve dolayısıyla DNA hasarı ile tamir mekanizmalarının bozulmasına neden olur (36). Askorbik asit bir antioksidandır, hücreyi DNA hasarından koruyan antikanserojenik etki mekanizmasına sahiptir. *H. pylori* enfeksiyonu görülen hastaların serumları incelendiğinde askorbik asit düzeylerinde azalma, tedavi sonrasında ise serum düzeylerinde artış gözlenmiştir (37, 38).

2.3.2. Epstein-Barr virüsü (EBV)

1992-1998 yılları arasında Asya, Avrupa ve Amerika’da toplam 15.592 mide kanseri içeren çalışmada EBV analiz edilmiş, mide kanserlerinin %8,7’sinde, kadınların %5,2’sinde ve erkeklerin %11,1’inde EBV virüsü bulunmuştur (39). EBV mide karsinogenezisinde rol oynayan bir herpes virüsüdür. Yapılan çalışmalarda, karsinoma biyopsilerindeki EBV’nin enfekte olmuş bir hücrede proliferasyonu etkileyerek tümör oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (40).

2.3.3. Sigara ve Alkol Tüketimi

Avrupa Kanser ve Beslenme Projesine yönelik potansiyel araştırmalarda, sigara kullanımı ile mide kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (41).

Alkol tüketimi de mide kanserlerinde risk faktörlerindendir. Yapılan çalışmalarda alkol kullanımı ve mide kardiya kanseri arasında ilişki tespit edilmiştir (42). Yakın zamanda yapılan bir meta-analizde 34.500 mide kanseri içeren 44 vaka-kontrol ve 15 kohort çalışması artan alkol tüketiminin mide kanserlerinde risk oluşturduğunu göstermiştir (43).

2.3.4. Radyasyon

Mide kanseri etiyolojisinde iyonize edici radyasyonun rolüne ilişkin en iyi kanıt, Hiroşima ve Nagazaki’de atom bombası saldırılarından hayatta kalan insanlarla yapılan çalışmalardır. Yapılan araştırmalarda doza bağlı olarak radyasyona maruz kalan bireylerde mide kanseri riskinin iki ile dört kat arasında arttığı tespit edilmiştir (44).

2.3.5. Pernisiyöz Anemi

Pernisiyöz anemi ve mide kanseri arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Bu konuda yapılan en yeni ve en büyük kohort çalışmasında 20 yıla kadar takip edilen 4.517 pernisiyöz anemi hastasının mide kanseri riskinde üç kat artış gözlemlenmiştir (44).

2.3.6. Genetik Faktörler

Mocellin ve ark. (2015) yapmış olduğu büyük bir meta-analizde sporadik mide kanserlerinde genetik duyarlılık hakkında kapsamlı bir bakış sağlamıştır. On bir varyant, farklı mide kanser alt gruplarında (diffüz, intestinal, kardiya, non-kardiya) (MUC1, MTX1, PSCA, PRKAA1, PLCE1, TGFBR2, PKLR, GSTP1, CASP8 ve TNF) mide kanseri riskiyle önemli derecede ilişkilidir (45).

Tümör baskılayıcı genlerin (p53, APC, RB1, p16, MHL1, MSH6 ve RUNX1 gibi) mutasyonu sonucu inaktivasyonu, bazı onkogenler (siklin D1, c-met, α ve β katenin, CDH1) ile büyüme faktörlerinin (TGF, EGF, erb-B2) fazla ekspres olması mide kanserlerinin gelişimine neden olmaktadır (46, 47).

Mide kanseri vakalarının yaklaşık %10'u aileler içinde toplanmaktadır. Kalıtsal vakaların tüm mide kanserinin %1-3'ünü oluşturduğu düşünülmektedir. Mide kanseri insidansının düşük olduğu ülkelerde ve bölgelerde, ailesel vakaların çoğu, doğumdan kaynaklanan riski artıran kalıtsal patojenik mutasyonlara bağlı olabilir. Adezyon proteini olan E cadherin 1 proteini (CDH1)'deki mutasyonlar, kalıtsal diffüz mide kanserinden etkilenen ailelerin %40'ında (48), sporadik diffüz mide kanserlerinin %40-83'ünde bulunmuştur (49). α e-catenin (CTNNA1)'deki mutasyonlar da kalıtsal diffüz mide kanserinin genetik bir nedeni olarak tanımlanmıştır (48). Sporadik mide

kanserlerinde genetik kararsızlık, MHL1 geninin promotör bölgesindeki bir epigenetik değişiklikten kaynaklanır (50).

Lynch sendromlu aileler arasında mide kanseri insidansın arttığı tespit edilmiştir. Aarnio ve ark. (1997) tarafından yapılan bir çalışmada MLH1, MSH2 veya MSH6'da germ hattı mutasyonları taşıyan Lynch sendromlu ailelerin yaklaşık %11'inde mide kanseri görülme sıklığı ortaya çıkmıştır (51). Ailesel Adenomatöz Polipozis (FAP) ve Li Fraumeni Sendromu da adenomatöz poliplerin gelişmesi ile önemli ölçüde ilişkili bir durumdur. Bununla birlikte, FAP'lı hastalar, 5q21 kromozomunda yer alan tümör baskılayıcı gen olan adenomatöz polipozis koli (APC) 'de germ hattı mutasyonu taşırlar (52).

2.3.7. Beslenme

Meyve ve sebzeler; C vitamini, folat, karotenoidler ve fitokimyasallar bakımından zengindir ve mide karsinogenez sürecinde koruyucu bir role sahiptir. Ksenobiyotik-metabolize edici enzimlerin mide kanseri riskini azaltıcı etkileri olduğu düşünülmektedir (53). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (ICRA) tarafından hazırlanan raporda fazla meyve ve sebze tüketiminin mide kanseri riskini azalttığı belirtilmiştir (54). Kaliteli meyve ve sebzelerin yetersiz tüketilmesi; tuzların, nitratların ve salamura benzeri yiyeceklerin ise yüksek miktarda tüketilmesi, ayrıca sigara ve alkol kullanımı, mide kanseri riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (33). Fazla miktardaki tuz ve tuzla korunmuş gıda alımı mide mukozasının yapısını bozarak mide kanseri riskini arttırmaktadır (55). Diyetik nitritler, nitrojen içeren bakteriler tarafından üretilen N-nitroza bileşiklerinin kaynağıdır. *H. pylori* ile enfekte olmuş midelerde bu tür bakteriler daha fazla bulunabilir (56). Tuzlu gıdaların mide mukozasına neden olduğu hasar *H. Pylori* enfeksiyonu ile kalıcı hale gelmektedir. Japonya'da profilaktik olarak mide kanseri oranlarındaki düşüş, balığı tuzla koruma yönteminin azaltılması ile sağlanmıştır (57).

Obezite, mide kanserleri için bir risk faktörüdür. Yapılan araştırmalarda artan vücut-kitle indeksinin, kalorili ve gliserik beslenmenin gastrik kardial adenokarsinomları ve distal özefagus adenokarsinomları için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (58).

2.4. Mide Kanserinin sınıflandırma ve evrelemesi

Mide karsinomlarında patoloji, histoloji, morfoloji özelliklerine göre ayrıca lokalizasyon, invazyon ve diferansiyasyon durumu açısından çok çeşitli sınıflandırmalar mevcuttur (Tablo 2-1) (59).

Mide kanserlerinin büyük çoğunluğu (%95) adenokarsinomudur, ancak moleküler patogeneze, histogeneze, büyüme ve hücre farklılaşması bakımından oldukça heterojendir. 1926'da Borrmann morfolojik özelliklere göre mide kanserlerini 4 sınıfa ayırmıştır. Bunlar: Tip 1 (polipoid), Tip 2 (fungiform), Tip 3 (ülserle infiltran) ve Tip 4 (diffüz infiltran). Günümüzde histopatolojik sınıflandırmada en çok Lauren ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) şemaları kullanılır (60, 61).

Lauren adenokarsinomları; intestinal ve diffüz tip olmak üzere iki kategoriye ayırmıştır. Intestinal tip mide kanserleri, genellikle ülserleşen bez benzeri yapılar oluşturan koheziv neoplastik hücrelerden meydana gelir. Erkek ve yaşlı bireylerde daha fazla görülür. Diffüz tip ise hücre kohezyonunun olmadığı, ayrı bir kitle oluşturmadan hücre duvarının kalınlaşması ve infiltrasyonu ile meydana gelir. Bu tip adenokarsinomlar genç bireylerde daha sık görülür (60). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yapmış olduğu sınıflandırma baskın olarak morfolojik, daha az histolojik özelliklere dayanır (62).

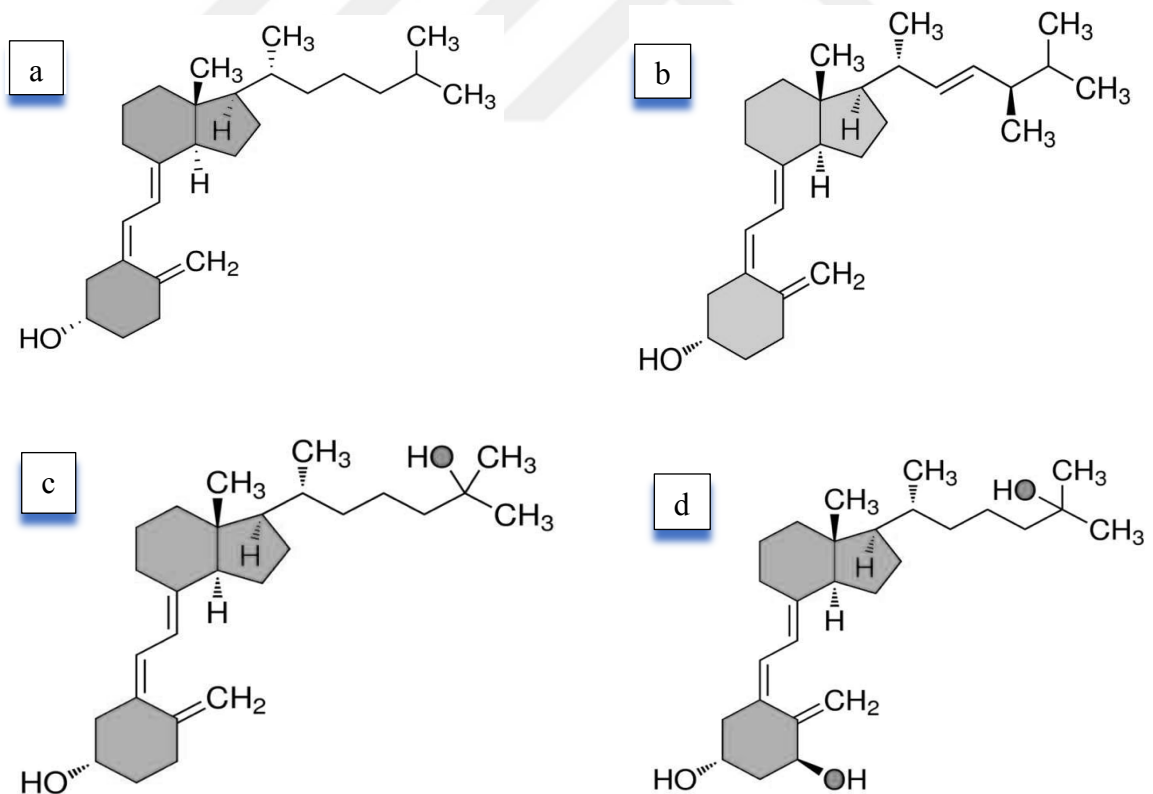
WHO, 2010 yılında yapmış olduğu sınıflamada mide kanserlerini 5 alt gruba ayırmıştır. Bunlar; adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, indifferansiye karsinom, küçük hücreli karsinom ve adenoskuamöz karsinomdur. Adenokarsinomlarda farklılaşma derecesine göre 5 alt gruba ayrılırlar. Bunlar; papiller, müsinöz, tübüller, taşlı yüzük hücreli ve diğer karsinomlardır (63, 64).

Tablo 2-1: Mide kanseri sınıflandırması.

Borrmann Sınıflaması 1926 (morfolojik özelliklere göre)	Tip 1 (Polipoid)
	Tip 2 (Fungiform)
	Tip 3 (Ülsere)
	Tip 4 (İnfiltratif)
Lauren Sınıflandırması 1965 (histolojik özelliklerine göre)	Diffüz
	İntestinal
İnvazyon derinliğine göre sınıflandırma	Erken gastrik karsinom
	Geç gastrik karsinom
Differansiyon derecesine göre sınıflandırma	İyi diferansiye
	Orta diferransiye
	İlerlemiş differansiye
Tümör yerleşimine göre sınıflandırma	Proksimal
	Distal
WHO sınıflandırması 2010	Adenokarsinom
	• Papiller
	• Müsinöz
	• Tübüller
	• Taşlı yüzük hücreli
	• Diğer karsinomlar
	Skuamöz hücreli karsinom
	İndiferansiye karsinom
	Küçük hücreli karsinom
	Adenoskuamöz karsinom

2.5. D Vitamini'nin Kaynak ve Metabolizması

D vitamini yağda eriyen vitaminler sınıfında yer alan steroid bir hormondur (65). 27 karbonlu ve 4 halkadan oluşan bir birleşiktir. A, C, D halkaları doymuş karbon atomları içerir. B halkasının 5-6 ve 7-8 karbon atomları arasındaki çift bağ bulunur ve 9-10 karbon atomu arasındaki zincir açılmıştır (66). D vitaminin en az 10 formu bulunmasına rağmen insan sağlığı için önemli iki formu; D₂ vitamini (ergokalsiferol) ve D₃ vitamini (kolekalsiferol)'dir (Şekil 2.2). Bunlar biyolojik olarak aynı etkiye sahiptir fakat 22-23 karbon atomları arasında bir çift bağ ve 24. karbon atomunda bir metil grubunun varlığı, aradaki farkı oluşturur. D vitaminini sadece beslenme ile almamız yeterli değildir. Vücudumuzda bol miktarda D₃ vitamini sentezlenmesi için güneş ışığına maruz kalınması gerekmektedir (66-68). D₂ ise bitkilerin güneş ışığına maruz kalmasıyla üretilir ve besin yoluyla vücuda alınır (69). Ek olarak yumurta, süt, somon balığı, ton balığı, maydanoz, brokoli, karaciğer, biftek gibi hayvansal gıdalar da D vitamini bakımından zengindir (70-72).



Şekil 2-2: D Vitamini ve metabolitlerinin biyokimyasal yapısı a) D₂, b) D₃, c) 25(OH)D ve d) 1,25(OH)₂D₃ (73).

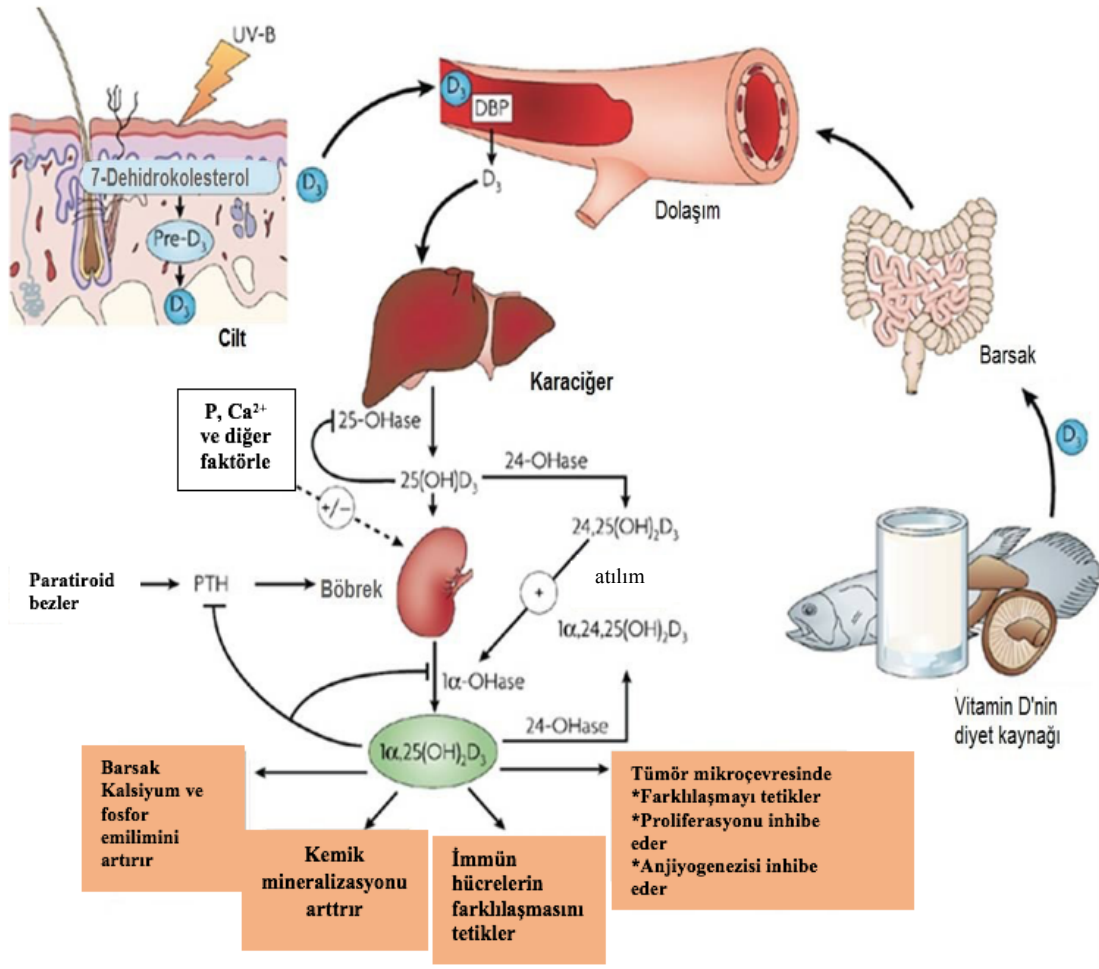
UVB (290-315 nm) güneş ışınları 7-dehidrokolesterolün çift bağlarını (9. ve 10. karbon arasındaki bağ) parçalayarak previtamin D₃'e dönüştürür, daha sonra previtamin D₃ termal izomerizasyon ile D vitaminine (kolekalsiferol) dönüştürülür (71, 74). D vitaminin vücudumuzda en aktif olduğu 1 α ,25-dihidroksivitamin D (1 α 25(OH)₂D₃) metabolitidir. 1 α 25(OH)₂D₃ oluşumu için iki önemli sitrokom P450 aracılı hidroksilasyon aşamasına ihtiyaç vardır (Şekil 2.3). Bunlardan birincisinde; deriden ve diyet ile elde edilen D vitamini, D Vitamin Bağlayıcı Protein (VDBP) aracılığı ile karaciğere taşınır. Karaciğerde mikozomal 25-Hidroksilaz enzimi (CYP27A1 geninden kodlanır) vitamin D₂ ve D₃'ü 25. karbon bölgesinde hidroksile eder, 25-hidroksivitamin D₃'e (25(OH)D) dönüştürülür. İkincisinde; 25(OH)D VDBP'ye bağlanarak böbreğe taşınır, burada CYP27B1 geni tarafından kodlanan 1 α -hidroksilaz enzimi 25(OH)D'yi birinci karbondan hidroksile eder ve D vitamini'nin aktif formu olan sekosteroid hormon 1 α 25(OH)₂D₃ (kalsitriol) oluşturur (75-79). 1 α 25(OH)₂D₃, 1 α -hidroksilaz üzerinde geribildirim (feedback) mekanizması ile çok sıkı kontrol edilir. Paratroid hormon (PTH) seviyesindeki artış 1 α -hidroksilaz enzimini uyarır böylece 1 α -25(OH)D üretimi artmış olurken Ca²⁺ metabolizması yavaşlar. Yeterli seviyeye ulaşan 1 α 25(OH)₂D₃, fibroblast büyüme faktörü-23 (fibroblast growth factor-23, FGF-23) üretimini tetikler, FGF-23 ise 1 α -hidroksilaz enziminin ekspresyonunu inhibe eder, böylece 1 α 25(OH)₂D₃ üretimi baskılanır (80).

VDBP bağlı 25(OH)D'nin proksimal tübülüs hücrelerinin membranından içeriye girmesi için, lipoprotein ailesinin bir üyesi olan düşük molekül ağırlıklı megalin gerekmektedir (81).

CYP24A1 geni tarafından kodlanır 24-Hidroksilaz enzimi ise D Vitamin metabolizmasında ayrı bir öneme sahiptir. Bu enzim, D vitaminini aktif olmayan metabolitleri olan 1,24,25(OH)₃D, 25(OH)D ve kalsitroik asit'i 24,25OH₂D'ye dönüştürür. 1 α 25(OH)₂D₃, 24-hidroksilaz'ın sentezini arttırarak kendi metabolizmasını ters geri-bildirim (negatif feedback) mekanizması ile inaktive eder (82).

Tümör hücrelerinde CYP27B1'in artan ekspresyonunun 25(OH)D'nin 1 α -25(OH)D'ye lokal dönüşüm sağlayarak kanser hücrelerin kemopreferansında rolü olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca tümörlü hücrelerin CYP24A1 ekspresyonunu arttırdığı ve 1 α 25(OH)₂D₃ seviyesinin azalmasına neden olduğu, böylece 1 α -25(OH)D'nin antiproliferatif etkisine karşı koyabildiği gösterilmiştir. CYP24A1 artan

sentezinin ve CYP27B1'in azalan sentezinin ileri evre kolon kansinomlarında ortaya çıkabileceği yapılan çalışmalarda görülmüştür (79).



Şekil 2-3: İnsan vücudunda D vitamini kaynak ve metabolizması (79).

2.6. Serumda D Vitamini Düzeyi

D vitamini düzeyleri bireylerin gün ışığına maruz kaldığı süre, yaşadığı yerin coğrafi özellikleri, deri pigmentasyonu, güneş kremi kullanması, karaciğer hastalıkları ve beslenme şekline göre farklılık göstermektedir (83).

D vitamini ölçümü için 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ ve 25(OH)D metabolitleri kullanılmaktadır. 25(OH)D'nin yarılanma ömrü 20 gün, 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ ise yarılanma ömrü 3-6 saat arasındadır. D vitamininin aktif formu olan 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün yarılanma ömrünün kısa ve kanda bulunma oranının 25(OH)D'e göre 1000 kat daha düşük olması nedeniyle değerlendirme için 25(OH)D en iyi belirteçtir. Ayrıca D vitamini eksikliğinde

artan PTH serum düzeyleri 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ tetikleyerek 25(OH)D'den 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ yapımını arttırabilir. Bu durum düşük D vitamini seviyesinde 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün yeterli düzeylerde saptanmasına neden olabilir (74, 83, 84). D vitamini referans aralığı Tablo 2-2'de gösterilmiştir (85) .

Tablo 2-2: Serum 25-OH $_2$ D $_3$ düzeyleri.

D vitamini durumu	Serum 25(OH)D düzeyi (ng/ml)
D Vitamini eksikliği	≤ 20 ng/mL
D Vitamini yetersizliği	21-29 ng/mL
D Vitamini yeterli	≥ 30 ng/mL
D Vitamini toksik etki	≥ 150 ng/mL

Amerika'daki Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi Centers for Disease Control and Prevention CDC) tarafından yayınlanan D vitamini düzeyleri ve yorumları Tablo 2-3'de gösterilmiştir (86).

Tablo 2-3: D vitamini düzeyleri ve yorumları.

D vitamini durumu	Serum 25(OH)D düzeyi (ng/ml)
25(OH)D ≤ 30 nmol/l (≤ 12 ng/ml)	Bebek ve çocuklarda raşitizmle, erişkinlerde osteomalazi ile ilişkili D vitamini eksikliği
25(OH)D = 30–50 nmol/l (12–20 ng/ml)	Sağlıklı bireylerde kemik ve genel sağlık açısından D vitamini yetersizliği
25(OH)D ≥ 50 -125 nmol/l (≥ 20 ng/ml)	Sağlıklı bireylerde kemik ve genel sağlık açısından yeterli D vitaminin düzeyi şeklindedir.

2.7. D Vitaminin Başlıca Görevleri

VDBP ile hücrelere taşınan 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ iki şekilde aktifleşmektedir. Genomik olarak hücre içinde D Vitamini Reseptörü (VDR) ve Retinoik asit X-reseptörü ile üçlü

kompleks yaparak DNA üzerinde D Vitamini Cevap Elemanlarına (VDRE) bağlanabilir ya da direk olarak plazma membranında VDR reseptörüne bağlanarak sitoplazmada bulunan ikincil mesajcıları (fosfolipaz C, cAMP, MAP kinaz ve PI-3 kinaz) aktive eder (77). Genomik etkisini transkripsiyon faktörleri üzerinden; hücrede apoptozunu, diferansiyonu, poliferasyonu, DNA onarımını, oksidatif stresi ve hücre metabolizmaları düzenleyerek gösterdiği bilinmektedir. Genomik olmayan direk etkilerini ise membrana bağlı VDR ile etkileşime girerek, kalsiyum ve klor transmembran geçişini değiştirerek veya hücre içi ikincil mesajcıları aktive ederek göstermektedir (87).

D vitaminin anti-kanser etkisi ile tümör hücreleri üzerinde anti-proliferatif, apoptotik ve anti-anjiyogenetik düzenlemeler sağlanır (88). D vitaminin aktif metaboliti olan kalsitriolün meme, prostat ve kolon gibi birçok kanser türünde Bcl-2'yi inhibe ederek hücreyi apoptoza götürdüğü görülmüştür (89). Over kanseri hücre hattı ile yapılan çalışmalarda D vitamininin hTERT (insan telomeraz ters transkriptaz) mRNA seviyesini düşürerek telomerazın etkinliğini azalttığı ve kanserli hücreleri apoptoza sevk ettiği görülmüştür (90, 91). Akciğer kanseri hücre kültüründe yapılan çalışmalarda D vitamini metabolitlerinin insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)'in mitojenik aktivitesini engellediği, hücre proliferasyonunu arttırdığı ve apoptozu tetiklediği belirtilmiştir (92, 93). 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün meme tümörü MCF-7 ve HL-60 lösemi hücre hatlarında BCL2 ekspresyonunu azalttığı; prostat kanseri, kolorektal adenom ve karsinom hücrelerinde ise BAX ve BAK ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (79).

1α -25(OH) $_2$ D $_3$, endotel hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek anjiyogenezi azaltabilir. D vitamini'nin VEGF mRNA ekspresyonu ile anti-anjiyogenetik faktör trombospondin 1 (THSB 1) mRNA ekspresyonunu arttırarak insan kolon tümör hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (79).

MikroRNA'lar (miRNA), mRNA traslasyonunda, hücre döngüsü ile apoptozun düzenlenmesinde önemli işlevlere sahip kısa, tek zincirli RNA'lardır. miRNA'lar da 1α -25(OH)D'nin anti-kanser fonksiyonunda görev alabilir. Mide kanser hücrelerinde yapılan bir çalışmada 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün miR-145'i tetikleyerek anti-proliferatif ve gen düzenleyici etkilere aracılık ettiği tespit edilmiştir (94).

Kronikleşmiş inflamasyon da kansere neden olmaktadır. 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün immün hücreleri üzerine doğrudan ve dolaylı etkileri vardır. Mitojenik aktivite fosfataz 5 (MKP5)'in sentezini arttırarak doğrudan proinflamatuvar sitokinlerin sentezini

tetikleyebilmektedir. İnflamasyonda önemli rol oynayan NFkB sinyalizasyonu sayesinde 1α -25(OH) $_2$ D $_3$, pek çok genle etkileşime geçerek dolaylı olarak immün sistemde ve inflamasyonda rol oynayabilmektedir (95, 96).

Kalsiyum dengesinin düzenlenmesinde oldukça önemli olan D vitamini kemik mineralizasyonu için barsaktan kalsiyum ve fosfor emilimini sağlayarak, PTH beraber Ca/P seviyesini dengede tutar (74). Besinle yeterli miktarda Ca $^{2+}$ alınmaması durumunda kemikte depo halde bulunan Ca $^{2+}$ kullanılır. Kemikte depo halde bulunan Ca $^{2+}$ için D vitamini VDR'ye bağlanır. Bu bağlanma ile osteoblast hücreleri üzerinde bulunan plazma membran reseptör aktivatör ve NFkB ligandı (Receptor activator of nuclear factor κ -B ligand, RANKL) yapımını artırır, böylece preosteoplastların osteoklastlara farklılaşması gerçekleşir. Osteoklastlardan salgılanan hidroklorik asit ve kollejen sayesinde kemikte depolanan, Ca $^{2+}$ ve P perifer dolaşıma katılırlar. Ca $^{2+}$ barsaktan, P böbrekten emilerek dengelenir. D vitamini eksikliği, çocuklarda raşitizm yetişkinlerde ise osteomalaziye neden olabilir (97).

D vitamini insulin seviyesini düzenlediği için hem hormon hem de vitamin olarak tanımlanmaktadır. D vitamini seviyesinin düşük olduğu durumlarda Tip 1 ve Tip 2 diyabet gelişim riskinin arttığını destekleyen çalışmalar vardır (98). Yapılan epidemolojik çalışmalarda erken evrede sağlanan D vitamini yeterliliğinin Tip 1 diyabeti önlemede önemli etkisi olduğunu gösterilmiştir (99). D vitamininin obezite gelişimi üzerinde de etkileri vardır. Yapılan çalışmalarda, yağ kitlesi ile 25(OH)D seviyesi arasında negatif; PTH seviyesi arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir. Daha az gün ışığına maruz kalan bireylerin adipoz dokularında 25(OH)D'nün sekestasyonunu artırır. Serumda artan PTH ve azalan 25(OH)D konsantrasyonu adipoz dokularda Ca $^{2+}$ 'u arttırmaktadır. Bu durum lipogenezi uyarır ve vücudu kilo almaya yatkın hale getirir (100).

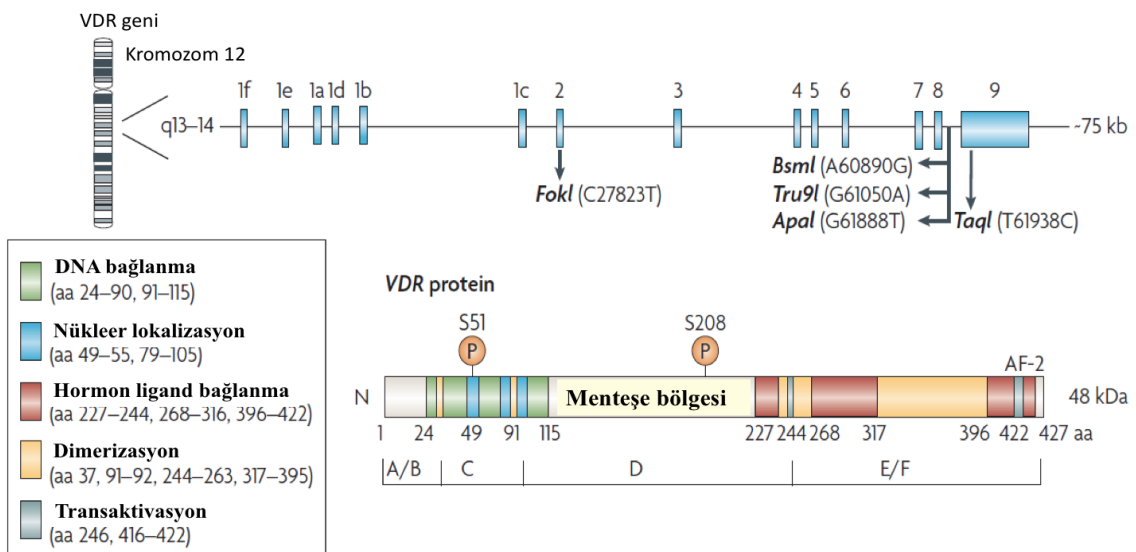
D vitamini immün sisteminde de oldukça etkilidir. Antimikrobiyal aktivasyonu artırırken, inflamatuvar aktivitesini baskılar. 25(OH)D vitamini T ve B hücreler, monosit, makrofaj gibi bir çok immün hücrede VDR'ye bağlanarak etki göstermektedir (101).

Kalp kası hücrelerinde de VDR'nin varlığı tespit edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, VDR polimorfizmi ile koroner kalp kası hastalığı arasında pozitif ilişki olduğunu göstermektedir. Kalp yetmezliği olan bireylerin plazmalarında 25(OH)D seviyesi incelenmiş ve düşük bulunmuştur (102, 103).

2.8. D Vitamini Reseptörü

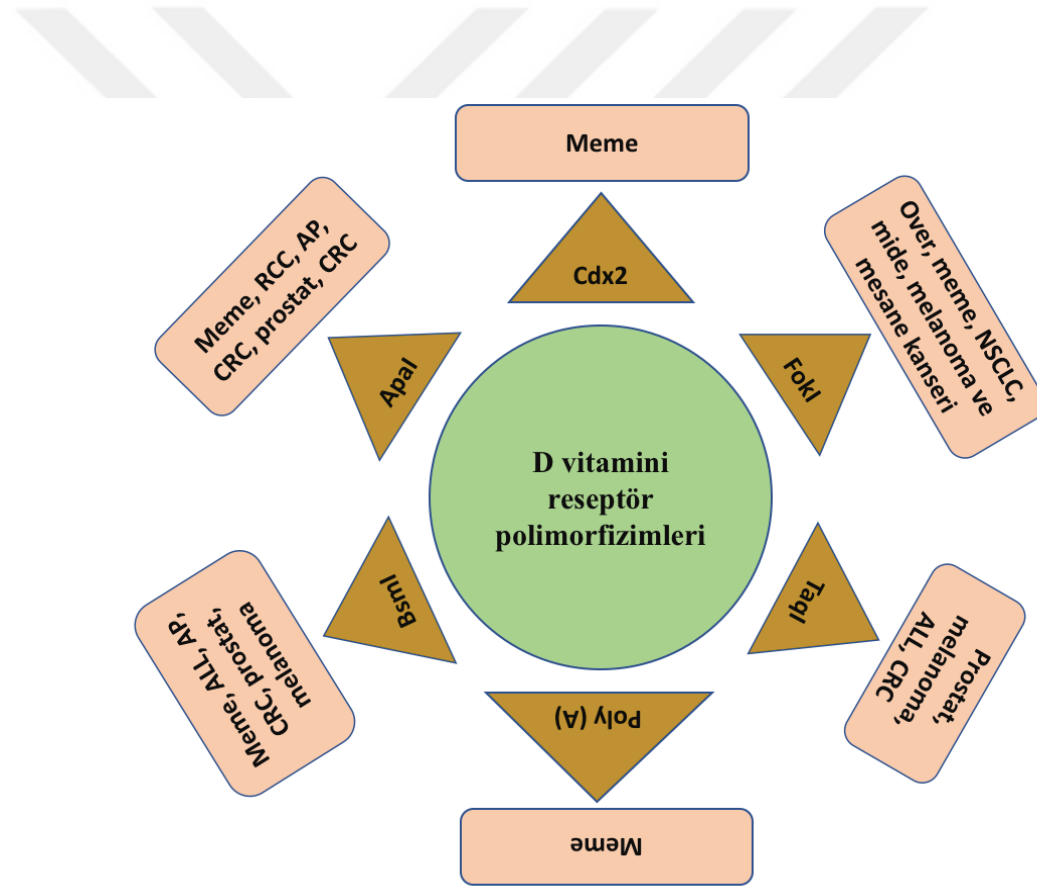
VDR proteini 48.3 kD ağırlığında 427 aminoasitlik kalıntıdan oluşan, steroid-tiroid hormon reseptörü olan nükleer reseptör ailesinin (NR1) bir üyesidir ve dört önemli bölgesi bulunur. Bunlar; VDR güçlendirici bölge, ligand bağlayıcı bölge, heterodimerizasyon bölgesi ve DNA bağlayıcı bölgedir (104). VDR geni yaklaşık 100 kb ağırlığında, 12. kromozomun uzun koluna lokalize olan bir gendir. 11 ekzondan oluşur ve transkripsiyon ürünlerini 2-9 ekzon aracılığı ile kodlar (Şekil 2.4) (105).

VDR'nin biyolojik fonksiyonu iki mekanizma ile düzenlenir. Bunlardan birinde nükleer VDR'nin genomik etkiyle transkripsiyonu, diğerinde membran VDR'nin direk etkisi ile ikincil habercilerin sinyal iletim yollarını düzenlemesidir (106). Bunlarda birincisi en çok çalışan anti-tümör mekanizmasıdır. VDR'ye bağlanan D vitamini reseptörü fosforile ederek retinoik X reseptörü (RXR) ile heterodimer veya homodimer oluşturur. 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ – VDR - RXR heterodimeri hedef genlerin promötöründe D vitamini yanıt elementlerine (VDRE) bağlanır. Membrandaki VDR Ca $^{2+}$ 'un barsaktan emilimini 15-45 dakika içinde sağlayan hızlı tepkiye, pankreas β -hücreleri tarafından insülin salgılanmasına, osteoblast ve sertoli hücrelerinde Ca $^{2+}$ ve Cl $^-$ kanallarının açılmasına ve endotel hücrelerinin göçüne aracılık eder (107-109).



Şekil 2-4: VDR yapısı ve polimorfizmleri.

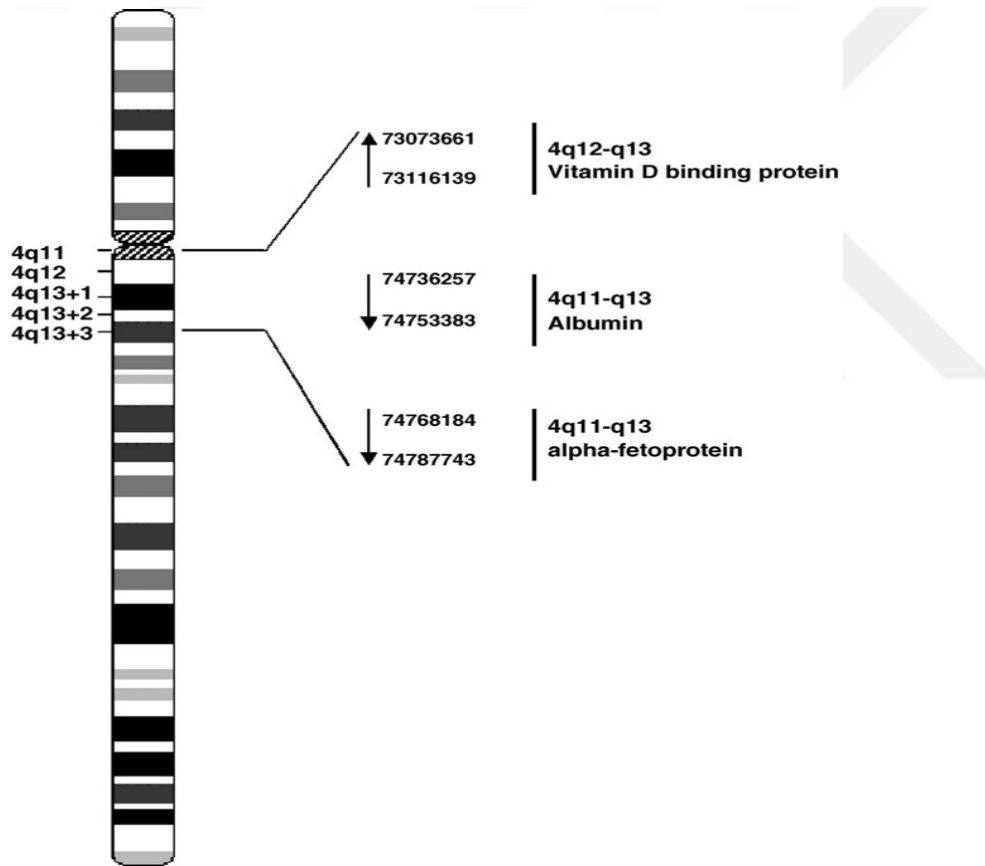
1,25(OH)₂D₃-VDR-RXR heterodimeri DNA'ya yüksek afinite ile bağlanmakta ve transkripsiyon başlangıç faktörlerinin bir araya toplanmasını sağlamaktadır (110). Bu özel bağlanma VDR'nin aktivasyonunu; apoptozu uyarak apoptoz genlerinin ekspresyonunu düzenlemekte, normal işlev gösteren hücrelerin farklılaşmasını uyarmakta ve proliferasyonu, invazyonu, anjiogenezi ve metastatik potansiyeli etkin bir şekilde inhibe etmektedir (Şekil 2.5). VDR geninde birçok polimorfizim saptanmıştır, bunların en yaygını; ekzon 2 de bulunan ve başlangıç kodonu olarak bilinen FokI (rs2228570), intron 8 de bulunan BsmI (rs544410) ve ApaI (rs7975232) ve ekzon 9 da bulunan TaqI (rs731236) restriksiyon enzimlerinin kesim yaptığı polimorfizimlerdir (111).



Şekil 2-5: VDR polimorfizimleri ile kanser riski arasındaki ilişki (112). ALL: Akut lenfosit lösemi; CRC: kolorektal kanser; RCC: Renal hücreli karsinom; NSCLC: Küçük hücre dışı akciğer kanseri; AP: Adenömatöz polipoz.

2.9. D Vitamini Bağlayıcı Protein (VDBP)

D Vitamini bağlayıcı protein (VDBP), yaklaşık 52-59 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. İnsanda VDBP geni 4. kromozomun uzun kolunda (4q11-q13) lokalizedir, 13 ekzon ve 12 intron bölgesi içerir (Şekil 2.6) (113, 114). VDBP geninin çeşitli yapısal özelliklerine bakıldığında albumin (ABL), α -fetoprotein (AFP), α -albumin/afamin (AFM) içeren bir multigen kümesinin üyesi olabileceği düşünülmektedir (115). VDBP gen bölgesi içinde iki bağlanma bölgesi tanımlanmıştır, 35-49 kalıntıları arasında D vitamini bağlanma bölgesi ve 373-403 kalıntıları arasında bir aktin bağlanma bölgesi bulunur (116).



Şekil 2-6: VDBP yapısı.

VDBP'nin birçok görevi bulunmaktadır. Bunlar; yağ asidi transportu, ekstraselüler aktini bağlamak, kompleman faktör C5a'yı proteolitik bozulmadan korumak ve de-glikolize olmuş bir formu olan VDBP-makrofaj aktive edici faktörle (DBVP-MAF) makrofaj ve osteoklastların aktivasyonunu desteklemek. Tüm bunlara

ilave olarak başlıca görevi D vitamini metabolitlerini bağlamak ve taşımaktır (100). Plazmada büyük oranda VDBP'ye bağlanarak taşınan D vitamini az oranda albümin ve şilomikronlara bağlanarak da taşınabilir. VDBP ayrıca hücre ve dokulardaki D vitamini seviyesini de düzenler (117). VDBP büyük oranda karaciğerde sentezlenir, hepatik sentezi östrojen bağımlıdır ve östrojen tedavisi veya hamilelik döneminde önemli ölçüde artmaktadır (118). VDBP geninde 120'den fazla polimorfizm varyantı tespit edilmiştir. En sık gözlenen varyantlar üç tanedir; GC1F, GC1S ve GC2'dir. Bu polimorfizmler VDBP işlevini etkilemektedir. VDBP (GC) fenotipine göre serum D vitamini, VDBP düzeyleri ve VDBP işlevleri farklılık göstermektedir. GC1F, serumda en düşük oranda bulunur fakat 25(OH)D'ye en yüksek afinitiyi gösterir. GC1S ise serumda en yüksek oranda bulunur fakat 25(OH)D'ye afinitesi orta derecededir. GC2, serumda orta derecede bulunur ve 25(OH)D'ye afinitesi en düşük olan fenotipidir (Tablo 2-4) (100).

Tablo 2-4: VDBP nin yaygın fenotipleri ve 25(OH)D ile karakteristik ilişkileri.

Fenotip	rs 7041	rs 4588	DBP Seviyesi	25(OH)D 'ye Afinitesi
GC1F	T (D: asp)	C (T: thr)	Düşük	Yüksek
GC1S	G (E: glu)	C (T: thr)	Yüksek	Orta
GC2	T (D: asp)	A (K: lys)	Orta	Düşük

Birçok çalışmada VDBP serum düzeyi ve VDBP polimorfizmlerin kanser riski ile ilişkisi araştırılmıştır (11). Humpries ve ark. (2014) yapmış olduğu çalışmada VDBP'nin mide kanserleri için yeni bir belirteç olduğunu bildirmiştir (119). VDBP geninde iki yaygın tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism, SNP) tanımlanmıştır. Bunlar; 416. kodonda aspartik asit yerine glutamik asit (Glu416Asp, rs7041) ve 420. kodonda treonin yerine lizin (Thr420Lys, rs4588) aminoasit değişikliği ile sonuçlanan polimorfizmlerdir (120). Zhou ve ark. (2012) Çin popülasyonunda yaptığı çalışmada VDBP polimorfizimlerinin gastrointestinal kanser gelişim riski üzerinde önemli etkisi olduğunu bildirmiştir (121).

2.10. D Vitamini ve Mide Kanseri

D vitaminin bilinen en temel fizyolojik rolü Ca^{2+} ve P trasportu ile kemik mineralizasyonunu düzenlemesidir (79). İlk olarak Frank Garland 1980 yılında ‘UVB - D vitamini - kanser’ hipotezini önerdi. Sonraki epidemiyolojik çalışmalar ise UVB ile ilişkili D vitamini eksikliğinin kanser insidansı ve mortalitesinde önemli bir risk faktörü olduğunu desteklemiştir (122). Yapılan çalışmalarda D vitamininin poliferizasyon, farklılaşma ve apoptozu etkilediği ortaya çıkmış olup birçok tümör tipinde D vitamini sentezinde ve yıkımında önemli etkisi olan proteinlerin fonksiyonu ve ekspresyonu gözlemlenmiştir. Bazı epidemiyolojik çalışmalar serumda düşük düzeyde bulunan 25(OH)D’nin; kolorektal, meme ve prostat kanseriyle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Serum D vitamini düzeyi ile farklı kanser türündede risk ve ölüm oranı arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçlayan birçok epidemiyolojik çalışma vardır (79).

D vitamininin mide kanserinde anti-kanser mekanizması olarak 4 farklı hücre sinyal yolağı önerilmiştir (Şekil 2.7);

1. NUGC-3 hücre hattında yapılan çalışmada D vitaminin DNA-polimeraz- α ’yı inhibe ederek mide kanseri hücrelerinin ekspresyonunu G1 fazında durdurabildiği gösterilmiştir (123).
2. D vitamininin bir analogu olan 19-nor-1 α 25OH₂D₂’nin CDK2, CDK4, CDK6 ve siklin D1’in ekspresyonunu azaltarak mide kanseri hücrelerinin döngüsünü bloke edebilir (124).
3. PTEN’nin promotör bölgesinde fonksiyonel VDR elemanları tanımlanmıştır. D vitamini nükleer transkripsiyon faktörü olarak PTEN’nin ekspresyonunu düzenler (125). HGC-27 mide kanseri hücre hattında yapılan bir çalışmada VDR, EGR1 ve P300’ün oluşturduğu kompleks PTEN ile etkileşime girerek mide kanseri hücrelerin apoptoza gitmesini tetikler (126).
4. Hedgehog sinyal yolağı mide kanser patogenezinde ve prognozunda önemli rol oynamaktadır. Bu durum mide kanserlerinin tedavisi için yeni bir potansiyeldir. D vitamini, mide kanseri hücrelerinin büyümesini baskılamak için hedgehog sinyalizasyonuna antagonist etki gösterir. Anti-kanser ilaçlarla beraber, hedef genlerin mRNA ekspresyonunu azaltarak da sinerjistik bir etki oluşturur (127, 128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Örneklerinin Tanımı

Yapmış olduğumuz araştırmaya, iki grup dahil edilmiş olup, araştırmamız bir vaka-kontrol çalışmasıdır. Birinci grup olan kontrol grubu, 84 kişiden oluşan, herhangi bir malignite bulgusu ve tercihen ailede kanser hikayesi olmayan sağlıklı bireylerden seçilmiştir. İkinci grup ise, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Bilimler Anabilim Dalı ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği tarafından takip edilen mide kanseri tanısı konmuş 77 hastayı kapsamaktadır.

Araştırma grubundaki örnek sayısı uygunluğu için PS-Power and Sample Size Calculation 3.0.43 programı kullanılarak güç (power) analizi yapılmıştır. 77 mide kanserli hasta ile 84 sağlıklı gönüllüden oluşan çalışmamızın gücü, daha önceden yapılan çalışmaların risk olasılıkları göz önünde bulundurulduğunda FokI rs: 2228570 için %88 ($\alpha=0.05$), TaqI rs:731236 için %98 ($\alpha=0.05$), VDBP rs:7041 için %75 ($\alpha=0.05$) olarak hesaplanmıştır (130, 131).

Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve 20.12.2017 tarihinde 476413 sayılı karar ile onaylanmıştır. Araştırma İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı laboratuvarında kullanılan cihazlar ve kimyasallar ile gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araştırmanın kriterleri

Araştırmaya dahil olma kriterlerinde;

1. Hasta ve kontrol grubunda bulunan bireylerin 18 yaş üzerinde olması,
2. Araştırmaya katılmak için gönüllü olduğuna dair bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu okuyup onay vermiş olması,
3. Hasta grubundaki bireylerin mide kanseri tanısı almış olması,
4. Kontrol grubunda bulunan bireylerin mide veya herhangi bir kanser tanısı almış olmaması,

5. Kontrol grubundaki bireylerin biyokimyasal test verilerinde anormal sonuçların olmaması.

3.3. Kullanılan Gereçler

HPLC (Azura, Knauer), C18 HPLC kolonu, pH metre (Hannan), Çeker ocak (Opas), +4°C Buzdolabı (Arçelik), -20°C Derin dondurucu (Regal), -80°C Derin dondurucu (Daihan Scientific), Pipet seti (Eppendorf), Distile su cihazı (Millipore), DNA/RNA UV Cleaner Kabin (Biosan), Elektroforez sistemi (E-C 350 MIDICELL), Hot plate (Fisher Scientific), Güç kaynağı (E-C Apparatus Corporation), Mikrosantrifuj (Hettich), Vorteks (Biosan), Spektrofotometre, NanoDrop (Maestro, Nano), Etüv (Heraeus), Otoklav (ALP), Mikrodalga (Philco), Hassas terazi (Shimadzu) Santrifüj (Nüve ve Hettich), PCR cihazı (BioRad), UV Görüntüleme sistemi (Kodak EL LOGIC)

3.4. Kullanılan Kimyasallar

DNA izolasyon kiti, primerler, Taq Polimeraz, trizma baz, EDTA, borik asit, agaroz, bromfenol blue, etidyum bromid, DNA marker, TaqI endonükleaz enzimi, FokI endonükleaz enzimi, HaeIII endonükleaz enzimi, 25-OH-Vitamin D3/D2 ölçüm kiti, etanol, hidroklorik asit, izopropanol.

3.5. Kullanılan Çözeltiler

3.5.1. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler

3.5.1.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu

Agaroz jel yükleme tamponu için, %40 sükröz ile %0.25 bromfenol mavisinden oluşan karışım hazırlandı. Çalışma süresince hazırlanan yükleme tamponu oda ısısında saklandı.

3.5.1.2. Etidyüm Bromür

Etidyum bromürden 1 gr tartılarak ölçekli bir kaba alındı sonra distile su ile 10 ml tamamlandı.

3.5.1.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE) Tamponu

Tris bazdan 54 gr ve borik asitten 27.5 gr alınarak ölçekli bir kaba konuldu. Üstüne 0.5 M 20 ml EDTA ve 800 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Hazırlanan çözelti 1 lt'ye tamamlandıktan sonra 120°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

3.6. Kullanılan Yöntemler

3.6.1. Numunelerin toplanması

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Bilimler Anabilim Dalı ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği tarafından mide kanseri teşhisi konulmuş hastalardan ve herhangi bir kanser teşhisi konulmamış gönüllülerden (kontrol grubu) 10 ml'lik EDTA'lı ve kuru tüplere kan örneği alınmıştır.

3.6.2. Periferik Kandan DNA izolasyonu

EDTA'lı tüplere toplanan periferik kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak genomik DNA izolasyonları firma talimatları doğrultusunda yapıldı.

DNA izolasyonuna başlamadan önce;

- Benç üstü ve pipet uçları %70'lik etanol ile silindi.
- DNA izolasyonunun yapılacağı alan 10 dakika UV ile sterilize edildi.
- Çeker ocak içindeki havalandırma sistemi ve ışık açıldı.
- Gerekli cihazlar ve kimyasallar kullanıma hazır hale getirildi.

DNA izolasyon kiti (Jena Bioscience, Blood-Animal-Plant DNA Preparation Kit) protokol basamakları:

1. 200 µl kan örneği ile 1 ml lysis tamponu uygun ependorf tüpüne alınarak karıştırıldı.
2. Buz üzerinde 10 dakika süresince inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon süresince 2-3 kez hafif vortekslenerek karıştırıldı.
4. 10000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.
5. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı.
6. Elde edilen hücre pelletine 300 µl lysis tamponu ve 200µl RNaz A eklendi.
7. 30-60 saniye boyunca iyi şekilde vortekslendi.
8. 8µl proteinaz K ilave edildi ve pipetaj ile karıştırıldı.
9. 60°C'de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı ve 5 dakika soğuması için bekletildi.
10. Soğuduktan sonra üzerine 300 µl bağlanma tamponu (binding buffer) eklendi, hafifçe vortekslendi ve 5 dakika boyunca buz üstünde bekletildi.
11. 10000 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
12. Örneğin tamamı kolonlu tüp içine aktarıldı.
13. 10000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
14. Santrifüj sonrasında kolon yeni tüpe aktarıldı ve altta kalan kısım atıldı.
15. Kolonlu tüp içine ikinci kez 500 µl yıkama tamponu eklendi
16. 10000 g'de 30 saniye santrifüj edildi.
17. Santrifüj sonrası kolon yeni tüpe aktarıldı ve altta kalan kısım atıldı.
18. Kolonlu tüp içerisine 500 µl yıkama tamponu eklendi.
19. 10000 g'de 30 saniye santrifüj edildi.
20. Santrifüj sonrası kolon elüsyon tüpüne aktarıldı ve yıkama tüpü atıldı.
21. Kolonlu tüpe 40-50 µl elüsyon tamponu eklendi.
22. Oda ısısında bir dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
23. 10000 g'de 2dakika santrifüj edildi.
24. Santrifüj sonrası kolon atılarak tüpte kalan genomik DNA + 4 °C'de veya - 20 °C'de saklanmak üzere kaldırıldı.

3.6.3. Elde edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

Elde edilen DNA örneklerinin kalitesi ve konsantrasyonunun tayin edilebilmesi için yaklaşık olarak 1 µl pipetlenerek spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında ölçümler yapılmıştır.

50 µg/ml çift iplikçikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda 1 optik densite (OD) verdiği kabul edilmektedir. DNA konsantrasyonu 260 nm'deki ölçüm değeri ile aşağıdaki formül kullanılarak tesbit edildi.

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

DNA örneklerinin saflığı ise 260/280 nm'deki oran kullanılarak tesbit edildi. DNA saflığının iyi kabul edildiği değer yaklaşık olarak 1.8'dir. Bu oran 2 den büyükse ortamda RNA kalıntılarının olduğu, 1.8'den küçükse ortamda fenol veya protein bulunduğu anlamına gelmektedir.

3.6.4. VDR Geninde rs: 2228570, rs: 731236 ve VDBP Geninde rs: 7041 Polimorfizmlerinin PZR Yöntemiyle Çoğaltılması

İzole edilen DNA numunelerinden, VDR geninde rs: 2228570 ve rs: 731236 ile VDBP geninde rs: 7041 varyasyonlarını tespit etmek için ilk önce Tablo 3-1'deki her bir polimorfizme ait ilgili primerler ve Tablo 3-2 ve Tablo 3-3'deki ilgili reaksiyon bileşenleri kullanılarak gen bölgelerinin çoğaltılması Tablo 3-3 ve Tablo 3-4'deki ilgili PZR protokolü uygulanarak sağlandı.

Tablo 3-1: PZR için kullanılan primerler.

VDR rs: 2228570 polimorfizmi için Primerler:
➤ Forward: 5'-GATGCCAGCTGGCCCTGGCACTG-3'
➤ Revers: 5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'
VDR rs: 731236 polimorfizmi için Primerler:
➤ Forward: 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG-3'
➤ Revers: 5'-CGGCAGCGGATGTACGTCTGCAG-3'
VDBP rs: 7041 polimorfizmi için Primerler:
➤ Forward: 5'-AAATAATGAGCAAATGAAAGAAGAC-3'
➤ Revers: 5'-CAATAACAGCAAAGAAATGAGTAGA-3'

Tablo: 3-2 VDR FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 polimorfizmlerin PZR karışımı.

Birleşen/ Miktar (µL)	rs: 2228570 polimorfizmi	rs: 731236 polimorfizmi
Su	16.45	16.45
dNTP'ler	1.5	1.5
MgFree Tampon	1	1
MgCl ₂	2.5	2.5
Primer	1.5 (10 pM)	1.5 (10 pM)
DNA Taq Polimeraz	0.3	0.3
DNA	1	1
Toplam	25 µl	25 µl

Tablo 3-3: VDBP rs: 7041 polimorfizmi PZR karışımı.

Birleşen/ Miktar (µL)	rs: 7041 polimorfizmi
Su	17.3
dNTP'ler	2
Mg ⁺⁺ -tampon	2.5
Primer	2 (10 pmol)
DNA Taq Polimeraz	0.2
DNA	1
Toplam	25 µl

Tablo 3-4: VDR FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 polimorfizmlerinin PZR koşulları.

Sıcaklık (°C)/ Süre	rs: 2228570 polimorfizmi	rs: 731236 polimorfizmi	
96	1 dk	1 dk	
94	1 dk	1 dk	
60	45 sn	45 sn	
72	45 sn	45 sn	
72	5 dk	5 dk	
4	∞	∞	

35 döngü

Tablo 3-5: VDBP rs: 7041 polimorfizmi PZR koşulları

Sıcaklık (°C)	Süre	35 döngü
94	1 dk	
94	1 dk	
58	45 sn	
72	45 sn	
72	5 dk	

3.6.5. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi İle Kontrolü

3.6.5.1. %2'lik Agaroz Jel Hazırlanması

- 4 gr agaroz hassas terazide tartılarak ölçülü bir kap içine alındı. 200 ml'yi tamamlayacak şekilde 1X TBE tamponu ilave edildi ve mikrodalgada kaynatılarak iyice çözdürüldü.
- Erlenin sıcaklığı yaklaşık 50-55°C'ye düştüğünde çözünmüş olan agaroz jel içine 4 µl etidyum bromür (10 mg/ml) eklendi.
- Hazırlanmış olduğumuz jel yatay olarak jel yatağının içine döküldü. Yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirdi ve tamamen donmaya bırakıldı.
- Jel donduktan sonra jele zarar vermeyecek şekilde tarak çıkartılarak jelin örnek yüklemesi için hazır hale getirilmesi sağlandı.

3.6.5.2. PZR Ürünlerinin %2'lik Agaroz Jele Yüklenmesi ve Kontrolü

- %2'lik agaroz jel hazırlandıktan sonra, jel elektroforez tankı içine yerleştirildi ve jelin üzerini 2-3 ml geçecek şekilde 1X TBE tamponu konuldu.
- 7 µl PZR ürünü ile 3 µl yükleme tamponu pipetaj ile iyice karıştırıldıktan sonra kuyucuklara sırasıyla yüklendi.
- Örnekler kuyucuklara yüklendikten sonra jel elektroforez tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 250 mili amper (mA) 120 volt (V) elektrik gücüne ayarlanarak jel elektroforezin yürütülmesi sağlandı.
- Yürütme işleminin ardından jel UV ışık altında incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi.
- PZR reaksiyonları sonucu VDR geninde FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 ile VDBP geninde rs: 7041 varyasyonları sırasıyla 272 bp, 347 bp, 482 bp'lık PZR ürünleri görüntülendi (Şekil 3-2, 3-4,3-6).

3.6.6. VDR Geninde FokI rs: 2228570, TaqI rs: 731236 ve VDBP Geninde rs: 7041 Polimorfizmlerinin Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) Yöntemi ile Saptanması

Spesifik polimorfizmlerin saptanması için PZR ürünleri, uygun restriksiyon protokolleri kullanılarak optimal sıcaklıkta ve sürede inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde 120 V'de yürütülerek bant uzunlukları tespit edilmiştir.

3.6.6.1. VDR FokI rs: 2228570 Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Saptanması

FokI enzimi VDR rs:2228570 PZR ürünlerinde ATG→ACG gen polimorfizminin tespit edilmesi için kullanıldı. FokI enziminin tanıdığı gen dizisi ve kesim yeri Şekil 3-1'deki gibidir.



Şekil 3-1: FokI restriksiyon enzimine ait kesim bölgesi.

VDR rs: 2228570 geninin FokI restriksiyon enzimi ile kesimi için Tablo 3-6'de belirtilen birleşenlerle karışım hazırlandı. FokI enziminin inkübasyonu için optimum sıcaklık 55°C'de 2 saat olmuştur. FokI enziminin yapmış olduğu kesim ve oluşan bantlar Şekil 3-2'te gösterildi.

Tablo 3-6: FokI kesim enzimi için protokol.

Kimyasallar	Kullanılan Hacim (µl)
Su	8
Buffer	2.5
FokI enzimi	0,2
PCR ürünü	5

Kesim ürünleri	FF (Normal genotip homozigot)	ff (Mutant genotip homozigot)	Ff (Mutant genotip heterezigot)
Fragman uzunlukları			
↓			
272 bç			
198 bç			
74 bç			

Şekil 3-2: FokI restriksiyon enziminin oluşturduğu DNA bantları.

3.6.6.2. VDR Geni TaqI rs: 731236 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Saptanması

TaqI enzimi VDR rs:731236 PZR ürünlerinde ATT→ATC gen polimorfizminin tespit edilmesi için kullanıldı. TaqI enziminin tanıdığı gen dizisi ve kesim yeri Şekil 3-3'deki gibidir.



Şekil 3-3: TaqI restriksiyon enzimine ait kesim bölgesi.

VDR rs: 731236 geninin TaqI restriksiyon enzimi ile kesimi için Tablo 3-7'de belirtilen birleşenlerle karışım hazırlandı. TaqI enziminin inkübasyonu için optimum sıcaklık 65°C'de 15 dakika olmuştur. TaqI enziminin yapmış olduğu kesim ve oluşan bantlar Şekil 3-4'de gösterildi.

Tablo 3-7: TaqI kesim enzimi için protokol.

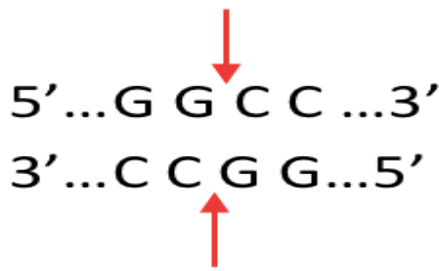
Kimyasallar	Kullanılan Hacim (µl)
Su	6
Buffer	1
TaqI Enzimi	0,5
PZR ürünü	4

Kesim Ürünleri	TT (Normal genotip homozigot)	tt (Mutant genotip homozigot)	Tt (Mutant genotip heterozigot)
Fragman Uzunlukları			
↓			
347 bç			
293 bç			
54 bç			

Şekil 3-4: TaqI restriksiyon enziminin oluşturduğu DNA bantları.

3.6.6.3. VDBP Geni rs: 7041 Polimorfizminin RFLP Yöntemi İle Saptanması

HaeIII enzimi VDBP rs:7041 PZR ürünlerinde GAT→GAG gen polimorfizminin tespit edilmesi için kullanıldı. HaeIII enziminin tanıdığı gen dizisi ve kesim yeri Şekil 3-5'deki gibidir.

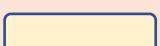
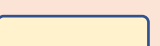


Şekil 3-5: HaeIII restriksiyon enzimine ait kesim bölgesi.

VDBP rs: 7041 geninin HaeIII restriksiyon enzimi ile kesimi için Tablo 3-6'da belirtilen birleşenlerle karışım hazırlandı. HaeIII enziminin inkübasyonu için optimum sıcaklık 37°C'de 1 gece olmuştur. HaeIII enziminin yapmış olduğu kesim ve oluşan bantlar Şekil 3-6'da gösterildi.

Tablo 3-8:HaeIII kesim enzimi için protokol.

Kimyasallar	Kullanılan Hacim (μl)
Su	6
Tampon	1
HaeIII Enzim	1
PCR ürünü	5

Kesim Ürünleri	TT (Normal genotip homozigot)	GG (Mutant genotip homozigot)	TG (Mutant genotip heterozigot)
Fragman Uzunlukları			
↓			
482 bç			
298 bç			
184 bç			

Şekil 3-6: HaeIII restriksiyon enziminin oluşturduğu DNA bantları.

3.6.7. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi

Yapılan araştırmalarda D vitamini serum düzeylerinin incelenmesi için yüksek performanslı sıvı kromatografisinin (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) güvenilir bir yöntem olduğu gösterilmiştir (132). Dolayısıyla çalışmamızda, serumda vitamin D düzeylerinin ölçümü için ultraviyole dedeksiyon yöntemi ile HPLC sistemi ve D vitamini ölçüm kiti (38038 Reagent kit for HPLC analysis of 25-OH-Vitamin D3/D2 in serum/plasma, ChromogenGrafelfing, Almanya) kullanılmıştır.

Bu amaçla kullanılan HPLC sistemi, 2-kanallı gaz giderici (degazör), basınç algılayıcı pompa, ultra viyole detektör, manuel enjektör sistemi ve çözücü/elüent tablasından oluşmaktadır. Analitik kolon olarak C18 kolonu (250x 4.6 mm i.d.;5 µm parçacık boyutu) kullanılmıştır.

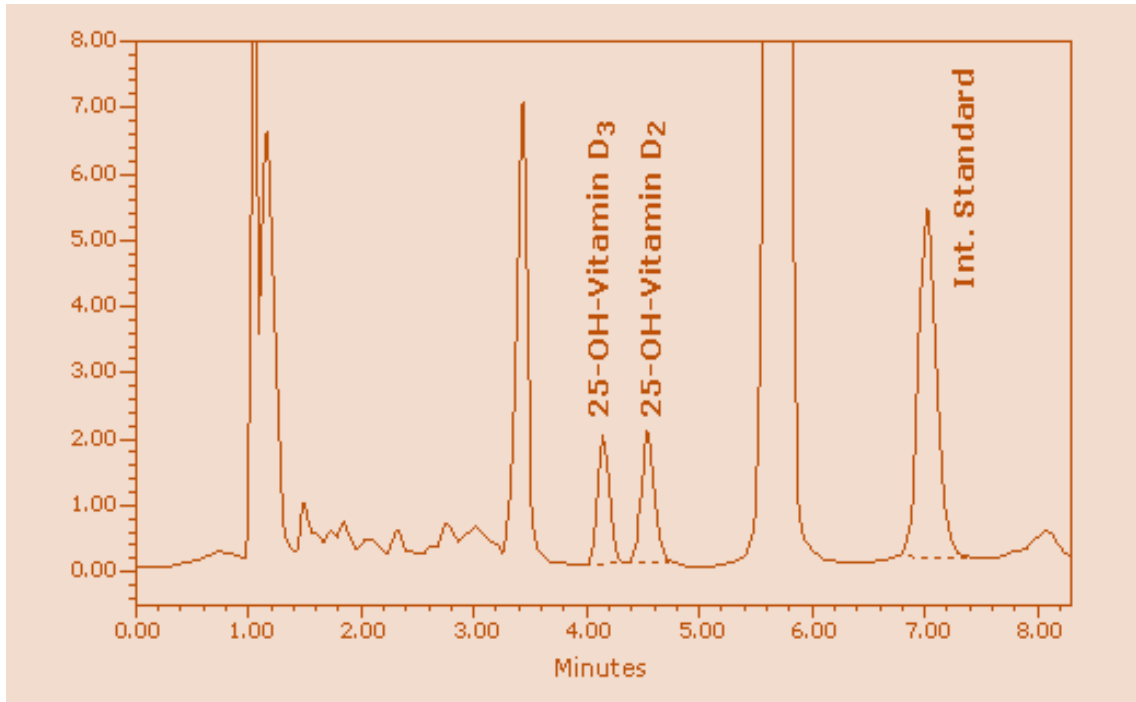
Analiz için örneklerin hazırlanması:

- Tüplere alınan taze kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrılmış (3000-3500 rpm’de 5-10 dakika) ve aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir. -80°C’deki serum örnekleri ise oda sıcaklığına getirildikten sonra aynı basamaklara tabi tutulmuştur.
- Serum örneklerinden 1.5ml’lik tüp içerisine 500µl alınarak, üzerine 50µl “iç standart (internal standart)” eklenmiştir.
- Ardından 500µl “çöktürme ajanı (presipitation reagent)” eklenerek 20 sn süresince vorteks ile karıştırılmış ve +4°C’de 10 dk. soğumaya bırakılmıştır.
- 13000 rpm’de 5 dk santrifüj edildikten sonra, süpernatant ekstraksiyon kolonuna alınmış ve SPE manifoldtan geçirilerek içerisindeki D vitamininin kolonda tutulması sağlanmıştır.
- Kolon içerisindeki örnek önce yıkama tamponu 1 ile 2 kere; sonra yıkama tamponu 2 ile 1 kere yıkanarak ve SPE manifoldtan geçirilerek kolonda tutulan D vitamininin safsızlıklardan arındırılması sağlanmış olur.
- D vitamininin kolondan elüsyonu için; ekstraksiyon kolonunun alt kısmına toplama yapılacak tüp (1.5 ml) yerleştirilmiş ve kolondan 200µl “elüsyon tamponu (elution buffer)” SPE manifold yardımıyla geçirilmiştir.
- Ardından D vitamininin toplandığı tüp üzerine 20µl distile su eklenerek seyreltme yapılmış ve analize hazır hale getirilmiştir.
- Bu işlemlerin sonucunda 25µl numune HPLC sistemine yüklenmiş ve aşağıda gösterilen Şekil 3-7’deki HPLC protokolü uygulanmıştır.

Akış hızı:	0.7 ml/dk
Kolon sıcaklığı:	Yaklaşık 25°C
Dalga boyu:	265 nm

Şekil 3-7: HPLC protokolü

HPLC analizi hassas bir analiz yöntemi olduğundan çalışmaya başlamadan önce günlük kalibrasyonlar ve sıcaklık gibi dış faktörlerden etkilendiğinden dolayı gün-içi ve günler-arası kalibrasyonlar yapılmış ve bi-level pozitif kontroller (0028 25-OH-Vitamin D3/D2 Bi-level control, ChromogenGrafelfing, Almanya) kullanılarak kalibrasyonlar teyid edilmiştir.



Şekil 3-8: HPLC yöntemiyle Vitamin D2/D3 ölçümüne ait elde edilecek kromatogram örneği. X ekseninde kolandan çıkacak olan D vitamininin tutulma zamanları görülmektedir. Her bir örnek aynı alıkonma zamanında iç standart pikine sahiptir. Her bir pik alanı analizi yapılan maddenin miktarıyla orantılıdır.

3.7. İstatistik

SPSS 21.0 Paket Programı ile elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Veriler, sürekli değişkenler için ortalama ve ortanca (median) standart sapma olarak, kategorik değişkenler için yüzde ve frekans ve şeklinde verildi. Genotip ve allelerin görülme sıklığının hasta ve kontrol arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması için Ki Kare (χ^2) testi ile Fisher's kesin olasılık (Fischer's exact) testi, biyokimyasal aktivite üzerindeki

etkilerinin belirlenmesinde ise Mann Whitney - U testi kullanıldı. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapıldı. Yapılan istatistiksel anlamlılık değeri $p<0.05$ olarak kabul edildi.



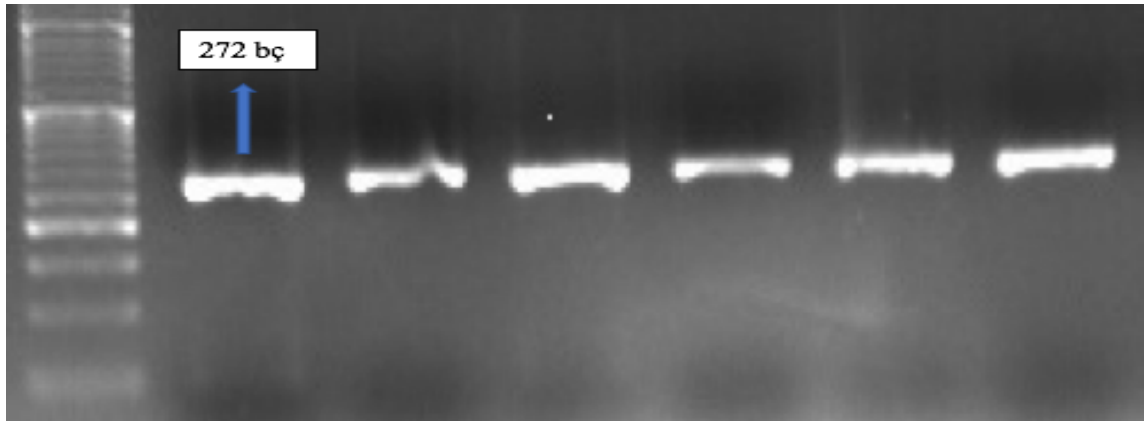
4. BULGULAR

Çalışmamıza iki grup dahil edilmiştir. Birinci grup olan hasta grubu, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniğinde mide kanseri tanısı konmuş 77 kişiden oluşmuştur. İkinci grup olan kontrol grubu ise, herhangi bir malignite bulgusu ve tercihen ailede kanser hikayesi olmayan 84 adet gönüllü sağlıklı bireylerden oluşmuştur. Gönüllülerin onayını almak için, araştırmaya özel ve anlaşılır ifadeler içeren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) okutularak imzalatılmıştır.

4.1. PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular

4.1.1. VDR geni FokI rs:2228570 PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular

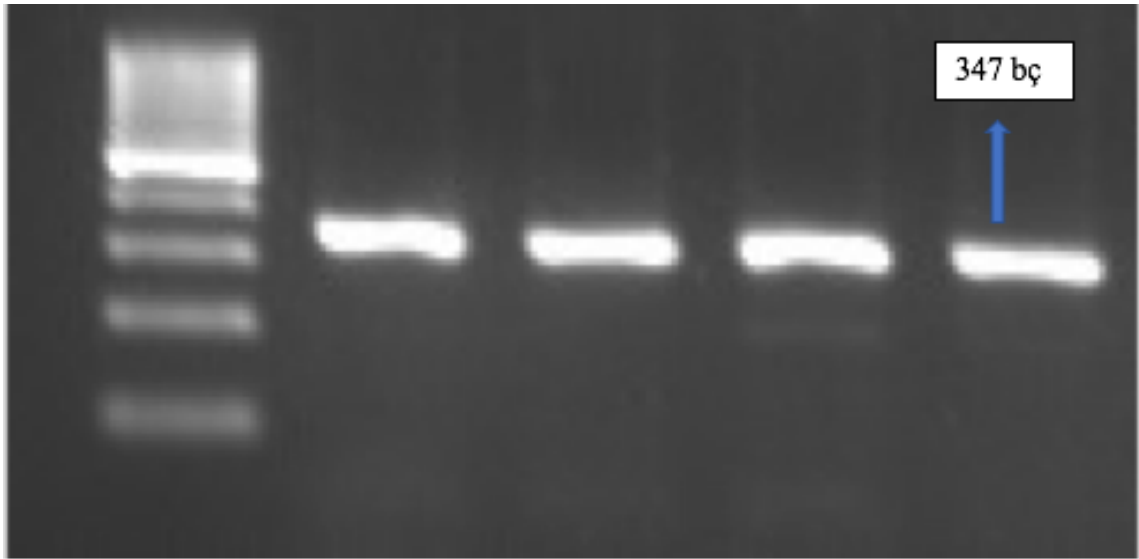
VDR gen bölgesinde bulunan rs: 2228570 polimorfizmine ilişkin PZR ürünleri kontrolü %2'lik agaroz jelde yürütülerek yapıldı. Çoğaltılan DNA'nın kontrolü için agaroz jele yüklenen PZR ürünleri 120 V'de yürütüldü. Oluşan DNA bantları UV ışıktaki incelendi ve 272 bp'lik PZR ürünleri Şekil 4-1'deki gibi görüntülendi.



Şekil 4-1: VDR geni FokI rs: 2228570 PZR ürünü agaroz jel görüntüsü. Şekilde jeldeki ilk kuyu 50 bp'lik belirteç (marker) olup, diğer 6 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir.

4.1.2. VDR geni rs: 731236 PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular

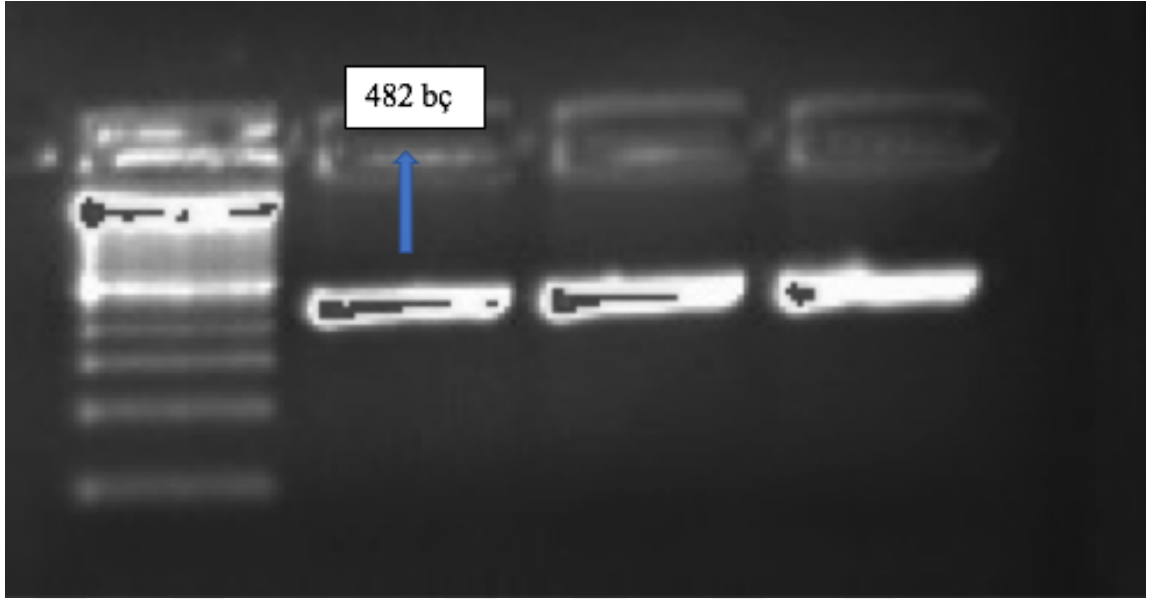
VDR gen bölgesinde bulunan rs: 731236 polimorfizmine ilişkin PZR ürünleri kontrolü %2'lik agaroz jelde yürütülerek yapıldı. Çoğaltılan DNA'nın kontrolü için agaroz jele yüklenen PZR ürünleri 120 V'de yürütüldü. Oluşan DNA bantları UV ışıktaki incelendi ve 347 bp'lik PZR ürünleri Şekil 4-2'deki gibi görüntülendi.



Şekil 4-2: VDR geni rs: 731236 PZR ürünü agaroz jel görüntüsü. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bp'lik belirteç (marker) olup, diğer 4 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir.

4.1.3. VDBP geni rs: 7041 PZR Ürünlerine İlişkin Bulgular

VDBP gen bölgesinde bulunan rs: 7041 polimorfizmine ilişkin PZR ürünleri kontrolü %2'lik agaroz jel yürütülerek yapıldı. Çoğaltılan DNA'nın kontrolü için agaroz jele yüklenen PZR ürünleri 120 V'de yürütüldü. Oluşan DNA bantları UV ışıktaki incelendi ve 482 bp'lik PZR ürünleri Şekil 4-3'deki gibi görüntülendi.

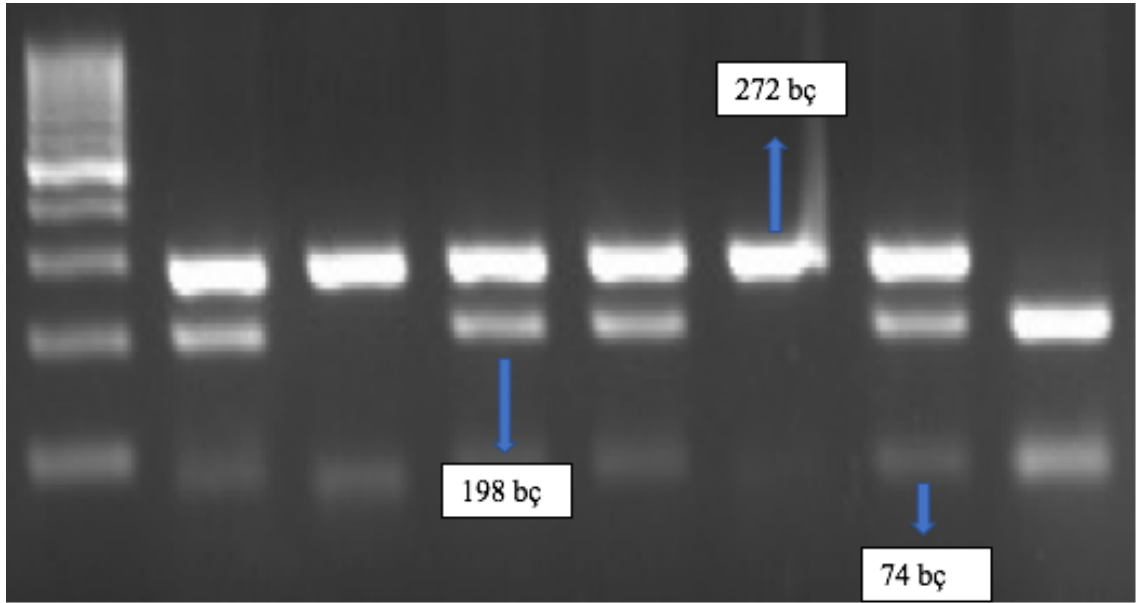


Şekil 4-3: VDBP geni rs: 7041 PZR ürünü agaroz jel görüntüsü. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 3 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir.

4.2. PZR-RFLP Yöntemine İlişkin Bulgular

4.2.1. VDR Geni FokI rs:2228570 Polimorfizm

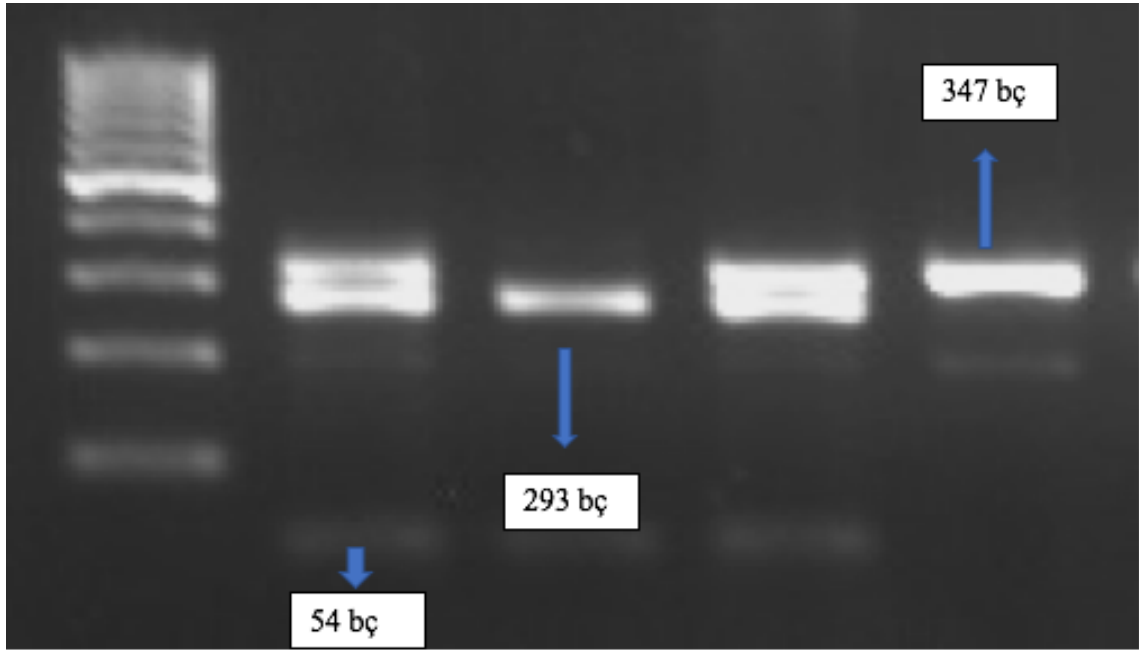
PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde görüntülendikten sonra FokI restriksiyon endonükleaz enzimiyle kesim işlemi yapıldı. Kesim işlemi sonrasında elde edilen gen varyasyonları %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. FokI enzimiyle yapılan kesim işlemi sonrası Ff heterozigot mutant genotip için 272,198 ve 74 bç'lik bantlar değerlendirilirken, ff homozigot mutant genotip için 198 ve 74 bç'lik bantlar veren örnekler gözlemlendi. FF homozigot normal genotipte ise 272 bç'lik büyüklüğünde tek bant izlenmiştir (Şekil 4-4).



Şekil 4-4: VDR geni FokI rs: 2228570 PZR-RFLP ürünleri. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 7 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir. 3. ve 6. kuyular FF, homozigot yabanıl genotipi (272 bç); 8. kuyu ff, homozigot mutant genotipi (198+74 bç); 2.,4.,5.,7. kuyular Ff, heterozigot mutant genotipi göstermektedir.

4.2.2. VDR Geni TaqI rs: 731236 Polimorfizm

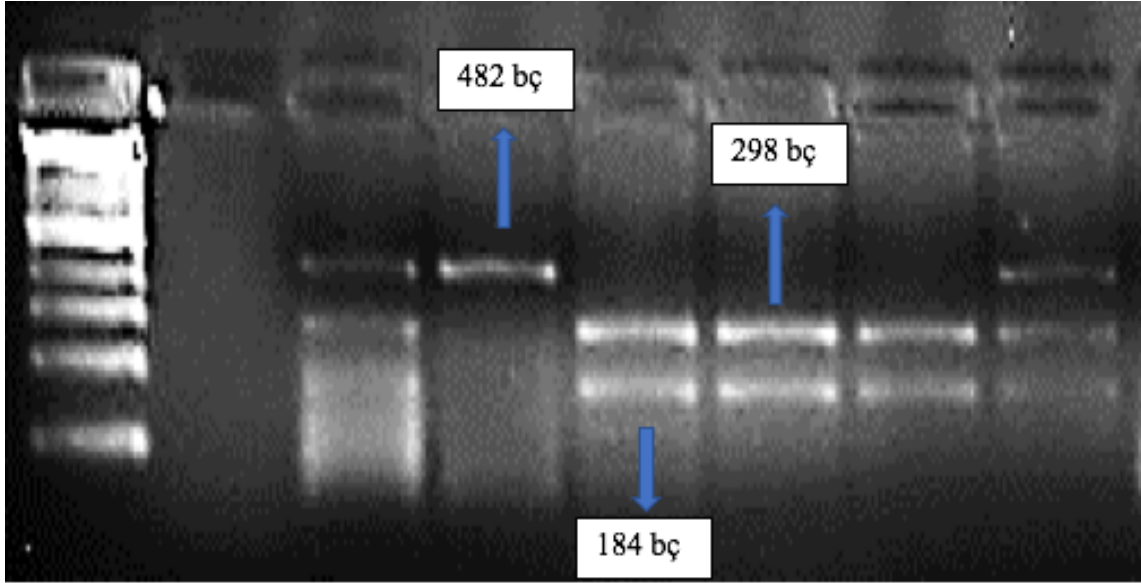
PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde görüntüledikten sonra TaqI restriksiyon endonükleaz enzimiyle kesim işlemi yapıldı. Kesim işlemi sonrasında elde edilen ürünler %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. TaqI enzimiyle yapılan kesim işlemi sonrası Tt heterozigot mutant genotip için 347, 293 ve 54 bç'lik bantlar gözlemlenirken, tt homozigot mutant genotipte 293 ve 54 bç'lik bantlar izlendi. TT homozigot normal genotipte 347 bç'lik büyüklüğünde tek bant görüldü (Şekil4-5).



Şekil 4-5: VDR geni TaqI rs:731236 PZR-RFLP ürünleri. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 4 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir. 5. kuyu TT, homozigot yabanıl genotipi (347 bç); 3. kuyu tt, homozigot mutant genotipi (293+54 bç); 2. ve 4. kuyular Tt, heterozigot mutant genotipi göstermektedir.

4.2.3. VDBP Geni rs: 7041 Polimorfizm

PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde görüntülendikten sonra HaeIII restriksiyon endonükleaz enzimiyle kesim işlemi yapıldı. Kesim işlemi sonrasında elde edilen ürünler %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. HaeIII enzimiyle yapılan kesim işlemi sonrası TG heterozigot mutant genotip için 482, 298 ve 184 bç'lik bantlar gözlemlenirken, GG homozigot mutant genotipte 298 ve 184 bç'lik bantlar izlendi. TT homozigot normal genotipte 482 bç'lik büyüklüğünde tek bant görüldü (Şekil 4-6).



Şekil 4-6: VDBP geni rs: 7041 PZR-RFLP ürünleri. Şekilde jeldeki ilk kuyu 100 bç'lik belirteç (marker) olup, diğer 7 kuyu çalışma gruplarından rastgele seçilen örnekleri temsil etmektedir. 4. Kuyu TT, homozigot yabanıl genotipi (482 bç); 5-7. kuyular GG, homozigot mutant genotipi (298+184 bç); 8. kuyu TG, heterozigot mutant genotipi göstermektedir.

4.3. İstatistiksel Analiz Sonrası Bulguları

Çalışmamız 77 mide kanseri hastası ve 84 sağlıklı kontrol grubundan oluşmaktadır. Hasta grubunda 32 (%41.6) kadın ve 45 (% 58.4) erkek, kontrol grubunda 46 (%54.8) kadın, 38 (% 45.2) erkek birey bulunmaktadır. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0.094$). Hasta ve kontrol grupları arasındaki yaş ortalamaları ise sırasıyla 56.7 ± 1.74 ve 51.42 ± 2.41 olarak bulunmuş olup ($p> 0.05$), çalışma grupları yaş ve cinsiyet dağılımları açısından dengelidir.

Mide kanseri ve kontrol grubundaki bireylerin demografik ve klinik verileri Tablo 4-1 ve Tablo 4-2'de yer almaktadır.

Tablo 4-1: Çalışma grubunun yaş ve cinsiyet verileri.

	Hasta n= 77 (%)	Kontrol n= 84 (%)	<i>p</i>
Yaş	56.7 ± 11.92	51.42 ± 11.06	<i>> 0.05</i>
Cinsiyet			
Erkek	45 (58.4)	38 (45.2)	<i>0.094</i>
Kadın	32 (41.6)	46 (54.8)	

N, kişi sayısı; *p*, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değeri. Tabloda X±SD olarak verilen değerlerin Gruplar arasındaki farklılık Mann Whitney - U testi ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma). Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

Tablo 4-2: Mide kanseri hastalarının klinik verileri.

Klinik veriler %	
Tümör Evresi	
I	2
II	14.3
III	42.9
IV	40.8
Lenf Nodu Metastaz	
N0	10.2
N1	28.8
N2	28.8
N3	12.2
Uzak Metastaz	
Var	30.6
Yok	69.4
Tümör Lokalizasyonu	
Kardiya	13.3
Artnum ve Korpus	66.7
Diğer	20
Nekroz	
Var	6.5
Yok	93.5
Perianal İnvazyon	
Var	17.4
Yok	82.6
Anjiolenfatik İnvazyon	
Var	6.5
Yok	93.5
Tümör Histolojisi	
Adenokarsinom	65
Taşı yüzük	35

Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

VDR geninde FokI rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 ve VDBP genine ait rs:7041 polimorfizmleri mide kanseri hastaları ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında,

genotip dağılımı ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Mide kanseri hastalarında ve control gruplarında VDR geninde rs: 2228570 ve TaqI rs: 731236 ve VDBP geni rs:7041 polimorfizmlerine ait genotip ve allel frekansı

	Genotip ve Alleller	Hasta n= 77 (%)	Kontrol n=84 (%)	<i>p</i>
VDR TaqI rs731286	TT	20 (26)	30 (35.7)	0.285
	Tt	38 (49.4)	40 (47.6)	
	tt	19 (24.7)	14 (16.7)	
	T allel	78 (50.6)	100 (59.5)	0.109
	t allel	76 (49.4)	68 (40.5)	
VDR FokI rs 2228570	FF	37 (48.1)	42 (50)	0.285
	Ff	35 (45.5)	31 (36.9)	
	ff	5 (6.5)	11 (13.1)	
	F allel	109 (70.8)	115 (68.5)	0.65
	f allel	45 (29.2)	53 (31.5)	
VDBP rs7041	TT	12 (15.6)	9 (10.7)	0.140
	TG	32 (41.6)	48 (57.1)	
	GG	33 (42.9)	27 (32.1)	
	T allel	56 (36.4)	66 (34.3)	0.589
	G allel	98 (63.6)	102 (60.7)	

p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değeri.

Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

VDR geninde FokI rs: 2228570 polimorfizmi mide kanseri hastalarında klinik veriler ile incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4:VDR geni FokI rs: 2228570 polimorfizmi genotipinin hastaların klinik verileri üzerinde dağılımı.

Klinik Parametreler/ Genotipler	FF (%)	Ff (%)	ff (%)	p
Cinsiyet				
Kadın	43.8	46.9	9.4	0.626
Erkek	51.1	44.4	4.4	
Tümör Evresi				
III/IV	58.5	39.0	2.4	0.302
I/II	37.5	50.0	12.5	
Lenf Nodu Tutulumu				
N+	56.8	38.6	4.5	0.619
N-	40.0	60.0	-	
Uzak Metastaz				
Var	46.7	53.3	-	0.369
Yok	58.8	35.3	5.9	
Nekroz				
Var	100	-	-	0.291
Yok	53.5	41.9	4.7	
Perianal İnvazyon				
Var	87.5	12.5	-	0.148
Yok	50.0	44.7	5.3	
Anjiolenfatik İnvazyon				
Var	100	-	-	0.291
Yok	53.5	41.9	4.7	

p , hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değeri.

Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

VDBP geni rs: 7041 polimorfizminin klinik parametrelerle ilişkisi Tablo 4-5’de gösterilmiştir. VDBP rs7041 T alleli, erkeklerde kadınlara oranla anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (%66.7→%43.8, OR: 1.524; %95 GA: 0.978- 2.375; p= 0.045).

Tablo 4-5: VDBP geni rs: 7041 polimorfizmi genotipinin hastaların klinik verileri üzerinde dağılımı.

Klinik Parametreler/ Genotipler	TT (%)	TG (%)	GG (%)	<i>p</i>
Cinsiyet				
Kadın	9.4	34.4	18 (56.2)	0.115
Erkek	20	46.7	15 (33.3)	
Tümör Evresi				
III/IV	17.1	43.9	16 (39)	0.394
I/II	-	62.5	3 (37.5)	
Lenf Nodu Tutulumu				
N+	15.9	43.2	40.9	0.273
N-	-	80.0	20.0	
Uzak Metastaz				
Var	13.3	46.7	40.0	0.989
Yok	14.7	47.1	38.2	
Nekroz				
Var	33.3	-	66.7	0.224
Yok	14.0	51.2	34.9	
Perianal İnvazyon				
Var	37.5	25.0	37.5	0.122
Yok	10.5	52.6	36.8	
Anjiolenfatik İnvazyon				
Var	33.3	-	66.7	0.224
Yok	14.0	51.2	34.9	

p, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değeri. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

Mide kanseri klinik verileri ile VDR TaqI rs: 731236 genotip ve allel dağılımları değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Bununla birlikte, ileri evre (tümör evresi III/IV) hastalarında TT, Tt ve tt genotip frekansları %17.1, %43.9, %39.0 iken erken evredeki hastalarda homozigot mutant genotipe rastlanmamış, TT ve Tt genotip frekansları eşit oranda bulunmuştur. Bununla birlikte, erken evreli TT genotipine sahip hastaların frekansının geç evredeki hastalara göre yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p = 0.063$) (Tablo 4-6)

Tablo 4-6: VDR rs: 731236 polimorfizmi genotipinin hastaların klinik verileri üzerinde dağılımı.

Klinik Parametreler/ Genotipler	TT (%)	Tt (%)	tt (%)	<i>p</i>
Cinsiyet				
Kadın	33.3	44.4	22.2	0.218
Erkek	15.6	56.2	28.1	
Tümör Evresi				
III/IV	17.1	43.9	39.0	0,063
I/II	50.0	50.0	-	
Lenf Nodu Tutulumu				
N+	18.2	47.7	34.1	0.103
N-	60.0	20.0	20.0	
Uzak Metastaz				
Var	20.0	53.3	26.7	0.127
Yok	23.5	41.2	35.3	
Nekroz				
Var	-	10.0	-	0.124
Yok	23.3	39.5	37.2	
Perianal İnvazyon				
Var	-	50.0	50.0	0.241
Yok	26.3	42.1	31.6	
Anjiolenfatik İnvazyon				
Var	-	100	-	0.124
Yok	23.3	39.5	37.2	

P, hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılık değeri. Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

Hasta ve kontrol grubuna ait ortalama 25(OH)D vitamin düzeyleri Tablo 4-7’de gösterilmiştir. Mide kanseri hasta gruplarının 25(OH)D vitamin düzeyleri serumda ortalama 14.94 ± 12.74 ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise yaklaşık olarak 14.08 ± 9.39 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Mide kanseri hastaları ve kontrol grupları arasında 25(OH)D vitamin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). Bununla birlikte, mide kanseri hastaları ve kontrol gruplarının 25(OH)D vitamin düzeylerini cinsiyet bakımından da karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlılık elde edilmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4-7: Hasta ve kontrol grubunda 25(OH)D serum düzeyleri.

	Hasta	Kontrol	<i>p</i>
Serumda 25(OH)D Düzeyi ng/ml	14.94 ± 12.74	14.08 ± 9.39	0.74

Mide kanseri hastalarında ve kontrol gruplarında VDR geni FokI rs: 7041 ve TaqI rs: 731236 ve VDBP geni rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımlarına göre serum D vitamini ortalamaları Tablo 4-8’de gösterilmiştir. Bulgularımız hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir ($p > 0.05$).

Tablo 4-8: VDR geninde rs: 2228570 ile rs: 731236 ve VDBP geninde rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımlarına göre serumda 25(OH)D düzeyleri.

	Hasta Grubu Ortalaması ve Standart Hata	Kontrol Grubu Ortalaması ve Standart Hata
Genotipler	(%)	(%)
VDR rs: 2228570		
FF	16.58 ± 15.7	14.57 ± 11.66
Ff	13.86 ± 9.87	14.51 ± 7.4
ff	11.21 ± 7.8	11.66 ± 6.91
VDR rs: 731236		
TT	8.58 ± 2.89	11.79 ± 6.11
Tt	15.03 ± 14.10	14.27 ± 11.59
tt	18.83 ± 10.51	15.95 ± 5.58
VDBP rs: 7041		
TT	16.30 ± 9.58	15.09 ± 8.91
TG	10.98 ± 6.10	13.53 ± 11.06
GG	17.56 ± 16.96	14.76 ± 6.74

Tabloda X±SD olarak verilen değerlerin Gruplar arasındaki farklılık Mann – Whitnet U testi ile incelenmiştir (X: Ortalama, SD: Standart sapma).

Holick ve ark. (2009) yapmış olduğu çalışmada D vitamini düzeylerinde < 20 ng/mL eksiklik, 21-29 ng/mL yetersizlik, > 30 ng/mL yeterlilik olarak kabul edilmektedir (85). Ülkemizde serumda ölçülen 25(OH)D düzeyinin 30 ng/ml altında olması D vitamini açısından eksiklik olarak kabul edilmektedir.

Tablo 4-9:D vitamini serum düzeyi durumu.

D vitamini Düzey Durumu	25(OH)D
(Yeterlilik)	≥ 30 ng/mL
(Yetersizlik)	(30-20] ng/mL
(Eksiklik)	(20-10] ng/mL
(Ciddi Eksiklik)	<10 ng/mL

Çalışmamızda D vitamini düzeyleri Tablo 4-9'daki gibi kategorize edildikten sonra mide kanseri hastaları ve kontrol gruplarında analiz edilmiş ve mide kanseri hastaları ile kontrol gruplarında D vitamini eksikliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4-10). Çalışma gruplarında D vitamini düzeyleri ortaması < 20 ng/mL olduğundan tabloda ciddi eksiklik durumunu gösteren 10 ng/mL değerine göre karşılaştırma yapılmıştır. Bununla beraber, mide kanseri hastalarında ve kontrol gruplarında VDR geni FokI rs: 7041 ve TaqI rs: 731236 ve VDBP geni rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımları da Tablo 4-9'a göre sınıflandırılarak incelendiğinde de istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ($p > 0.05$) (Tablo 4-11).

Tablo 4-10: Hasta ve kotnrol grubunda D vitamini eksikliği görülme oranları.

D vitamini Düzeyi Durumu	<10 ng/ml (%)	>10 ng/ml (%)
Hasta	40.6	35.3
Kontrol	59.4	64.7
Kadın	60.0	33.3
Erkek	40.0	66.7

Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

Tablo 4-11: VDR geninde rs: 2228570 ile rs: 731236 ve VDBP geninde rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımlarına göre serumda D vitamini eksikliği oranları.

Genotipler / Serum D Vitamini Durumu	<10 ng/ml (%)	>10 ng/ml (%)
	(%)	(%)
VDR rs: 2228570		
FF	46.7	50.0
Ff	40.0	44.4
ff	13.3	5.6
VDR rs: 731236		
TT	20.0	5.6
Tt	66.7	72.2
tt	13.3	22.2
VDBP rs: 7041		
TT	13.3	22.2
TG	46.7	27.8
GG	40.0	50.0

Tablodaki % ve örnek sayısı olarak verilen değerlere ait gruplar arasındaki farklılık ki-kare (χ^2) ve ileri ki-kare (χ^2) testleri ile incelenmiştir.

5. TARTIŞMA

Kanser dünya üzerinde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (12) ve mide kanseri en yaygın dördüncü kanser türü olup ikinci sırada mortalite oranına sahiptir (1). Mide kanseri risk faktörlerinde ilk akla gelen *H. pylori* enfeksiyonu olsa da beslenme ve diyet gibi yaşam tarzı faktörlerinin etkileri de oldukça büyüktür. Beslenme faktörleri arasında D vitamini durumu son yıllarda büyük ilgi görmüştür. (39).

Literatürde, mide kanseri ile D vitamini düzeyi ve D vitamini yolağındaki kritik polimorfizmlerin arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalar oldukça azdır ve yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir (129). Türk popülasyonunda mide kanserlerinde D vitamini düzeyi ile VDR ve VDBP genlerindeki polimorfizmler arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalara da rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışmada, Türk popülasyonunda D vitamini düzeyi ile VDR geni FokI rs:2228570, TaqI rs:731236 polimorfizmleri ve VDBP geni rs:7041 polimorfizm dağılımı tespit edilerek, elde edilen bulgular klinik parametrelerle karşılaştırılmış ve hastalık riski üzerine etkisi incelenmiştir.

La Vecchia ve ark. (1994) yapmış olduğu çalışmada beslenme alışkanlıkları dikkate alınarak seçilen bazı mikrobeyinler, mide kanseri riski açısından araştırılmış ve D vitamini alımı ile mide kanseri arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur (OR: 1.35; %95 GA: 1.00-1.83) (133). Chen ve ark. (2007) yapmış olduğu çalışmada, araştırmacılar mide kanseri hasta grubunu kardiya ve kardiya olmayanlar olarak iki gruba ayırmış, hem kardiya (OR:1.11; %95 GA: 0.80-1.55; $p= 0.49$) hem de kardiya olmayan (OR:1.10; %95 GA: 0.60-2.01; $p= 0.39$) hasta gruplarında serum 25(OH)D konsantrasyonunun mide kanseri ile ilişkisinin olmadığını rapor etmişlerdir (134). Khayatadeh ve ark. (2015) yapmış olduğu bir meta-analizde serum D vitamini düzeyleri ile mide kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran üç makale incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir ilişki tespit edilmiştir ($p= 0.42$) (129). Vyas ve ark. (2016) 49 mide kanseri ve 49 kontrol grubuyla yapmış olduğu çalışmada, serumda D vitamini eksikliğinin prevelansı, mide kanseri hastalarında (%83) kontrol grubuna (%63.27) göre önemli derecede yüksek bulunmuştur (135).

Çalışmamızda mide kanseri hastalarında ortalama D vitamini düzeyi 14.94 $\pm$ 12.74 ng/ml iken sağlıklı bireylerde ortalama 14.08 $\pm$ 9.39 ng/ml olarak tespit

edilmiştir. Mide kanseri hastaları ve kontrol grupları arasında 25(OH)D vitamin düzeyleri açısından karşılaştırıldığında literatürle uyumlu olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).

Ren ve ark. (2012) yapmış olduğu araştırmada mide kanseri hastalarında serumda D vitamini düzeyi incelendiğinde %8.1'inde yeterli düzede olduğu; %57.9'unda eksik olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada 197 mide kanseri hastasında ortalama D vitamini düzeyi $49,85 \pm 23.68$ nmol/L olarak bulunmuştur (en düşük 7,26 en yüksek 260.47 nmol/L) (4). Ögüş ve ark. (2015) Türk popülasyonunda 4168 hasta (hasta örneklerinin geldiği bölümler; endokrinoloji, iç hastalıkları, fiziksel tıp ve rehabilitasyon, çocuk sağlığı hastalıkları ve diğer bölümlerden oluşmaktadır) ile yapmış olduğu çalışmaya baktığımızda serum D vitamin düzeyleri değerlendirilmiş, ortalama D vitamini düzeyleri 22.80 ± 13.27 ng/ml (kadınlarda 22.49 ± 13.88 , erkeklerde 23.73 ± 10.57 ng/ml) olarak rapor edilmiştir ve hasta grubunun %47'sinde (kadın %50'si erkeklerin %38'inde) D vitamini yetersizliği (< 20 ng/ml) tespit edilmiştir (136).

Serumda ölçülen 25(OH)D düzeyinin 30 ng/ml altında olması D vitamini açısından eksiklik olarak kabul edilmektedir. Mevsimsel farklılıklar, diyet alışkanlıkları, güneş ışığına maruziyet gibi nedenlerin D vitamini serum düzeylerini etkilediği bilinmektedir. Hasta grubunun %40.6'sında kontrol grubunun %59.4'ünde D vitamini seviyesinin eksik olduğu tespit edilmiş olup, kadınların %60'ında erkeklerin %40'ında D vitamini eksikliği görülmüştür ($p > 0.05$). Bununla beraber, elde edilen sonuçlarımız her iki çalışma grubunda D vitamini düzeyinin 20-10 ng/mL aralığında olduğunu; kontrol grubu verileri ise bulgularımızın Türk toplumundaki düşük D vitamini seviyeleriyle uyumluluğunu göstermektedir.

D vitamini sadece bir vitamin olmayıp aynı zamanda steroid hormon sınıfında yer alan bir molekül olduğundan hücre içindeki genomik ve genomik olmayan etkileri birçok kanser türünde ve kronik hastalıklarda araştırılmaktadır. D vitamini hormon etkisini VDR aracılığı ile gerçekleştirmektedir. Genomik olarak hücre içine giren 1α -25(OH)D, VDR ve retinoik asit X reseptörüne (RXR) bağlanarak kompleks bir yapı oluşturur. Bu kompleks yapı DNA üzerinde D vitamini cevap elemanlarına bağlanabilir ve transkripsiyon faktörleri üzerinden hücrede; apoptozu, proliferasyonu, diferansiyonu, oksidatif stresi, DNA onarımını ve hücre metabolizmasını düzenlemektedir. Genomik olmayan etkisi ile direkt membrandaki VDR'ye bağlanarak ikincil habercilerin

sinyalizasyonunu üzerinde rol oynar. VDR proteini, VDR geni tarafından kodlanmaktadır. VDR geninde birçok polimorfizm saptanmış olup bunların en yaygın bilinenleri FokI, BsmI, TaqI ve ApaI restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kesim yaptığı polimorfizmlerdir (87, 88, 90, 96, 102, 103, 106, 111).

Cong ve ark. (2015) yapmış olduğu araştırmada FokI polimorfizmi araştırılmış ve f alleli taşıyan (ff+Ff genotipi) mide kanseri hastalarında bu allelin kontrol grubuna göre yüksekliği tespit edilerek (%77.5 ve %67.9 $p < 0.005$), f alleli taşımanın mide kanseri yatkinlığında 2.73 kat risk oluşturacağı önerilmiştir. Bununla birlikte, hasta ve kontrol grubunda FokI polimorfizmini frekans dağılımı yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı açısından karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde etmemişlerdir. Aynı çalışmada serum D vitamini ve kalsiyum düzeyleri, f alleli taşıyan ve taşımayan mide kanseri hastalarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı rapor edilmiştir (137). Li ve ark. (2007) prostat kanseri hastalarında yapmış oldukları çalışmada, D vitamininin anti-kanserojen bir etkisi olduğunu bildirmişler ve D vitamini eksikliği olan hastalarda prostat kanserine yakalanma riskinin yüksek olduğunu, ayrıca D vitamini eksikliği ile beraber FokI polimorfizmi olan bireylerde bu riskin daha da arttığını rapor etmişlerdir (138). Mittal ve ark. (2007) mesane kanseri hastaları ile yapmış oldukları çalışmada, FF genotipli bireylerde mesane kanserine yakalanma riskinin 2 kat arttığı bulunmuştur (OR: 2.042; %95 GA: 0.803-5.193) (139). Türk popülasyonunda yapılan çalışmalara baktığımızda, Yavuz ve ark. (2011) Tip 1 diyabetli hastalarla yaptıkları çalışmalarda FF, Ff ve ff genotip frekanslarının hasta grubunda sırasıyla %52, %39.3 ve %8.5 ve kontrol grubunda sırasıyla %44.8, %47 ve %8.2 olarak bilirmişlerdir (140). Toptaş ve ark. (2013) yayınladıkları raporda, FokI polimorfizmi ff genotipinin meningiom hastalarında (%15.9) kontrol grubuna (%2.5) göre önemli derecede artmış olduğunu ve ff genotipi taşımanın meningiom riskini arttırabileceğini tespit etmişler (OR: 6.470; %95 GA: 1.749-23.926). Aynı çalışmada TaqI polimorfizminin meningiom ve glioma ile ilişkisinin bulunmadığını bildirmişlerdir ($p > 0.05$) (141). Kamisli ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada 167 multipl sekleroz (MS) ve 146 sağlıklı bireyde FokI polimorfizmini incelemiş ve MS hastaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit etmişlerdir ($p = 0.02$) (142). Çalışmamızda VDR geninde FokI rs: 2228570 polimorfizmin FF, Ff, ff genotip frekansları mide kanseri hastalarında sırasıyla %48.1, %45.5 ve %6.5 ve kontrol grubunda %50 %36.9 ve %13.1 olarak tespit

edilmiştir ve genotip dağılımı ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0.05$). Bununla beraber FokI rs: 2228570 polimorfizmi mide kanseri hastalarında klinik ile incelendiğinde de istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Taylor ve ark. (1996) prostat kanserlerinde yapmış olduğu bir çalışmada, TaqI polimorfizmi tt genotipinin prostat kanserine yakalanma riskini arttırdığını, aynı zamanda da tt genotipinin yüksek serum 1α -25(OH) $_2$ D $_3$ düzeyleri ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (143). Çalışmamızda Mide kanseri hastalarında ve kontrol gruplarında VDR geni FokI rs: 7041 ve TaqI rs: 731236 ve VDBP geni rs: 7041 polimorfizmlerin genotip dağılımına göre serumdaki 25(OH)D vitamin düzeyleri karşılaştırıldığına istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi ($p > 0.05$)

Serrano ve ark. (2016) yapmış olduğu bir meta-analizde TaqI polimorfizmine sahip bireylerde kolorektal kanser riskinin %43 arttığını rapor etmişlerdir (144). Çalışmamızda VDR geninde TaqI rs: 731236 ve polimorfizmi mide kanseri hastaları ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında genotip dağılımı ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Türk popülasyonunda yapılan başka çalışmada, Dilmeç ve ark. (2009) çalışmamızla paralel olarak, 56 kolorektal kanserli ve 196 kontrol grubuyla yapmış oldukları araştırmada TaqI polimorfizmi ve kolorektal kanserine yatkınlık riski açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı belirtilmiştir (145). Çalışmamızda, erken evreli TT genotipine sahip hastaların frekansının geç evredeki hastalara göre yüksek olduğu tespit edilmiş olup ($p = 0.063$), TT genotipinin mide kanseri prognozuyla ilişkili olabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca, tt genotipine sahip erken evreli hastaların çalışma grubunda rastlanamaması ve geç evreli t alleleline sahip hastalarda TT genotipine göre yüksek frekansın olması ($p > 0,05$), örneklem grubunun artırılarak TaqI polimorfizminin incelenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

D vitamini yolağında yer alan önemli proteinlerden biride VDBP'dir. D vitamini ve metabolitleri plazmada büyük oranda VDBP'ye bağlanarak taşınırlar, böylece, VDBP hücre ve dokuda D vitamini düzeyini de düzenler (117). VDBP geninde 120'den fazla polimorfizm varyantı tesbit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, bu polimorfizmlerin serumdaki VDBP düzeyini etkileyebileceğini ve işlevini değiştirebileceğini göstermiştir. VDBP geninde en sık görülen ve çalışılan polimorfizmler 416. kodonda rs:

7041 ve 420. kodonda rs: 4588 polimorfizmleridir. Yapmış olduğumuz literatür taramasında mide kanseri ve rs: 7041 polimorfizmi ile ilgili yayınlanmış sadece bir makale bulabildiğimizden, çalışmamızda rs: 7041 polimorfizminin mide kanseri üzerindeki etkilerini araştırdık. Zhou ve ark. (2012) yapmış olduğu çalışmada gastrointestinal kanserlerde VDBP genindeki polimorfizmleri incelemiş, rs: 7041 polimorfizmi TT, TG ve GG frekanslarının mide kanseri grubunda sırasıyla %51.04, %44.79 ve %4.16 ve kontrol grubunda ise %48.5, %43.62 ve %7.84 olarak bulunduğunu ve elde ettikleri bu sonucun mide kanseri ile VDBP rs :7041 polimorfizmi arasında bir ilişki göstermediğini rapor etmişlerdir (121). Bununla birlikte, çeşitli kanser türlerinde de rs: 7041 polimorfizmi incelenmiştir. Maneechay ve ark. (2015) farklı kanser türleriyle yapmış olduğu çalışmada rs: 7041 polimorfizmi incelenmiş, 113 hasta grubunun 61'inde TG genotipinin bulunduğu ve TG genotipinin akciğer kanseri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir ($p=0.37$). Aynı çalışmada VDBP geninde rs: 7041 ve rs: 4855 polimorfizmleri birlikte incelendiğinde, 1F-2 (TT-CA) genotipinin akciğer kanseri riskine karşı koruyucu bir etkisi olduğu ($p= 0.014$), fakat meme ve kolorektal kanserleriyle herhangi bir ilişkisinin olmadığı tespit edilmiştir (146). Ülkemizde ise Baykara ve ark. (2017) 77 akciğer kanseri hastası ve 22 sağlıklı kontrol grubuyla yapmış oldukları çalışmamıza benzer bir araştırmada, rs: 7041 polimorfizmine ait genotip dağılımını akciğer kanseri hastaları ile kontrol grubu arasında incelemiş ve bu polimorfizmin akciğer kanseri ile ilişkili olmadığını saptamışlar ($p= 0.35$), aynı zamanda allellerden herhangi birinin akciğer kanseri riskinde yatkınlığa ya da koruyucu etkiye sahip olmadığını rapor etmişlerdir (147).

Çalışmamızda VDBP genine ait rs:7041 polimorfizminin mide kanseri ile ilişkisi tespit edilmemiştir. VDBP rs7041 T alleli mide kanseri hastalarında klinik ve patolojik parametreler ile karşılaştırıldığından, erkeklerde kadınlara oranla anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p= 0.045$). Literatürde mide kanseri insidansının erkeklerde yüksek olduğu yapılan birçok çalışma ile bildirilmiştir. Literatürle uyumlu olacak şekilde, çalışmamızda erkek cinsiyetinde olmanın ve ayrıca VDBP T alleleline sahip olmanın mide kanserine yakalanma riskini yaklaşık 1.5 kat arttırdığı tespit edilmiştir.

Serumda D vitamini düzeyini değiştiren bir çok etmen olmasına rağmen (deri pigmentasyonu, giyim tarzı, beslenme alışkanlığı ve güneş koruyucu kullanımı gibi) D vitamini eksikliğindeki temel etkenlerden biri de güneş ışığından yeterince

faydalanamamaktır (148). Ülkemizde D vitamini düzeyindeki eksikliğin fazla olmasının nedenleri olarak; farklı giyim alışkanlıkları, güneş koruyucu kullanımının kadınlar arasında yaygınlaşması ve hazır gıda tüketiminin artmış olması düşünülebilir. Kapalı giyim ve kış aylarında UVB ışınlarının cilde ulaşmasını engellemesi nedeniyle D vitaminin sentezini azaltabilir. Yapılan çalışmalarda güneş koruyucuların (SPF 15) ciltte D vitamini sentezini %99 oranında azalttığı görülmüştür (149).

D vitamini ve mide kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda, D vitaminin hücre içerisinde apoptozu uyarma, hücre döngüsünü durdurma ve hücre büyümesini baskılamak gibi birçok biyolojik süreç ile etkileşim içinde olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak,

Bulgularımız, serum 25(OH)D düzeyi ile VDR ve VDBP polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, TaqI polimorfizminin hastalık prognozunda etkisinin olabileceği, VDBP rs: 7041 T alleleline sahip olma ve erkek cinsiyetinin mide kanseri riskini arttırabileceği tespit edilmiş olup, elde edilen sonuçların Türk toplumunda mide kanseri açısından değerlendirildiğinde ilk verileri teşkil etmesi açısından literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Bununla birlikte, mide kanseri ve D vitamini arasındaki ilişkinin daha net anlaşılması için D vitamini seviyeleri ile VDR rs: 2228570, rs: 731236 ve VDBP rs: 7041 polimorfizmlerinin daha büyük gruplarda ve daha geniş klinik veriler ile geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Du C, Yang S, Zhao X, Dong H. Pathogenic roles of alterations in vitamin D and vitamin D receptor in gastric tumorigenesis. *Oncotarget*. 2017;8(17):29474.
2. Group IHpW. *Helicobacter pylori* Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC Working Group Reports, No. 8). 2014.
3. Guggenheim DE, Shah MA. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Surg Oncol*. 2013;107(3):230-6.
4. Ren C, Qiu MZ, Wang DS, Luo HY, Zhang DS, Wang ZQ, et al. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in gastric cancer. *J Transl Med*. 2012;10:16.
5. Bouillon R, Suda T. Vitamin D: calcium and bone homeostasis during evolution. *BoneKEy reports*. 2014;3.
6. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *International journal of epidemiology*. 2005;35(2):217-20.
7. Bao A, Li Y, Tong Y, Zheng H, Wu W, Wei C. Tumor-suppressive effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ in gastric cancer cells. *Hepato-gastroenterology*. 2013;60(124):943-8.
8. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, et al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1998;13(3):325-49.
9. Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochemical Journal*. 2012;441(1):61-76.
10. Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature reviews cancer*. 2014;14(5):342.
11. Tagliabue E, Raimondi S, Gandini S. Meta-analysis of vitamin D-binding protein and cancer risk. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2015.
12. Knudson AG. Cancer genetics. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2002;111(1):96-102.
13. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(1):7-30.

14. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nature medicine*. 2004;10(8):789.
15. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144(5):646-74.
16. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *cell*. 2000;100(1):57-70.
17. Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD. Genomic instability—an evolving hallmark of cancer. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2010;11(3):220.
18. Momparler RL. Cancer epigenetics. *Oncogene*. 2003;22(42):6479.
19. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*. 2004;429(6990):457.
20. Berger SL. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*. 2007;447(7143):407.
21. Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. *Epidemiologic reviews*. 1986;8(1):1-27.
22. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh J-WW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European journal of cancer*. 2013;49(6):1374-403.
23. Stock M, Otto F. Gene deregulation in gastric cancer. *Gene*. 2005;360(1):1-19.
24. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2016;66(1):7-30.
25. Devesa SS, Fraumeni Jr JF. The rising incidence of gastric cardia cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(9):747-9.
26. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global cancer incidence and mortality rates and trends—an update. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2016;25(1):16-27.
27. İrfan Ş. EH, Murat G., Güledal B., Selin D. TÜRKİYE KANSER İSTATİSTİKLERİ. 2014.
28. Kaneko S, Yoshimura T. Time trend analysis of gastric cancer incidence in Japan by histological types, 1975-1989. *British journal of cancer*. 2001;84(3):400.
29. Bertuccio P, Chatenoud L, Levi F, Praud D, Ferlay J, Negri E, et al. Recent patterns in gastric cancer: a global overview. *International journal of cancer*. 2009;125(3):666-73.

30. Muñoz N, editor *Cáncer gástrico y Helicobacter pylori: evidencia epidemiológica y perspectivas para la prevención*. Anales del Sistema Sanitario de Navarra; 1998.
31. Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric cancer*. 2007;10(2):75-83.
32. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The lancet*. 1983;321(8336):1273-5.
33. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. *The Lancet*. 2016;388(10060):2654-64.
34. Venkateshwari A, Krishnaveni D, Venugopal S, Shashikumar P, Vidyasagar A, Jyothy A. Helicobacter pylori infection in relation to gastric cancer progression. *Indian Journal of cancer*. 2011;48(1):94.
35. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clinical microbiology reviews*. 2006;19(3):449-90.
36. Krstić M, Katić V. Histological, mucinohistochemical and immunohistochemical features of gastric signet ring cell carcinoma. *Vojnosanitetski preglod*. 2008;65(11):835-8.
37. Stoicov C, Saffari R, Cai X, Hasyagar C, Houghton J. Molecular biology of gastric cancer: Helicobacter infection and gastric adenocarcinoma: bacterial and host factors responsible for altered growth signaling. *Gene*. 2004;341:1-17.
38. Naumann M, Crabtree JE. Helicobacter pylori-induced epithelial cell signalling in gastric carcinogenesis. *Trends in microbiology*. 2004;12(1):29-36.
39. Guggenheim DE, Shah MA. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *Journal of surgical oncology*. 2013;107(3):230-6.
40. Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, Offerhaus GJA, Maciejewski R, Polkowski WP. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer management and research*. 2018;10:239.
41. Gatta G, de Braud F, Van Cutsem E. Vincenzo Catalano, Roberto Labianca b, Giordano D. Beretta b. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2005;54:209-41.
42. Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. The role of tobacco, snuff and alcohol use in the aetiology of cancer of the oesophagus and gastric cardia. *International journal of cancer*. 2000;85(3):340-6.

43. Tramacere I, Negri E, Pelucchi C, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, et al. A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk. *Annals of oncology*. 2011;23(1):28-36.
44. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *Journal of clinical epidemiology*. 2003;56(1):1-9.
45. Mocellin S, Verdi D, Pooley KA, Nitti D. Genetic variation and gastric cancer risk: a field synopsis and meta-analysis. *Gut*. 2015;64(8):1209-19.
46. Subramaniam MM, Chan JY, Yeoh KG, Quek T, Ito K, Salto-Tellez M. Molecular pathology of RUNX3 in human carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2009;1796(2):315-31.
47. Sipponen P. Gastric cancer: pathogenesis, risks, and prevention. *Journal of gastroenterology*. 2002;37(13):39-44.
48. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. *The Lancet Oncology*. 2015;16(2):e60-e70.
49. Humar B, Graziano F, Cascinu S, Catalano V, Ruzzo AM, Magnani M, et al. Association of CDH1 haplotypes with susceptibility to sporadic diffuse gastric cancer. *Oncogene*. 2002;21(53):8192.
50. Fleisher AS, Esteller M, Wang S, Tamura G, Suzuki H, Yin J, et al. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in human gastric cancers with microsatellite instability. *Cancer research*. 1999;59(5):1090-5.
51. Aarnio M, Salovaara R, Aaltonen LA, Mecklin JP, Järvinen HJ. Features of gastric cancer in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome. *International journal of cancer*. 1997;74(5):551-5.
52. Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell*. 1991;66(3):589-600.
53. Wiseman M. The Second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Expert Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective: Nutrition Society and BAPEN Medical Symposium on 'Nutrition support in cancer therapy'. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2008;67(3):253-6.
54. Cancer IAfRo. IARC handbooks of cancer prevention: IARC; 2005.

55. Krejs GJ. Gastric cancer: epidemiology and risk factors. *Digestive diseases*. 2010;28(4-5):600-3.
56. Poulsen A, Christensen S, McLaughlin J, Thomsen RW, Sørensen HT, Olsen J, et al. Proton pump inhibitors and risk of gastric cancer: a population-based cohort study. *British journal of cancer*. 2009;100(9):1503.
57. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS, King A, Koh TJ, Wang TC. High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances *Helicobacter pylori* colonization in C57BL/6 mice. *Cancer research*. 1999;59(19):4823-8.
58. Hsing AW, Hansson LE, McLaughlin JK, Nyren O, Blot WJ, Ekblom A, et al. Pernicious anemia and subsequent cancer. A population-based cohort study. *Cancer*. 1993;71(3):745-50.
59. Otsuji E, Yamaguchi T, Sawai K, Takahashi T. Characterization of signet ring cell carcinoma of the stomach. *Journal of surgical oncology*. 1998;67(4):216-20.
60. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*. 1965;64(1):31-49.
61. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system: World Health Organization; 2010.
62. Carneiro F. Classification of gastric carcinomas. *Current Diagnostic Pathology*. 1997;4(1):51-9.
63. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book: elsevier health sciences; 2014.
64. Hellman S, Rosenberg SA, DeVita VT. Cancer: principles & practice of oncology: Lippincott-Raven; 1997.
65. Burnand B, Sloutskis D, Gianoli F, Cornuz J, Rickenbach M, Paccaud F, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D: distribution and determinants in the Swiss population. *The American journal of clinical nutrition*. 1992;56(3):537-42.
66. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;80(6):1689S-96S.
67. Souberbielle J-C, Maruani G, Courbebaisse M. Metabolism and main effects of vitamin D. *Presse medicale (Paris, France: 1983)*. 2013;42(10):1343-50.

68. RHOTEN WB, BRUNS ME, CHRISTAKOS S. Presence and localization of two vitamin D-dependent calcium binding proteins in kidneys of higher vertebrates. *Endocrinology*. 1985;117(2):674-83.
69. Javorsky BR, Maybee N, Padia SH, Dalkin AC, Maybee B. Vitamin D deficiency in gastrointestinal disease. *Pract Gastroenterol*. 2006;36:52-72.
70. Peterlik M, Boonen S, Cross HS, Lamberg-Allardt C. Vitamin D and calcium insufficiency-related chronic diseases: an emerging world-wide public health problem. *International journal of environmental research and public health*. 2009;6(10):2585-607.
71. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(8):2062-72.
72. Greenbaum L. Hypervitaminosis D. In= Kliegman RM, Stanton BF, Geme JW, Schor NF, Behrman RE (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011.
73. Bartoszewicz Z, Kondracka A, Jaźwiec R, Popow M, Dadlez M, Bednarczyk T. Can we accurately measure the concentration of clinically relevant vitamin D metabolites in the circulation? The problems and their consequences. *Endokrynologia Polska*. 2013;64(3):238-45.
74. Holick MF. Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*. 2007;357(3):266-81.
75. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends in biochemical sciences*. 2004;29(12):664-73.
76. Okano T. The role of the liver in vitamin D metabolism. *Clinical calcium*. 2015;25(11):1613-8.
77. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2011;25(4):531-41.
78. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological reviews*. 2015;96(1):365-408.
79. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature reviews cancer*. 2007;7(9):684.
80. Brenza HL, DeLuca HF. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene expression by parathyroid hormone and 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2000;381(1):143-52.

81. Kaseda R, Hosojima M, Sato H, Saito A. Role of megalin and cubilin in the metabolism of vitamin D3. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2011;15(s1):14-7.
82. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: metabolism. *Rheumatic Disease Clinics*. 2012;38(1):1-11.
83. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(7):1911-30.
84. Adams J, Hollis B. Vitamin D: synthesis, metabolism, and clinical measurement. Disorders of bone and mineral metabolism In Disorders of bone and mineral metabolism 2nd edition Edited by Coe FL, Favus MJ Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2002:157-74.
85. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Annals of epidemiology*. 2009;19(2):73-8.
86. Scanlon KS. Vitamin D Expert Panel Meeting October 2001.
87. Buğrul F. SÜT ÇOCUKLUĞU DÖNEMİNDEKİ BEBEKLERİN ANNELERİNE VERİLEN D VİTAMİNİNİN ÇOCUKLARDAKİ D VİTAMİNİ DÜZEYİNE ETKİSİ. 2011.
88. Vanoirbeek E, Krishnan A, Eelen G, Verlinden L, Bouillon R, Feldman D, et al. The anti-cancer and anti-inflammatory actions of 1, 25 (OH) 2D3. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;25(4):593-604.
89. Sergeev IN. Vitamin D and cellular Ca²⁺ signaling in breast cancer. *Anticancer research*. 2012;32(1):299-302.
90. Kasiappan R, Shen Z, Anfernee K, Jinwal U, Tang J, Lungchukiet P, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses telomerase expression and human cancer growth through microRNA-498. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(49):41297-309.
91. Jiang F, Bao J, Li P, Nicosia SV, Bai W. Induction of ovarian cancer cell apoptosis by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 through the down-regulation of telomerase. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(51):53213-21.
92. Vink-van Wijngaarden T, Pols H, Buurman C, Birkenhäger J, Van Leeuwen J. Inhibition of insulin-and insulin-like growth factor-I-stimulated growth of human breast cancer cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and the vitamin D3 analogue EB1089. *European Journal of Cancer*. 1996;32(5):842-8.

93. Pirianov G, Colston KW. Interaction of vitamin D analogs with signaling pathways leading to active cell death in breast cancer cells. *Steroids*. 2001;66(3-5):309-18.
94. Chang Se, Gao L, Yang Y, Tong D, Guo B, Liu L, et al. miR-145 mediates the antiproliferative and gene regulatory effects of vitamin D3 by directly targeting E2F3 in gastric cancer cells. *Oncotarget*. 2015;6(10):7675.
95. Nonn L, Peng L, Feldman D, Peehl DM. Inhibition of p38 by vitamin D reduces interleukin-6 production in normal prostate cells via mitogen-activated protein kinase phosphatase 5: implications for prostate cancer prevention by vitamin D. *Cancer research*. 2006;66(8):4516-24.
96. Maeda S, Omata M. Inflammation and cancer: Role of nuclear factor-kappaB activation. *Cancer science*. 2008;99(5):836-42.
97. Sergeev I. Calcium as a mediator of 1, 25-dihydroxyvitamin D3-induced apoptosis. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2004;89:419-25.
98. Prentice A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutrition reviews*. 2008;66(s2).
99. Gorham ED, Garland CF, Burgi AA, Mohr SB, Zeng K, Hofflich H, et al. Lower prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D concentration is associated with higher risk of insulin-requiring diabetes: a nested case-control study. *Diabetologia*. 2012;55(12):3224-7.
100. Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica chimica acta*. 2006;372(1-2):33-42.
101. Dimeloe S, Nanzer A, Ryanna K, Hawrylowicz C. Regulatory T cells, inflammation and the allergic response—the role of glucocorticoids and vitamin D. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2010;120(2-3):86-95.
102. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clinical endocrinology*. 2005;62(3):265-81.
103. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *The Journal of nutrition*. 2005;135(11):2739S-48S.
104. Moore DD, Kato S, Xie W, Mangelsdorf DJ, Schmidt DR, Xiao R, et al. International Union of Pharmacology. LXII. The NR1H and NR1I receptors: constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, farnesoid X receptor α , farnesoid

X receptor β , liver X receptor α , liver X receptor β , and vitamin D receptor. *Pharmacological reviews*. 2006;58(4):742-59.

105. Grant R. The history of acne. SAGE Publications; 1951.

106. Heikkinen S, Väisänen S, Pehkonen P, Seuter S, Benes V, Carlberg C. Nuclear hormone 1α , 25-dihydroxyvitamin D₃ elicits a genome-wide shift in the locations of VDR chromatin occupancy. *Nucleic acids research*. 2011;39(21):9181-93.

107. Yang L, Ma J, Zhang X, Fan Y, Wang L. Protective role of the vitamin D receptor. *Cellular immunology*. 2012;279(2):160-6.

108. Norman A, Bouillon R, Farach-Carson M, Bishop J, Zhou L-X, Nemere I, et al. Demonstration that 1β , 25-dihydroxyvitamin D₃ is an antagonist of the nongenomic but not genomic biological responses and biological profile of the three A-ring diastereomers of 1α , 25-dihydroxyvitamin D₃. *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268(27):20022-30.

109. Haussler MR, Jurutka PW, Mizwicki M, Norman AW. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1α , 25 (OH) 2vitamin D_3 : genomic and non-genomic mechanisms. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2011;25(4):543-59.

110. Cui X, Gooch H, Petty A, McGrath JJ, Eyles D. Vitamin D and the brain: Genomic and non-genomic actions. *Molecular and cellular endocrinology*. 2017;453:131-43.

111. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2006;371(1-2):1-12.

112. Rai V, Abdo J, Agrawal S, Agrawal DK. Vitamin D receptor polymorphism and cancer: an update. *Anticancer research*. 2017;37(8):3991-4003.

113. KAWAKAMI M, BLUM CB, RAMAKRISHNAN R, DELL RB, GOODMAN DS. Turnover of the plasma binding protein for vitamin D and its metabolites in normal human subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1981;53(6):1110-6.

114. Cooke NE, David EV. Serum vitamin D-binding protein is a third member of the albumin and alpha fetoprotein gene family. *The Journal of clinical investigation*. 1985;76(6):2420-4.

115. Cooke NE, Haddad JG. Vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Endocrine reviews*. 1989;10(3):294-307.

116. White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2000;11(8):320-7.
117. Haddad JG, Matsuoka LY, Hollis BW, Hu YZ, Wortsman J. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *The Journal of clinical investigation*. 1993;91(6):2552-5.
118. Aarskog D, AKSNES L, MARKESTAD T, RØDLAND O. Effect of estrogen on vitamin D metabolism in tall girls. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1983;57(6):1155-8.
119. Humphries JM, Penno MA, Weiland F, Klingler-Hoffmann M, Zuber A, Boussioutas A, et al. Identification and validation of novel candidate protein biomarkers for the detection of human gastric cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2014;1844(5):1051-8.
120. Sinotte M, Diorio C, Bérubé S, Pollak M, Brisson J. Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women-. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;89(2):634-40.
121. Zhou L, Zhang X, Chen X, Liu L, Lu C, Tang X, et al. GC Glu416Asp and Thr420Lys polymorphisms contribute to gastrointestinal cancer susceptibility in a Chinese population. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2012;5(1):72.
122. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *International journal of epidemiology*. 1980;9(3):227-31.
123. Mizushima Y, Xu X, Murakami C, Okano T, Takemura M, Yoshida H, et al. Selective inhibition of mammalian DNA polymerase α by vitamin D2 and D3. *Journal of pharmacological sciences*. 2003;92(3):283-90.
124. Park MR, Lee JH, Park MS, Hwang JE, Shim HJ, Cho SH, et al. Suppressive effect of 19-nor-1 α -25-dihydroxyvitamin D2 on gastric cancer cells and peritoneal metastasis model. *Journal of Korean medical science*. 2012;27(9):1037-43.
125. Hisatake J-i, O'Kelly J, Uskokovic MR, Tomoyasu S, Koeffler HP. Novel vitamin D3 analog, 21-(3-methyl-3-hydroxy-butyl)-19-nor D3, that modulates cell growth, differentiation, apoptosis, cell cycle, and induction of PTEN in leukemic cells. *Blood*. 2001;97(8):2427-33.
126. Pan L, Matloob AF, Du J, Pan H, Dong Z, Zhao J, et al. Vitamin D stimulates apoptosis in gastric cancer cells in synergy with trichostatin A/sodium butyrate-induced

and 5-aza-2'-deoxycytidine-induced PTEN upregulation. *The FEBS journal*. 2010;277(4):989-99.

127. Baek S, Lee Y-S, Shim H-E, Yoon S, Baek S-Y, Kim B-S, et al. Vitamin D3 regulates cell viability in gastric cancer and cholangiocarcinoma. *Anatomy & cell biology*. 2011;44(3):204-9.

128. Abdel-Rahman O. Hedgehog pathway aberrations and gastric cancer; evaluation of prognostic impact and exploration of therapeutic potentials. *Tumor Biology*. 2015;36(3):1367-74.

129. Khayatzadeh S, Feizi A, Saneei P, Esmailzadeh A. Vitamin D intake, serum Vitamin D levels, and risk of gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2015;20(8):790.

130. Lee Y, Song G. Vitamin D receptor gene FokI, TaqI, BsmI, and Apal polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2015;14(3):9118-29.

131. Horita N, Miyazawa N, Tomaru K, Inoue M, Ishigatsubo Y, Kaneko T. Vitamin D binding protein genotype variants and risk of chronic obstructive pulmonary disease: A meta-analysis. *Respirology*. 2015;20(2):219-25.

132. Enko D, Fridrich L, Rezanka E, Stolba R, Ernst J, Wendler I, et al. 25-hydroxy-Vitamin D status: limitations in comparison and clinical interpretation of serum-levels across different assay methods. *Clinical laboratory*. 2014;60(9):1541-50.

133. La Vecchia C, Ferraroni M, D'Avanzo B, Decarli A, Franceschi S. Selected micronutrient intake and the risk of gastric cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 1994;3(5):393-8.

134. Chen W, Dawsey S, Qiao Y, Mark S, Dong Z, Taylor P, et al. Prospective study of serum 25 (OH)-vitamin D concentration and risk of oesophageal and gastric cancers. *British journal of cancer*. 2007;97(1):123.

135. Vyas N, Companioni RC, Tiba M, Alkhawam H, Catalano C, Sogomonian R, et al. Association between serum vitamin D levels and gastric cancer: A retrospective chart analysis. *World journal of gastrointestinal oncology*. 2016;8(9):688.

136. Ögüş E, Sürer H, Kılınç A, Fidancı V, Yılmaz G, Dindar N, et al. D Vitamini düzeylerinin aylara, cinsiyete ve yaşa göre değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*. 2014;15(1).

137. Cong L, Wang WB, Liu Q, Du JJ. FokI Polymorphism of the Vitamin D Receptor Gene Is Associated with Susceptibility to Gastric Cancer: A Case-Control Study. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2015;236(3):219-24.
138. Li H, Stampfer MJ, Hollis JBW, Mucci LA, Gaziano JM, Hunter D, et al. A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor polymorphisms, and prostate cancer. *PLoS medicine*. 2007;4(3):e103.
139. Mittal RD, Manchanda PK, Bhat S, Bid HK. Association of vitamin-D receptor (Fok-I) gene polymorphism with bladder cancer in an Indian population. *BJU international*. 2007;99(4):933-7.
140. Yavuz DG, Keskin L, Kıyıcı S, Sert M, Şahin İ, Yüksel M, et al. Vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI, TaqI polymorphisms and bone mineral density in a group of Turkish type 1 diabetic patients. *Acta Diabetologica*. 2011;48(4):329-36.
141. Toptaş B, Kafadar AM, Cacina C, Turan S, Yurdum LM, Yiğitbaşı N, et al. The vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms in Turkish brain cancer patients. *BioMed research international*. 2013;2013.
142. Kamisli O, Acar C, Sozen M, Tecellioglu M, Yücel FE, Vaizoglu D, et al. The association between vitamin D receptor polymorphisms and multiple sclerosis in a Turkish population. *Multiple sclerosis and related disorders*. 2018;20:78-81.
143. Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler JL, Bell DA. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer research*. 1996;56(18):4108-10.
144. Serrano D, Gnagnarella P, Raimondi S, Gandini S. Meta-analysis on vitamin D receptor and cancer risk: focus on the role of TaqI, ApaI, and Cdx2 polymorphisms. *European Journal of Cancer Prevention*. 2016;25(1):85.
145. Dilmec F, Özgönül A, Akkafa F, Uzunkoy A, van KUILENBURG AB. Determination of ApaI and TaqI Polymorphisms of VDR gene in a group of Turkish patients with colorectal cancer. *International Journal of Hematology and Oncology*. 2009;27(4):018-22.
146. Maneechay W, Boonpipattanapong T, Kanngurn S, Puttawibul P, Geater SL, Sangkhathat S. Single nucleotide polymorphisms in the Gc gene for vitamin D binding protein in common cancers in Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(8):3339-44.

147. Baykara O, Erşen E, Batur Ş, Buyru N. Role of vitamin D binding protein (VDBP) gene polymorphisms in lung cancer. Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2017;25(4):622-6.
148. Lips P, van Schoor N. Worldwide vitamin D status. Vitamin D (Third Edition): Elsevier; 2011. p. 947-63.
149. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. The American journal of clinical nutrition. 2004;80(6):1678S-88S.



HAM VERİLER

Crosstabs

Notes		
Output Created		23-JUL-2018 17:44:21
Comments		
Input	Data	C:\Users\OKHdELL\Downloads\SERMIN TEZ 21.7.2018.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	161
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each table are based on all the cases with valid data in the specified range(s) for all variables in each table.
Syntax		CROSSTABS /TABLES=duzenlenmeDNA BY cins /FORMAT=AVALUE TABLES /STATISTICS=CHISQ RISK /CELLS=COUNT ROW /COUNT ROUND CELL /BARChart.
Resources	Processor Time	00:00:00,19
	Elapsed Time	00:00:00,22
	Dimensions Requested	2
	Cells Available	131029

[DataSet1] C:\Users\OKHdELL\Downloads\SERMIN TEZ 21.7.2018.sav

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
duzenlenmeDNA * cins	161	100,0%	0	0,0%	161	100,0%

duzenlenmeDNA * cins Crosstabulation

			cins		Total
			erkek	kadin	
duzenlenmeDNA	mide	Count	45	32	77
		% within duzenlenmeDNA	58,4%	41,6%	100,0%
	kontrol	Count	38	46	84
		% within duzenlenmeDNA	45,2%	54,8%	100,0%
Total		Count	83	78	161
		% within duzenlenmeDNA	51,6%	48,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,804 ^a	1	,094	,115	,065
Continuity Correction ^b	2,300	1	,129		
Likelihood Ratio	2,813	1	,093		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	2,787	1	,095		
N of Valid Cases	161				

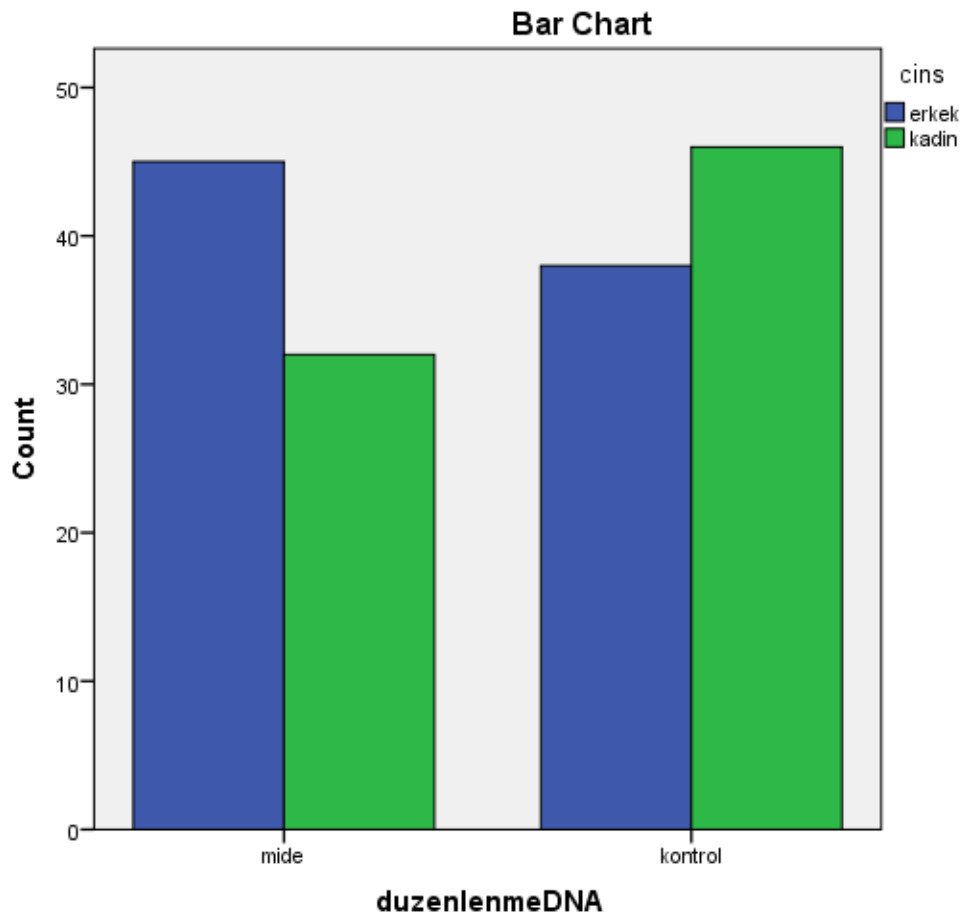
a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 37,30.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval
--	-------	-------------------------

		Lower	Upper
Odds Ratio for duzenlenmeDNA (mide / kontrol)	1,702	,912	3,179
For cohort cins = erkek	1,292	,956	1,746
For cohort cins = kadin	,759	,546	1,054
N of Valid Cases	161		



FORMLAR

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) (Hasta Gönüllü İçin)

Çalışmanın Adı: Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi İle D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizimlerin İncelenmesi.

Bu araştırmanın amacı, mide kanseri ile D vitamini seviyesi ve yolağındaki kritik gen varyantları arasındaki ilişkiyi incelemektir. Araştırma için sizden alınan kan örnekleri kullanılacak, bu örnekler laboratuvarımızda çalışılacaktır. Araştırmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırmada öngörülen süre 6 ay olup, araştırmada yer alan gönüllü sayısı 77 kişidir.

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

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin mide kanseri tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yönden katkıda bulunmuş olacaksınız. Uzun dönemde hastalığın gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesini ve alternatif tedavi geliştirebilmek için çalışma önemlidir.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır olup proje BAP tarafından desteklenmektedir. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk ile karşılaşmanız söz konusu değildir. Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde yararınıza engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar size ait tıbbi bilgilere ulaşılabilir ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır.

Siz veya yasal temsilciniz bilgilendirilmiş olur formunu imzalamakla bunu kabul etmiş olacaksınız. Ayrıca kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar da gizli tutulacaktır. Araştırma esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda siz veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ve diğer rahatsızlıklar için 0212 414 20 00-33326 nolu telefondan Doç. Dr. Özlem Küçük Hüseyin'e veya 0546 414 10 84 nolu telefondan Şermin Durak'a ulaşabilirsiniz.

Sayın Doçent Dr. Soykan Arıkan tarafından İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nde, tıbbi bir araştırma yapılacağını belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

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

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

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

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, İstanbul Üniversitesi Dahili Bilimler Anabilim Dalı'ndan Profesör Dr. Filiz Akyüz'ü 02124142000 ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nden Doçent Dr. Soykan Arıkan'ı 0532 523 58 55 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum.

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

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

İmzalı bu form kağının bir kopyası bana verilecektir.

Hasta Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım, istediğim soruları sordum ve cevapları aldım. Bu klinik araştırmaya gönüllölük olarak hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağının bir kopyası bana verilecektir.

“Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi İle D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizimlerin İncelenmesi.” araştırması kapsamında alınan kan ve doku örneklerinin;

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Gönüllölün/ Gönüllöl yakının;

Adı-soyadı:

Tarih:

Adresi:

Telefon no:

İmzası:

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;

Adı-soyadı: Profesör Dr. Filiz Akyüz

Tarih:

Adresi: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Bilimler Anabilimdalı Çapa/
İstanbul

Telefon No: 0532 523 5855

İmzası:

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;

Adı-soyadı: Doçent Dr. Soykan Arıkan

Tarih:

Adresi: İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği,
Samatya/İstanbul

Telefon No: 0532 523 5855

İmzası:

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

Adı-Soyadı:

Tarih:

Adresi:

Telefon no:

İmzası:

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) **(Sağlıklı Gönüllü İçin)**

Çalışmanın Adı: Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi İle D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizimlerin İncelenmesi.

Bu araştırmanın amacı, mide kanseri ile D vitamini seviyesi ve yolağındaki kritik gen varyantları arasındaki ilişkiyi incelemektir. Araştırma için sizden alınan kan örnekleri kullanılacak, bu örnekler laboratuvarımızda çalışılacaktır. Araştırmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırmada öngörülen süre 6 ay olup, araştırmada yer alan gönüllü sayısı 84 kişidir.

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

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin mide kanseri tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yünden katkıda bulunmuş olacaksınız. Uzun dönemde hastalığın gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesini ve alternatif tedavi geliştirebilmek için çalışma önemlidir.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır olup proje BAP tarafından desteklenmektedir. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk ile karşılaşmanız söz konusu değildir. Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde yararınıza engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar size ait tıbbi bilgilere ulaşılabilir ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır.

Siz veya yasal temsilciniz bilgilendirilmiş olur formunu imzalamakla bunu kabul etmiş olacaksınız. Ayrıca kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar da gizli tutulacaktır.

Araştırma esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda siz veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ve diğer rahatsızlıklar için 0212 414 20 00-33326 nolu telefondan Doç. Dr. Özlem Küçük Hüseyin'e veya 0546 414 10 84 nolu telefondan Şermin Durak'a ulaşabilirsiniz.

Sayın Doçent Dr. Soykan Arıkan tarafından İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nde, tıbbi bir araştırma yapılacağını belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

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

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

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

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, İstanbul Üniversitesi Dahili Bilimler Anabilim Dalı'ndan Profesör Dr. Filiz Akyüz'ü 02124142000 ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nden Doçent Dr. Soykan Arıkan'ı 0532 523 58 55 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı

reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

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

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Hasta Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım, istediğim soruları sordum ve cevapları aldım. Bu klinik araştırmaya gönüllü olarak hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

“Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi İle D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizimlerin İncelenmesi.” araştırması kapsamında alınan kan ve doku örneklerinin;

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Gönüllünün/ gönüllü yakınının;

Adı-soyadı:

Tarih:

Adresi:

Telefon no:

İmzası:

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;

Adı-soyadı: Profesör Dr. Filiz Akyüz

Tarih:

Adresi: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Bilimler Anabilimdalı Çapa/
İstanbul

Telefon No: 0532 523 5855

İmzası:

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;

Adı-soyadı: Doçent Dr. Soykan Arıkan

Tarih:

Adresi: İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği,
Samatya/İstanbul

Telefon No: 0532 523 5855

İmzası:

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

Adı-Soyadı:

Tarih:

Adresi:

Telefon no:

İmzası:

ETİK KURUL KARARI

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



Sayı : 45

Tarih : 16.01.2018

Konu: Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN hk.

Sayın Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

İlgi : Moleküler Tıp Anabilim Dalının 20/12/2017 gün ve 476413 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Şermin DÜRAK' ın yürüteceği 2018/15 dosya numaralı "Mide Kanserlerinde D Vitamini Düzeyi ile D Vitamini Yolağında Kritik Polimorfizimlerin İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 12/01/2018 tarih ve 01 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

MİDE KANSERLERİNDE D VİTAMİNİ DÜZEYİ İLE D VİTAMİNİ YOLAĞINDA KRİTİK POLİMORFİZMLERİN İNCELENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

%7	%4	%4	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
3	www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
4	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<%1
5	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	www.turkbiyokimyadernegi.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	dspace.baskent.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Şermin	Soyadı	Durak
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	30.09.1986
Uyruğu	TC	TC Kim No	21917530794
Email	sermingad@gmail.com	Tel	05464141084

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Balıkesir Üniversitesi	2009
Lise	Bayrampaşa Tuna Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Biyolog	İstanbul Üniversitesi	2012
2.	Öğretmen	MEB	2008 - 2011
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	62.5	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	79.82		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	İyi
Excel	İyi
Power Point	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Seyehat etmek, Film izlemek, Fotograf çekmek