

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PROSTAT KANSERİ İLE İLİŞKİLİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN BAZI GEN
POLİMORFİZMLERİNİN TÜRK HASTALARDA İNCELENMESİ**

EBRU ÖZKAN

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. DİLEK TURGUT-BALIK**

İSTANBUL, 2014

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROSTAT KANSERİ İLE İLİŞKİLİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN BAZI GEN
POLİMORFİZMLERİNİN TÜRK HASTALARDA İNCELENMESİ**

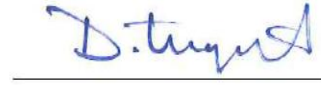
Ebru ÖZKAN tarafından hazırlanan tez çalışması 07/05/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Dilek TURGUT-BALIK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Dilek TURGUT-BALIK
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Mustafa CEMEK
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Trakya Üniversitesi



Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi



Doç. Dr. Volkan TUĞCU
Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğt. ve Araş. Hastanesi



Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2012-07-04-DOP02 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim boyunca bilgi birikiminden ve tecrübelerinden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, hoşgörü ve sabrını esirgemediğim, ufku genişleten, akademik çalışmalarına ışık tutup yön veren, değerli danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Dilek Turgut-Balık'a;

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyerek fikirleri ile çalışmamı değerlendiren hocalarım Sayın Prof. Dr. Levent Öztürk ve Sayın Prof. Dr. Mustafa Cemek'e;

Tez çalışmamın yürütülmesine maddi destek sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Başkanlığı'na ve bölümümdeki tüm hocalarıma;

Tez çalışmamda kullanılan kan örneklerini sağlayan ve çalışmamı içtenlikle destekleyen hocalarım Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ali İhsan Taşçı ve Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği hekimi Sayın Dr. Buğra Doğukan Törer'e;

İstatistiksel analizler konusundaki değerli katkıları ve içten destekleri için Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü öğretim üyesi olan hocalarım Sayın Prof. Dr. Hülya Ellidokuz ve Sayın Doç. Dr. Yasemin Baskın'a;

Tez çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Biyomühendislik Bölümü Rekombinant DNA Teknolojileri Laboratuvarı grup arkadaşlarım Uzman Ayşegül Erdemir, Ayberk Akat, Araş. Gör. Emrah Sarıyer, Ebru Çayır, Ekrem Akbulut, Sinem Yakarsönmez, Araş. Gör. Belma Nural, Zeynep Büşra Bolat, İlke Güntan, Osman Uğurel, Erennur Uğurel ve bölümdeki diğer yüksek lisans, doktora öğrencisi arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca olduğu gibi, doktora öğrenimim süresince benden desteğini esirgemeyen ve sonsuz güç veren sevgili aileme;

Çok teşekkür ederim.

MAYIS 2014,

Ebru ÖZKAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.1.1 Prostat Kanseri.....	1
1.1.1.1 Prostat Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri	2
1.1.1.2 Prostat Kanseri Epidemiyolojisi.....	4
1.1.2 Prostat Kanseri Tanı Yöntemleri ve Tanı ile İlgili Sorunlar.....	7
1.1.3 Dijital Rektal İnceleme	7
1.1.3.1 Prostat Spesifik Antijen (PSA)	8
1.1.3.2 Transrektal Ultrasonografi ve Biyopsi.....	9
1.1.4 Prostat Kanseri Evreleme ve Derecelendirme Sistemleri.....	9
1.1.4.1 Prostat Kanseri Evreleme	9
1.1.4.2 Prostat Kanseri Derecelendirme	10
1.1.5 Prostat Kanseri Genetiği	10
1.1.5.1 Prostat Kanseri ile İlişkili Kromozomlar ve Aday Genler	11
1.1.6 Genetik Polimorfizm	12
1.1.6.1 Tek Nükleotid Polimorfizmleri	13
1.1.6.2 Tek Nükleotid Polimorfizmleri ile Prostat Kanserin İlişkilendirilmesi	16
1.1.7 SNP Genotipleme.....	18
1.2 Tezin Amacı	22
1.3 Hipotez	22

BÖLÜM 2	23
MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
2.1 Materyal.....	23
2.1.1 Çalışma Populasyonu.....	23
2.1.2 Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması	23
2.1.3 Kimyasal Maddeler, Enzimler ve Kitler	24
2.1.4 Deneylerde Kullanılan Cihazlar	24
2.1.5 SNP ve Primerler	24
2.2 Yöntem.....	29
2.2.1 Kütle Spektrometrisi Esaslı Deney Tasarımı	29
2.2.1.1 Amplifikasyon Primerlerinin Tasarlanması	29
2.2.1.2 Uzama Problarının (Primerlerinin) Tasarlanması.....	29
2.2.1.3 Assay Dizaynı (Deney Tasarımı)	30
2.2.2 Genomik DNA İzolasyonu ve Miktar Tayini	32
2.2.2.1 Genomik DNA İzolasyonu.....	32
2.2.2.2 İzolasyonu Yapılan DNA'nın Miktar ve Saflık Tayini	33
2.2.3 DNA'nın Genotipleme İçin Çoğaltılması (Multipleks PCR).....	33
2.2.4 dNTP Nötralizasyonu (SAP Reaksiyonu)	34
2.2.5 Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu	35
2.2.5.1 Uzama Probu Konsantrasyonlarının Ayarlanması.....	35
2.2.5.2 Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu Hazırlanması ve Termal Döngüleyicide İşlem Görmesi	36
2.2.6 Rezin ile Temizleme	37
2.2.7 Nanodispenser ile Ürünlerin Çipe Aktarımı.....	38
2.2.8 MALDI-TOF MS ile Genotipleme ve Veri Analizi.....	38
2.2.9 İstatistik Analizler	39
2.2.9.1 Hardy Weinberg Dengesi	39
2.2.9.2 Olasılıklar Oranı (Odds Ratio=OR) Testi	40
2.2.9.3 Klinikopatolojik Değişkenlerin SNP'lerle İlişkisinin Belirlenmesi	41
BÖLÜM 3	42
SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	42
3.1 Prostat Kanseri Tanısının Yapılması ve Çalışma Populasyonunun Tanıtılması.....	42
3.2 Hasta ve Kontrol Örneklerinden İzole Edilen DNA'ların Saflık ve Miktar Analizi.....	45
3.3 SNP, Primer ve Uzama Probların Genomdaki Konumu	50
3.4 Genotipleme Uygulama Sonuçları	52
3.5 İstatistik Analizler.....	55
3.5.1 Hardy Weinberg Dengesi Testi Sonuçları	55
3.5.2 Prostat Kanseri ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi	56
3.5.2.1 Prostat Kanseri ile SNP Allellerinin İlişkilendirilmesi.....	56
3.5.2.2 Prostat Kanseri ile SNP Genotiplerinin İlişkilendirilmesi.....	61

3.5.3 Prostat Kanserinin Bazı Klinikopatolojik Değişkenlerle İlişkilendirilmesi	67
3.5.3.1 Hastaların Prostat Kanseri Tanısının Konulduğu Dönemdeki Yaşı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi	67
3.5.3.2 Ailede Kansere Öyküsü ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi	69
3.5.3.3 Ailede Prostat Kanseri Öyküsü ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi.....	70
3.5.3.4 Gleason Skoru ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi	71
3.5.3.5 Sigara Kullanımı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi	73
3.5.3.6 Alkol Kullanımı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi	75
3.5.3.7 Serumdaki PSA Düzeyleri ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi.....	75
BÖLÜM 4	76
SONUÇ VE ÖNERİLER	76
4.1 Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi	76
4.2 Öneriler	78
KAYNAKLAR	79
EK-A	90
ETİK KURUL ONAYI	90
EK-B	92
ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	92
EK-C	94
HASTA BİLGİ FORMU	94
ÖZGEÇMİŞ	96

SİMGE LİSTESİ

A	Absorbans
Da	Dalton
ml	Mililitre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
nl	Nanolitre
nm	Nanometre
OD	Optik dansite
rpm	Dakikadaki dönme sayısı
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar
$^{\circ}$ C	Derece Santigrad

KISALTMA LİSTESİ

AJCC	Amerikan Kanser Birliği
AR	Androjen reseptörü
bç	Baz çifti
BPH	Benign prostat hiperplazisi
CHEK2	Hücre döngüsü kontrol noktası kinaz 2
cSNP	Sinonim olmayan SNP
ddNTP	Dideoksiribonükleozid trifosfat
dH ₂ O	Distile su
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNDP	Deoksiribonükleozid difosfat
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
DRE	Dijital rektal inceleme
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
eSNP	Ekzon SNP
GA	Güven aralığı
gSNP	İntergenik SNP
GSTP-1	Glutasyon S-Transferaz P1
HK2	Human kallikrein 2
HPC1	Hereditör (kalıtsal) prostat kanseri 1
IARC	Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı
Inc.	Anonim şirketi
iSNP	İntron SNP
MAF	Minör allel frekansı
MALDI	Matriks destekli lazer desorpsiyon/ionizasyon
MIP	Moleküler inversiyon probu
MS	Kütle spektrometrisi
NCCN	Ulusal kapsamlı kanser ağı
OR	Olasılıklar oranı
p53	Tümör protein 53
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PSA	Prostat spesifik antijen
PSCA	Prostat kök hücre antijeni
pSNP	Promotor SNP

PTEN	Fosfataz ve tensin homologu
Rb	Retinoblastoma geni
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RNASEL	Ribonükleaz L
rs	Referans SNP
rSNP	Düzenleyici SNP
SAP	Shrimp alkalen fosfataz
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
sSNP	Sinonim SNP
STR	Kısa ardışık tekrarlar
TNM	Tümör-Nodül-Metastaz
TOF	Uçuş zamanlı
TRUS	Transrektal ultrasonografi
U	nite
UEP	Bağlanmamış uzama primerleri
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole-görünür bölge
VDR	Vitamin D reseptörü
VNTR	Değişken sayılı bitişik tekrarlar

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. 1 Erkeklerde dünya genelinde en sık görülen kanser türlerinin tahmini yüzdeleri	5
Şekil 1. 2 Erkeklerde dünya genelinde görülen kanser kaynaklı ölümlerin tahmini yüzdeleri.....	5
Şekil 1. 3 Erkeklerde Avrupa’da en sık görülen kanser türlerinin tahmini yüzdeleri.....	5
Şekil 1. 4 Erkeklerde Avrupa’da görülen kanser kaynaklı ölümlerin tahmini yüzdeleri ...	6
Şekil 1. 5 Türkiye’de erkeklerde en sık görülen ilk 10 kanser türünün yaşa göre standardize edilmiş hızlarının dağılımı.....	7
Şekil 1. 6 Tek nükleotid polimorfizmi genotipleri	14
Şekil 1. 7 Transversiyon ve transisyonlar	15
Şekil 1. 8 Gendeki pozisyonuna bağlı olarak farklı SNP çeşitleri.....	15
Şekil 1. 9 iPLEX reaksiyon basamakları şeması	20
Şekil 1. 10 MALDI-TOF reaksiyon şeması ve spektrum görüntüsü	21
Şekil 2. 1 Dört aşamalı uzama probu ayarlama metoduna göre primerlerin gruplandırılması	36
Şekil 2. 2 SNP analiz modelleri	41
Şekil 3. 1 Çalışma grubunun 65 yaşa göre yaş dağılım yüzdeleri.....	43
Şekil 3. 2 Çalışma grubuna ait bireylerin sigara içme yüzdeleri.....	43
Şekil 3. 3 Çalışma grubuna ait bireylerin alkol kullanma yüzdeleri.....	44
Şekil 3. 4 Hasta grubundaki bireylerin Gleason skoru, serumdaki PSA düzeyi yüzdeleri	44
Şekil 3. 5 Hasta grubundaki bireylerin ailede kanser öyküsü, ailede prostat kanseri öyküsü yüzdeleri	45
Şekil 3. 6 rs10993994 için MassARRAY TYPHER 4.0 genotipleme sonucu örneği.....	54
Şekil 3. 7 rs9623117 için spektrum örneği.....	55

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 1. 1 SNP genotiplleme yöntemlerinin özellikleri	18
Çizelge 1. 2 Ticari olarak elde edilen genotiplleme assayleri	19
Çizelge 2. 1 SNP'ler ve genotiplleme primerleri	25
Çizelge 2. 2 SNP allelleri arasındaki kütle (Da) farklılıkları	30
Çizelge 2. 3 Set 1'de yer alan multipleks reaksiyonlar	31
Çizelge 2. 4 Set 2'de yer alan multipleks reaksiyonlar	31
Çizelge 2. 5 Multipleks PCR karışımı	34
Çizelge 2. 6 SAP reaksiyonu bileşenleri	35
Çizelge 2. 7 Tek baz spesifik uzama reaksiyonu bileşenleri	37
Çizelge 2. 8 Tek baz spesifik uzama reaksiyonu koşulları	37
Çizelge 2. 9 Olasılıklar oranı hesaplama prensibi.....	40
Çizelge 3. 1 Çalışma grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini.....	45
Çizelge 3. 2 SNP'lerin genomdaki konumu ve allel bilgileri	50
Çizelge 3. 3 rs902774 no'lu SNP'nin bulunduğu DNA dizisi	52
Çizelge 3. 4 Hardy Weinberg testi sonuçları	56
Çizelge 3. 5 SNP allellerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları	57
Çizelge 3. 6 SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları	62
Çizelge 3. 7 Prostat kanseri hastalarındaki yaş gruplarının rs1218582 polimorfizmi için çapraz tablosu	68
Çizelge 3. 8 Prostat kanseri hastalarındaki yaş gruplarının rs3850699 polimorfizmi için çapraz tablosu	69
Çizelge 3. 9 Ailede kanser öyküsünün rs5945572 polimorfizmi için çapraz tablosu	70
Çizelge 3. 10 Ailede prostat kanseri öyküsünün rs5945572 polimorfizmi için çapraz tablosu	71
Çizelge 3. 11 Ailede prostat kanseri öyküsünün rs7931342 polimorfizmi için çapraz tablosu	71
Çizelge 3. 12 Gleason skoru gruplarının rs1571801 polimorfizmi için çapraz tablosu ...	72
Çizelge 3. 13 Gleason skoru gruplarının rs7611694 polimorfizmi için çapraz tablosu ...	73
Çizelge 3. 14 Sigara kullanımının rs9623117 polimorfizmi için çapraz tablosu	74
Çizelge 3. 15 Sigara kullanımının rs10896449 polimorfizmi için çapraz tablosu	74
Çizelge 3. 16 Sigara kullanımının rs1270884 polimorfizmi için çapraz tablosu	74
Çizelge 3. 17 Alkol kullanımının rs1270884 polimorfizmi için çapraz tablosu	75
Çizelge 4. 1 Analiz edilen parametreler ile ilişkilendirilen SNP'lerin dağılımı	77
Çizelge 4. 2 Prostat kanseri ile ilişkilendirilen SNP'lerin toplumsal dağılımı	78

**PROSTAT KANSERİ İLE İLİŞKİLİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN BAZI GEN
POLİMORFİZMLERİNİN TÜRK HASTALARDA İNCELENMESİ**

Ebru ÖZKAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek TURGUT-BALIK

Erkeklerde dünya genelinde en sık görülen ikinci kanser türü prostat kanseridir. Türkiye’de erkekler arasında kanserlerden ölümlerin ikinci sıradaki sebebidir. Prostat kanseri sıklıkla erken dönemde bulgu vermemekte ve belirtilerin ortaya çıkması hastalığın ilerlediğini veya metastaz yaptığını işaret etmektedir. Prostat kanserinin doğrudan sebebi henüz tanımlanmamış olmakla beraber bu hastalığa neden olan yaş, kalıtsal yatkınlık, sigara ve alkol kullanımı, beslenme biçimi, ırk ve genetik faktörler gibi birkaç risk faktörü tespit edilmiştir.

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP), genomun herhangi bir bölgesinde bulunan tek nükleotid dizilim farklılıkları olup hastalığa yatkınlık nedeni olabilmektedir. Bu nedenle, SNP’ler hastalıkla ilişkilendirme çalışmalarında ideal belirteçler olarak önerilmektedir. Farklı populasyonlarda hasta ve kontrol gruplarında yapılan araştırmalar sonucu, prostat kanseri ile ilişkili olan birçok SNP tanımlanmıştır. Farklı toplumlarda risk allellerinin de farklı olduğu bilinmektedir, bu nedenle her toplumun SNP profillerinin ayrı ayrı tanımlanması gerekmektedir. Bu tez çalışmasının temel amacı daha önce farklı toplumlarda prostat kanseri ile ilişkili olduğu bildirilen 67 SNP’nin; toplumumuzdaki prostat kanseri hastalarında ve sağlıklı bireylerde araştırılarak prostat kanseri ile ilişkilendirilmesidir.

Bu tez çalışmasında 175 örnekte (85 hasta, 90 kontrol) 67 SNP'nin iPLEX yöntemi ile genotiplemesi gerçekleştirilmiştir. Her bir SNP'nin Hardy Weinberg dengesi test edilmiştir ve rs11135910, rs11902236, rs445114, rs721048, rs6497287 ve rs6983267 polimorfizmlerinin genotipleri için Hardy Weinberg dengesinden sapma olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). SNP allellerinin prostat kanseri ile ilişkisi araştırıldığında, rs1016343 (OR=1,91; %95 GA=1,12-3,26; $p=0,017$), rs1456315 (OR=2,40; %95 GA=1,22-4,72; $p=0,011$), rs10896449 (OR=1,54; %95 GA=1,00-2,37; $p=0,047$), rs3771570 (OR=2,07; %95 GA=1,04-4,14; $p=0,039$), rs7141529 (OR=1,61; %95 GA=1,05-2,46; $p=0,029$) ve rs684232 (OR=1,61; %95 GA=1,03-2,51; $p=0,038$) varyantlarının en yüksek olasılıklar oranı (OR) değerleri ile istatistiksel olarak prostat kanseri ile belirgin bir şekilde ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bunlardan rs1016343 (OR=1,90; %95 GA=1,01-3,57; $p=0,046$), rs7141529 (OR=2,31; %95 GA=1,01-5,27; $p=0,046$) ve rs684232 (OR=1,83; %95 GA=0,10-3,36; $p=0,05$) genotiplerinin en yüksek OR değerleri ile istatistiksel olarak prostat kanseri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. SNP genotipleri ile hastaların bazı kliniko-patolojik değişkenlerle ilişkisi araştırıldığında; yaş ile rs1218582 ve rs3850699; ailede kanser öyküsü ile rs5945572; ailede prostat kanseri öyküsü ile rs5945572 ve rs7931342; Gleason skoru ile rs1571801 ve rs7611694; sigara kullanımı ile rs9623117, rs10896449 ve rs1270884; alkol kullanımı ile rs1270884 genotiplerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Gerçekleştirilmiş olan çalışma ile Türk toplumunda ilk defa çok sayıda SNP prostat kanseri ile ilişkilendirilmiş olup, bu sonuçların ileride toplumumuzda hastalığın muhtemel genetik riskinin tanımlanmasında kullanılabilecek ileri biyomarkır çalışmalarının önünü açacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tek nükleotid polimorfizmleri, prostat kanseri, SNP genotipleme

**INVESTIGATION OF SOME GENE POLYMORPHISMS THOUGHT TO BE
ASSOCIATED WITH PROSTATE CANCER IN TURKISH PATIENTS**

Ebru ÖZKAN

Department of Bioengineering

Ph.D. Thesis

Advisor: Prof. Dr. Dilek TURGUT-BALIK

Prostate cancer is the second most common cancer type in men throughout the world. It is the second cause of death because of cancer among men in Turkey. Prostate cancer is often asymptomatic at early stages of the disease and occurrence of symptoms indicates the progression of disease or metastasis formation. A direct cause of prostate cancer has not been identified, but a number of risk factors such as age, hereditary predisposition, smoking and alcohol consumption, diet, race and genetical factors have been identified.

Single nucleotide polymorphism (SNP) is a variation of one nucleotide sequence at any region of genome that may cause disease susceptibility. Therefore, SNPs have been proposed as ideal markers in disease association studies. As a result of these studies that were performed in case and control groups from various populations, multiple SNPs associated with prostate cancer have been identified. It is known that different populations may have different sets of risk alleles, thus SNP profiles of each population must be defined, separately. The main purpose of this thesis study was to associate 67 SNPs with prostate cancer which were previously reported to be associated with prostate cancer in different societies, by investigating SNPs in prostate cancer and healthy control subjects.

In this study, genotyping of 67 SNPs was performed in 175 samples (85 patients, 90 controls) by iPLEX method. Hardy Weinberg Equilibrium was tested for each of 67 SNPs

and it is obtained that rs11135910, rs11902236, rs445114, rs721048, rs6497287 and rs6983267 genotype frequencies significantly differed from HWE ($p \leq 0,05$). The association of SNP alleles and prostate cancer was investigated and rs1016343 (OR=1,91; 95% CI=1,12-3,26; $p=0,017$), rs1456315 (OR=2,40; 95% CI=1,22-4,72; $p=0,011$), rs10896449 (OR=1,54; 95% CI=1,00-2,37; $p=0,047$), rs3771570 (OR=2,07; 95% CI=1,04-4,14; $p=0,039$), rs7141529 (OR=1,61; 95% CI=1,05-2,46; $p=0,029$) and rs684232 (OR=1,61; 95% CI=1,03-2,51; $p=0,038$) variants were determined to be statistically associated with prostate cancer with the highest odds ratio (OR) values. The genotypes of rs1016343 (OR=1,90; 95% CI=1,01-3,57; $p=0,046$), rs7141529 (OR=2,31; 95% CI=1,01-5,27; $p=0,046$) and rs684232 (OR=1,83; 95% CI=0,10-3,36; $p=0,05$) were found to have the highest OR values and determined to be statistically associated with prostate cancer. Associations between genotypes of SNPs and clinico-pathological variables were also investigated and SNPs that found to be statistically associated with age were rs1218582 and rs3850699; with family history of cancer was rs5945572; with family history of prostate cancer were rs5945572 and rs7931342; with Gleason score were rs1571801 and rs7611694; with smoking were rs9623117, rs10896449, rs1270884; with alcohol was rs1270884 ($p \leq 0,05$). In this study, the large number of SNPs have been associated with prostate cancer for the first time in Turkish population and these results may pave the way for further biomarker studies that can be used in detecting possible genetic risk of disease in our population.

Keywords: Single nucleotide polymorphisms, prostate cancer, SNP genotyping

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 Prostat Kanseri

Prostat rektumun ön kısmında, idrar kesesinin altında konumlanmış ve sadece erkeklerde bulunan bir bezdir. Prostatın büyüklüğü yaşa göre değişmektedir. Genç erkeklerde ceviz büyüklüğündeyken yaşlı erkeklerde daha büyük olabilmektedir. Prostatın işlevi, semeni daha akışkan yapan ve semendeki sperm hücrelerini koruyup beslemekle görevli olan prostat sıvısını üretmektir [1].

Prostat kanseri, prostat bezindeki hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki dengenin bozulması ve organ hacminin malign büyümesi olarak tanımlanmaktadır [2]. Prostat kanseri sıklıkla erken dönemde bulgu vermemekte ve çoğunlukla prostat spesifik antijen (PSA) testi ve/veya dijital rektal muayene ile tanısı konulabilmektedir [1].

Prostat kanserine bağlı belirtilerin ortaya çıkması hastalığın ilerlediğini veya metastaz yaptığını işaret etmektedir [3]. İleri evredeki bazı prostat kanserleri boşaltım sistemini zayıflatabilmekte ve hastalar daha sık idrara çıkma ihtiyacı hissedebilmektedir. Bazı durumlarda böbrek tıkanıklığı meydana gelebilmektedir. Ancak benign (iyi huylu) prostat hiperplazisi (BPH) gibi kanser olmayan prostat hastalıkları da aynı belirtilerin görülmesine sebep olabilmektedir. İleri evrelerde, idrarda kan görülmesi veya ereksiyon olamama gibi sorunlar da ortaya çıkabilmektedir [1].

Prostat kanseri hastalarında metastaz görülen yerlerin başında iliak lenf nodları, kemikler ve akciğerler gelmektedir. Bundan başka, karaciğer ve böbreküstü bezinde, nadiren ise testislerde metastaz görülmektedir [4]. Prostat kanseri vakaları ileri evreye gelindiğinde hastaların % 80-90'ında kemik metastazları görülmektedir. Kemikte metastaz meydana geldiğinde iskelet sisteminin bütünlüğü bozulmakta, kemiklerde kırıklar oluşmaktadır. Ayrıca omuriliğe baskı meydana geldiğinden şiddetli kemik ağrıları oluşabilmekte ve hastaların yaşam kalitesi bozulmaktadır [5], [6], [7]. Kemikte metastaz görüldüğünde ortalama sağkalım süresinin 2-3 yıl arasında değiştiği bilinmektedir [7].

1.1.1.1 Prostat Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

Prostat kanserinin doğrudan sebebi henüz tanımlanmamış olmakla beraber prostat kanserine neden olan yaş, kalıtsal yatkınlık, sigara ve alkol kullanımı, beslenme biçimi, ırk ve genetik faktörler gibi birkaç risk faktörü tespit edilmiştir [8], [9], [10].

Yaş, prostat kanseri için en güçlü risk faktörüdür [1]. Prostat kanseri ileri yaş erkeklerde sıklıkla görülen bir hastalıktır. Prostat kanseri tanısı yeni konmuş hastaların % 75'inden fazlası 65 yaşın üstündedir [11]. 50 yaş üstü erkeklerde prostat kanserinin görülme sıklığı ve ölüm oranı yaşa bağlı olarak artmaktadır. Hastalığın görülme oranı 39 yaş altı erkeklerde 1/10.000 iken, 40-59 yaşlar arasında 1/13 ve 60-79 yaşları arasında ise bu oran 1/8'dir [12], [13].

Yapılan çalışmalar prostat kanseri hastalarının aile bireylerindeki veya yakını olan erkeklerdeki prostat kanseri görülme oranının normal popülasyona göre daha fazla olduğunu göstermiştir [13], [14]. Ailede prostat kanseri görülen bireylerin sayısı, akrabalık dereceleri ve hastalığın görülme yaşına bağlı olarak prostat kanserine yakalanma riski artmaktadır [15]. Birinci derece akrabaları arasında prostat kanserli bir yakını olan bireydeki risk kontrol grubuna göre iki kat, iki yakını prostat kanseri olan bireydeki risk beş kat artmaktadır [16]. Babası ya da erkek kardeşine 50 yaşın altında prostat kanseri tanısı konulmuş bir erkekte ise prostat kanseri riski yaklaşık 7 kat artmaktadır [13], [14]. Prostat kanserine kalıtsal yatkınlığı olan kişi yalnızca risk altında kalmayıp erken yaş prostat kanserine de adaydır [16].

Alkol ve sigara kullanımı prostat kanseri riskine etki edebilen değiştirilebilir risk faktörleridir. Alkol, hormonal çevreyi ve buna paralel olarak tümör hücre gelişimini etkileyebilmektedir [9]. Sigara kullanımı çeşitli eşey hormonlarının serum düzeyleri üzerine etki edebilmektedir. Çok sayıda prospektif kohort çalışmasında endokrin yolları ve enzimatik sistemlerde sigara kullanımına bağlı olarak belgelenen değişiklikler, sigara kullanımı ile ölümcül prostat kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir [10].

Beslenme biçiminin prostat kanserindeki kesin rolü açık olmamakla beraber, fazla miktarda kırmızı et veya yüksek yağlı süt ürünleri ile beslenen erkeklerde prostat kanserine yakalanma olasılığının kısmen daha yüksek olduğu bildirilmiştir [1]. Yüksek oranda yağlı yiyeceklerle beslenme biçimine sahip olmanın prostat kanserine yakalanma oranını arttırdığı düşünölmektedir. Çünkü vücuda alınan yüksek oranda yağ, eşey hormonlarının sentezini arttırmaktadır [13], [17]. Prostat bezinin androjenlere maruz kalması prostat kanseri oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Amerika'daki siyah ırkta prostat kanseri görölme sıklığının yüksek olmasının sebebi, bu kişilerde androjen seviyelerinin de yüksek olması ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan bir çalışmada Amerika'daki siyah ırkta beyaz ırka oranla % 15 oranında daha yüksek testosteron seviyeleri tespit edilmiştir. Yine androjenlerin etkisinden yoksun kalmanın prostat kanserinden koruduğu bilinmektedir [15].

Yağda eriyen vitaminlerin (A, D, K) ve eser elementlerin (çinko) de prostat kanserine yakalanma riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir [13], [17]. Bazı çalışmalarda diyetle yüksek oranda kalsiyum alımının prostat kanseri riskini arttırdığı bulunmuştur [13], [18].

Bazı çalışmalar D vitamininin prostat kanserine karşı koruyucu olduğunu göstermiştir [8]. D vitamini güneş ışınlarının etkisiyle deride oluşmaktadır. Kuzey ölkelerinde yaşayanlar daha az güneş ışınına maruz kalmakta ve bu kişilerde D vitamini eksikliği göröllebilmektedir. Bu ölkelerde yaşayan erkeklerde prostat kanserinden ölüm oranlarının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. İleri yaş erkeklerde D vitamini eksikliği sık olarak görölme sıklığı ve ölüm oranı en yüksek olan Amerika'daki siyah ırk erkeklerdir.

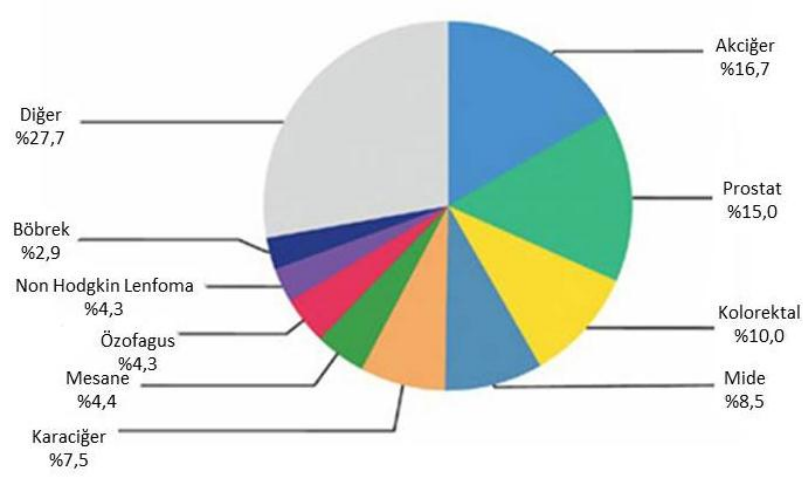
Bu durum ciltlerindeki melanin pigmentinin ultraviyole ışığını bloke ederek D vitamini sentezini inhibe etmesi ile açıklanabilmektedir. Japonlar D vitamini açısından zengin olan balıkla sıkça beslenmektedirler. Buna bağlı olarak Japon ırkında prostat kanseri görülme oranı daha düşüktür. Yüksek miktarda kalsiyum içerikli beslenen kişilerde D vitamini sentezi bozulmakta ve prostat kanseri riski artmaktadır [15].

Prostat kanseri epidemiyolojisinde önemli irksal ve etnik farklılıklar vardır [19]. Prostat kanseri görülme ve ölüm oranı İskandinav ülkelerinde yüksek iken Japon ırkında oldukça düşüktür [13], [20]. Afrikalı-Amerikalı erkekler dünyanın en yüksek prostat kanseri insidansına sahiptir ve beyazlarla karşılaştırıldığında ölüm oranı iki kat daha fazladır [19]. Bu irksal ve etnik farklılıkların sebebi henüz bilinmemektedir [1]. Ancak tümör biyolojisinde etnik farklılıkların; beslenme biçiminde, hormonal ve moleküler faktörlerde değişikliklere sebep olarak daha agresif tümör oluşumu ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir [19]. Testosteron ve onun temel metaboliti olan 5-dihidrotestosteron, prostat bezi gelişimini ve fonksiyonunu düzenleyen esas hormonlardır. Afrikalı-Amerikalı erkeklerin ise dolaşımdaki testosteron konsantrasyonu ise kısmen daha yüksek bulunmaktadır. Prostat kanseri, kastre edilmiş (kısırlaştırılmış) erkeklerde nadiren görülmektedir [8].

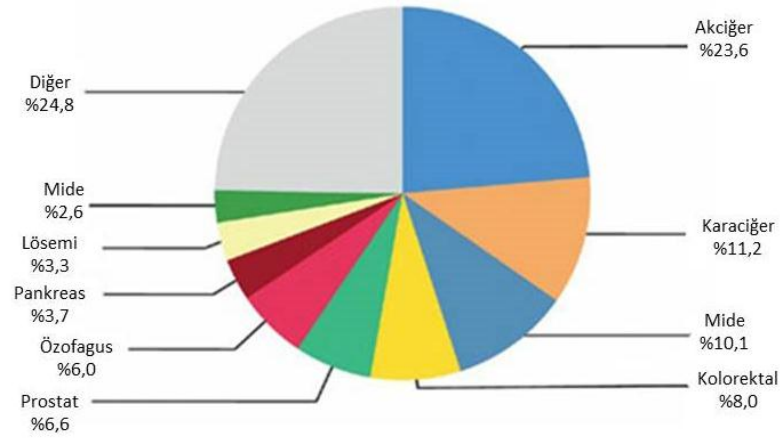
Prostat kanseri epidemiyolojisinde vazektomi, prostat iltihabı, çevresel (örneğin kadmiyuma maruz kalma) ve viral faktörler gibi diğer risk faktörleri de öne sürülmüştür. Bu risk faktörlerinin hiçbirisi henüz kanıtlanmamıştır [8].

1.1.1.2 Prostat Kanseri Epidemiyolojisi

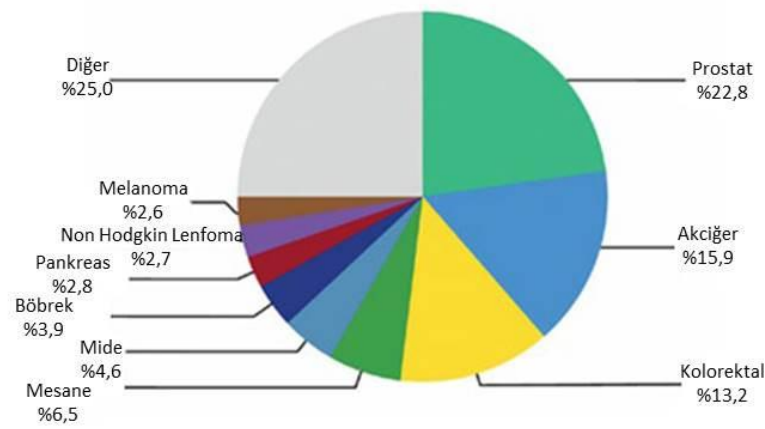
Dünya Sağlık Örgütü'ne bağlı IARC (International Agency for Research on Cancer) 2014'teki raporunda dünya genelinde en büyük ölüm sebebinin kanser olduğunu bildirmiştir [21]. Bu raporda GLOBOCAN'ın verilerine göre 2012 yılında dünya genelinde tahmini 14 milyon yeni kanser vakası ve 8.2 milyon kanser kaynaklı ölüm olduğu ifade edilmiştir. Bu rapora göre erkeklerde dünya genelinde en sık görülen ikinci kanser türü (Şekil 1.1) ve kanser kaynaklı ölümlerin beşinci sıradaki sebebi prostat kanseridir (Şekil 1.2). Avrupa genelinde ise, en sık görülen kanser türü prostat kanseri olup (Şekil 1.3) kanser kaynaklı ölümlerin üçüncü sıradaki sebebidir (Şekil 1.4) [21].



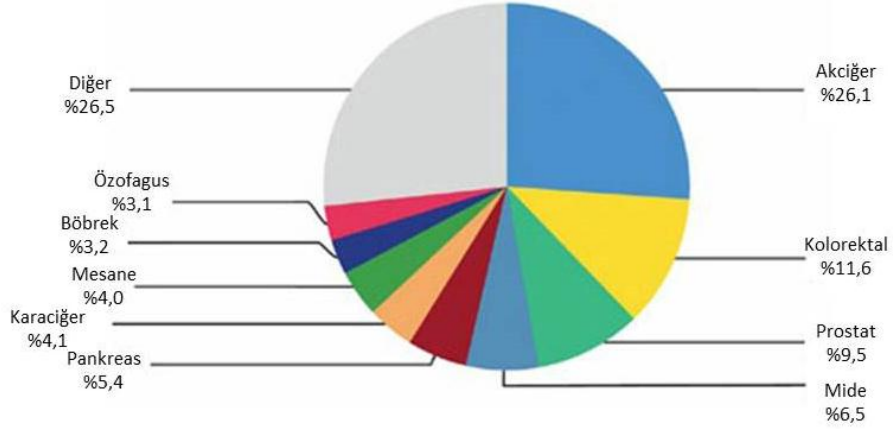
Şekil 1. 1 Erkeklerde dünya genelinde en sık görülen kanser türlerinin tahmini yüzdeleri [21]



Şekil 1. 2 Erkeklerde dünya genelinde görülen kanser kaynaklı ölümlerin tahmini yüzdeleri [21]



Şekil 1. 3 Erkeklerde Avrupa'da en sık görülen kanser türlerinin tahmini yüzdeleri [21]

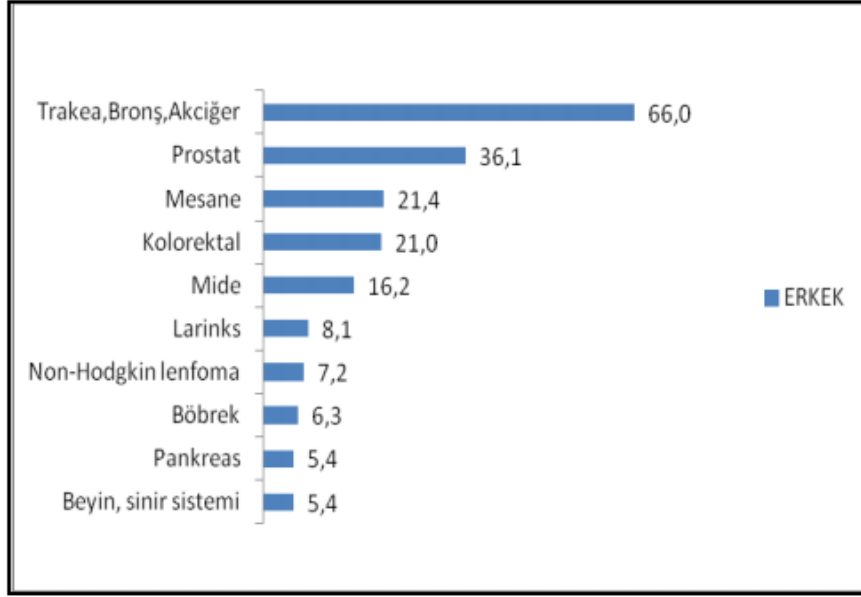


Şekil 1. 4 Erkeklerde Avrupa’da görülen kanser kaynaklı ölümlerin tahmini yüzdeleri [21]

Prostat kanseri görülme sıklığı ve mortalitesi ırklara ve dünya coğrafyasına göre değişen oranlarda olmakla beraber en sık siyah ırkta görülmektedir. Prostat kanserinin en az görüldüğü ülkeler Çin ve Japonya gibi Uzak doğu ülkeleridir [3] .

Türkiye’de kanser sıklığı, dünya ve dünyanın gelişmekte olan ülkeleriyle benzerlikler göstermektedir. Prostat kanseri, Türkiye’de erkekler arasında kanserlerden ölümlerin ikinci sıradaki sebebidir [22]. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu’nun 2004-2009 yılları “Türkiye Kanser İstatistikleri” raporuna göre prostat kanserinin görülme sıklığı akciğer kanserinden sonra ikinci sıradadır. 2009 yılı kanser istatistiklerine göre ülkemizde her yıl yaklaşık 98 bin erkek kansere yakalanmaktadır. Türkiye’de 2009 yılında yaşa standart kanser hızı erkeklerde yüz binde 269,7 iken prostat kanserinin cinsiyete göre yaşa standardize edilmiş hızı 36,1’dir (dünya standart nüfusu, 100.000 kişi) (Şekil 1.5) [23].

Dünyadaki insan popülasyonu gittikçe yaşlanan bir toplum haline gelmektedir. Yaşlanan toplumların bir sonucu olarak prostat kanseri insidansının yıllar içinde artacağı öngörülebilmektedir [3].



Şekil 1. 5 Türkiye’de erkeklerde en sık görülen ilk 10 kanser türünün yaşı göre standardize edilmiş hızlarının dağılımı [23]

1.1.2 Prostat Kanseri Tanı Yöntemleri ve Tanı ile İlgili Sorunlar

Prostat kanserli hastaları başarıyla tedavi etmek için, tümör gelişimini doğru bir şekilde gözlemlemek kadar hastalığı erken evrede tespit etmek de oldukça önemlidir [24]. Çünkü ilerlemiş prostat kanserinin tedavisi yoktur [3].

Prostat kanserinin tanısında kullanılan temel yöntemler dijital rektal inceleme (DRE=Dijital rektal examination), PSA serum konsantrasyonu taraması, transrektal ultrasonografi (TRUS) ve prostat biyopsilerinin patohistolojik analizidir [24], [25].

1.1.3 Dijital Rektal İnceleme

Prostat bezinin büyüklüğünü belirleyen ve prostat bezindeki nodül veya sertleşmeyi tespit eden ürolojik tetkiklerin temel kısmını oluşturmaktadır [8]. Bu yöntem prostat kanserlerinin lokal yayılımlarının değerlendirilmesinde ilk kullanılan yöntemdir. Ancak, prostat kanserlerinin az bir bölümünün palpabl (elle hissedilebilir) olması ve palpabl kanserlerin de bu aşamada prostat kapsülünü aşmış durumda bulunması, bu yöntemin önemli dezavantajlarını oluşturmaktadır [3]. Ayrıca dijital rektal inceleme tek başına kullanıldığında daha ileri tetkiklere ihtiyaç duyulabilmektedir [8].

1.1.3.1 Prostat Spesifik Antijen (PSA)

PSA, yalnızca prostat bezinin epitel hücreleri tarafından (normal ve kanserli hücreler) üretilen kallikrein benzeri bir serin proteazdır [1], [25]. PSA daha çok semende bulunmasına rağmen daha az miktarda kanda da bulunmaktadır. Sağlıklı erkeklerin çoğunda kandaki PSA miktarı mililitrede 4 nanogramın altındadır [1]. Normal prostat hücreleri ile prostat kanseri hücreleri kıyaslandığında, kanserli hücrelerin daha fazla PSA üretimine sebep olmadığı bilinmektedir. Prostat kanserli hastalardaki yüksek PSA düzeyleri daha çok hastalığın gelişimi ve prostat histolojisindeki bozulmadan kaynaklanmaktadır [15].

PSA yüksekliği prostat hastalığını göstermektedir ancak prostat hastalığı olan herkesin serum PSA değerleri yüksek olmadığı gibi PSA yüksekliği kansere özgü değildir [3]. Örneğin yüksek PSA (>4.0 ng/ml) aynı zamanda prostatit ve BPH olgularında da gözlemlenebilir. Serum PSA düzeyinin 4.0-10.0 ng/ml olduğu durumlarda prostat kanseri ve BPH olgularında önemli örtüşmeler vardır. PSA düzeyleri 4-10 ng/ml arasında olan hastaların ancak %25'inde prostat kanserine rastlanmaktadır ve bu durumda PSA'nın özgüllüğü azalmakta ve gereksiz biyopsilere neden olmaktadır [26].

Sonuç olarak PSA hem normal hem de kanserli prostat hücrelerinden salındığı için prostat kanserine özgül bir belirleyici değildir [15]. Bu nedenle, prostat kanserinin kesin tanısı ancak prostat biyopsisi ile yapılabilmektedir. Biyopsi gerekliliğine karar vermek ise PSA'nın serum düzeyleri ile ilişkilidir [26]. Birçok Avrupa ülkesinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 4 ng/ml'nin üzerindeki PSA değerleri anormal olarak kabul edilmekte ve hastalar prostat biyopsisine yönlendirilmektedir. Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (National Comprehensive Cancer Network-NCCN) kılavuzuna göre PSA değeri 2.5 ng/ml'nin üzerindeki erkeklere prostat biyopsisi yapılması önerilirken, Avrupa Üroloji kılavuzlarında bir öneride bulunabilmek için daha fazla veri toplama gerekliliği ifade edilmektedir. Ülkemizde pratikte PSA'nın 2,5 ng/ml seviyesinin üzerinde olması durumunda prostat biyopsisi önerilmektedir [15].

1.1.3.2 Transrektal Ultrasonografi ve Biyopsi

Prostat kanseri tanısında en sık kullanılan görüntüleme yöntemi transrektal ultrasonografidir. Bununla birlikte, TRUS'nin prostat kanserini saptamadaki duyarlılık ve özgüllüğü yüksek değildir [27]. Prostat kanserinin erken evrede görüntülenmesine olanak sağlamamaktadır [1]. TRUS'nin tanıda en yaygın kabul edilen rolü, hastalığın tanısı için altın standart yöntem olan sistematik prostat biyopsisine kılavuzluk yapmasıdır [28].

Bununla beraber TRUS, dijital rektal inceleme ya da PSA testlerinden hiçbir hastalığı tanımda yeterince güvenilir değildir [28].

Prostat kanserinin tanısında kullanılmak üzere human kallikrein 2 (hK2), ürokinaz-tip plazminojen aktivatör reseptörü, GSTP-1 hipermetilasyonu gibi daha spesifik ve duyarlı testlerin bulunması için yeni moleküler çalışmalar denenmektedir. Fakat henüz bu testlerin önemini tanımlayan çalışmalar bulunmamaktadır [8]. İlave olarak prostat kanserinde etkinliği tam olarak tanımlanmış bir biyomarker bulunmamaktadır [24].

1.1.4 Prostat Kanseri Evreleme ve Derecelendirme Sistemleri

1.1.4.1 Prostat Kanseri Evreleme

Prostat kanseri evrelemesinde ilk olarak Whitmore-Jewett sistemi kullanılmıştır. Bu sistem 1956 yılında Whitmore tarafından önerilmiştir [29]. Whitmore-Jewett sistemi ABCD harflerinin kullanıldığı bir evreleme sistemidir. A ve B harfleri kanserin prostatla sınırlı olduğunu ifade etmektedir. C harfi prostat çevresinde kanser oluşumu olduğunu ifade etmektedir ancak lenf nodlarına ya da vücudun bir başka yerine metastaz yapmamıştır. D harfi ise kanserin lenf nodlarına veya vücudun bir başka yerine yayıldığını belirtmektedir [30].

Daha sonraki yıllarda prostat kanseri evrelendirmesi Amerikan Kanser Birliği (AJCC) tarafından belirlenen TNM sınıflandırması ile yapılmaya başlanmıştır. TNM, tümör (T), nodül (N) ve metastazın (M) kısaltmasıdır. Bu sistemde tümörün kendisi, tümörün etrafındaki lenf nodları ve tümörün vücudun diğer kısımlarına yayılıp yayılmadığı değerlendirilmektedir. Bu sistemde I'den IV'e kadar dört evre vardır. Her bir hasta için

kanser evresini belirlemek üzere sonuçlar birleştirilerek değerlendirme yapılmaktadır [31].

Ülkemizde prostat kanserinin evrelemesinde TNM sistemi kullanılmaktadır [15].

1.1.4.2 Prostat Kanseri Derecelendirme

Prostat kanserinde, evrelendirmeye ek olarak kanserin ne oranda tehlikeli olduğunu belirlemek için prostat bezinin glandüler yapısının mikroskopik olarak görüntülenmesi temeline dayanan Gleason derecelendirme sistemi kullanılır [8]. Gleason derecelendirme sistemi ile prostat kanserinin her bir bölgesinde iki derecelendirme yapılır. En yaygın olarak görülen farklılaşma primer pattern olarak, ikinci sıklıkla görülen farklılaşma da sekonder pattern olarak verilir. Tümör farklılaşması en iyiden en kötüye doğru 1'den 5'e kadar derecelendirilir. Tümörün histolojik derecesi iki histolojik patternin (1'den 5'e) toplanmasıyla skorlanarak (2'den 10'a) elde edilir [32]. Derecelendirmeler glandüler farklılaşma derecesini göstermektedir [8].

Gleason skoru 6 veya daha düşük olan kanserler düşük dereceli veya iyi diferansiye, Gleason skoru 7 olan kanserler orta dereceli veya orta diferansiye ve Gleason skoru 8-10 olan kanserler yüksek dereceli veya kötü diferansiye kanserler olarak adlandırılır [1]. Gleason skoru yüksek olan (8-10) olan tümörler oldukça agresif iken, Gleason skoru düşük olan (<5) prostat kanserleri minimal düzeyde agresif davranış gösterirler. Ne yazık ki, orta dereceli Gleason skoru olan tümörler klinik agresiflikleri açısından belirsizdir. Tümörlerin büyük bir çoğunluğu (%76) orta dereceli Gleason skoru olan tümörler sınıfına girdiği için agresifliğin belirlenmesi ile ilgili bu sınırlama önem taşımaktadır. Bu nedenle, prostat kanserlerinin büyük bir çoğunluğunun histolojiye dayalı olarak biyolojik potansiyellerinin belirlenmesi problem teşkil etmektedir [33].

1.1.5 Prostat Kanseri Genetiği

Prostat kanseri ailesel, herediter ve sporadik olabilmektedir. Ailesel prostat kanseri bir aile içinde birden fazla olgu oluşumunu (kümelenme) ifade etmekte ve genel popülasyonda hastalığın tüm vakalarının %20'sini oluşturmaktadır. Ailesel prostat kanseri genellikle iki birinci derece (babası, kardeşi, oğlu) akraba veya bir birinci derece

ve en az iki ikinci derece (dedesi, amcası, yeğeni) akrabasının prostat kanseri olduğu bir aile olarak tanımlanmaktadır [34]. Ailesel prostat kanserinin nedeni prostat kanserine yatkınlık genlerindeki kalıtım olabileceği gibi, ortak çevresel faktörlere maruz kalma veya bu hastalığın yüksek insidansından dolayı hastalığa yakalanmadaki şans faktörü de olabilmektedir [35]. Ailesel prostat kanserinin ilk kez 1956 yılında bildirilmesinin ardından ailesel risk faktörü üzerine çok sayıda epidemiyolojik çalışma yapılmıştır ve prostat kanseri olan kişinin erkek kardeşleri ve oğullarında bu hastalığa yakalanma riskinin arttığı gösterilmiştir [36].

Ailesel ve herediter terimleri genetik yatkınlık nedeniyle prostat kanseri için yüksek risk olduğu anlamına gelmektedir fakat sinonim değildir. Herediter prostat kanseri tanısı, hastalığın başlangıcının erken yaşlarda olmasını (55 yaşından önce) ve yüksek penetrant nadir yatkınlık geni kalıtımı ile üç ya da daha fazla aile üyesine prostat kanseri tanısı konulmuş olmasını içermektedir [34]. Herediter prostat kanserinde otozomal dominant [37], X'e bağlı veya otozomal resesif [38] kalıtsal aktarımın olduğu bildirilmiştir. Ailesel prostat kanserinde ise Mendel kurallarına uygun kalıtım olması gerekli değildir [34].

Çoğu prostat kanseri sporadiktir. Artan prostat kanseri riski ile ilişkili polimorfizmler, somatik genetik değişiklikler, androjen reseptörü ve büyüme faktörü gibi prostat kanseri gelişimi ile ilgili faktörler, invazyon ve metastaz genleri sporadik prostat kanserinin ortaya çıkmasında etkilidirler [39]. Sporadik prostat kanseri riskine etki eden çok sayıda gen olmasına rağmen, çoğu güncel çalışma ilgili gen varyantlarını tanımlamak için tek gen yaklaşımı üzerine kurulmaktadır [40].

1.1.5.1 Prostat Kanseri ile İlişkili Kromozomlar ve Aday Genler

1q24-25 kromozomu üzerinde yer alan herediter prostat kanseri geni 1 (HPC1:hereditary prostate cancer 1) ilk bildirilen prostat kanseri yatkınlık lokusudur. HPC1 prostat kanseri için büyük risk taşıyan Kuzey Amerikalı ve İsveçli 91 ailenin bağlantı analizi ile tanımlanmıştır [41], [42]. Bu ailelerdeki prostat kanserinin yaklaşık %34'ünün HPC1'de germline mutasyonuna sahip olduğu ve bu hastalara tanı konulduğunda erken yaşlarda daha agresif seyreden ve ilerlemiş hastalığa sahip oldukları tahmin edilmektedir [42]. 2002 yılında bu bölgede, RNASEL, prostat kanseri

yatkınlık geni olarak tanımlanmıştır [43], [44]. Bunu PCAP, 1q42.2-43 [45], HPCX, Xq27-28 [46], CAPB, 1p36 [47], HPC20, 20q13 [48] ve HPC2/ELAC2 17p'deki [49] lokuslar takip etmiştir [16]. Bunun yanı sıra, 12q23'te [50] bir yatkınlık lokusu ve 1p13'te HSD3B yatkınlık lokusu [51] tanımlanmıştır. Bazı çalışmalarda MSR1 geni [52], NBS1 geni [53] ve CHEK2 geni [54] herediter prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir.

Prostat kanseri gelişimi, ilerlemesi ve androjen-bağımsız fenotiplerin ortaya çıkmasında rol oynayan çeşitli tümör baskılayıcı genler tanımlanmıştır. Bu tümör baskılayıcı genler; P53 geni, PTEN, CDKN1B (p27), MX₁₁, NKX_{3.1}, retinoblastoma (Rb) geni, glutatyon S-transferaz geni (GSTP1), Kruppel like factor 6 (KLF6), CDKN_{2A} (p16), ATRF₁, anneksinlerdir [55]. p53 geni insan kanserlerindeki en fazla mutasyona uğrayan genidir. Prostat kanserinin ilk evrelerinde p53 geni mutasyonlarının düşük oranda olduğu tanımlanmıştır (%10-20). Ancak, hastalığın ilerleyen evrelerinde vakaların %42'sinde p53 geni mutasyona uğramakta [56] ve kemik metastazı ve androjen-bağımsız hastalık ile ilişkilendirilmektedir [55].

Onkogenler genetik hasar sonucu proto-onkogenlerden oluşmaktadır. Proto-onkogenler hücrelerin normal büyüme ve proliferasyonunda yer almaktadır. Proto-onkogenlerde genetik bir değişiklik olması durumunda (mutasyon, delesyon vb.) anormal hücre büyümesi ve onkogenik özelliklerin oluşmasına sebep olan yeni fonksiyonlar kazanırlar [55]. C-MYC, c-ErbB2 (Her-2 neu), Bcl-2, PSCA (Prostate Stem Cell Antigen), ERG ve ETV1, hepsin, PIM1, AMACR (A-Methyl Coenzyme A Racemase), AR (Androgen Receptor), CYP17, SRD5A2, CYP3A4, VDR (Vitamin D receptor), büyüme faktörleri, c-Kit/tirozin kinaz reseptörü ve STAT5 gibi onkogenlerin prostat kanserinde rol oynadığı bulunmuştur [55].

1.1.6 Genetik Polimorfizm

İnsan genomundaki baz diziliminin %99.9'unun tüm insanlarda aynı olduğu bilinmektedir. İnsanlar arasındaki varyasyonun yani çeşitliliğin genetik kökeni baz dizilimindeki %0.1'lik farklılık ile açıklanmaktadır. İnsanlardaki %0.1'lik farklılık yani değişiklik bir insanı diğerinden eşsiz kılar. Bu değişikliklerin bir kısmı fenotipteki değişiklikler olup zararsızdırlar. Diyabet, kanser, kalp hastalığı ve kansızlık gibi hastalıklara yol açan değişiklikler zararlı değişikliklerdir. Kodlanan ve düzenleyici

bölgelerde bulunan bazı değişiklikler ise gizli değişikliklerdir ve bulundukları kişiye zarar vermezler [57].

Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir [58]. Birçok gen lokusunda iki ya da daha fazla allel yer alabilir. Normal bir populasyonda bir karakter için farklı allellere bağlı olarak iki veya daha fazla fenotip bulunuyorsa ve fenotiplerden her biri populasyonda %1'den daha büyük sıklıkla görülüyorsa bu duruma genetik polimorfizm, bulunma sıklığı %1'den daha az olursa genetik mutasyon adı verilmektedir [59].

Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşenlerinin farklı formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm) veya DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde görülmektedir [60].

DNA polimorfizmleri; mutasyon sonucu ortaya çıkmakta, Mendel kurallarına göre aktarılmakta ve genlerin protein kodlayan ve kodlamayan bölgelerinde meydana gelebilmektedir. DNA polimorfizmleri tek nükleotid polimorfizmi (SNP: single nucleotide polymorphism), restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP: restriction fragment length polymorphism), minisatellit (VNTR: variable number of tandem repeats), mikrosatellit (STR: short tandem repeats) olmak üzere 4 grup altında değerlendirilmektedir [61], [62].

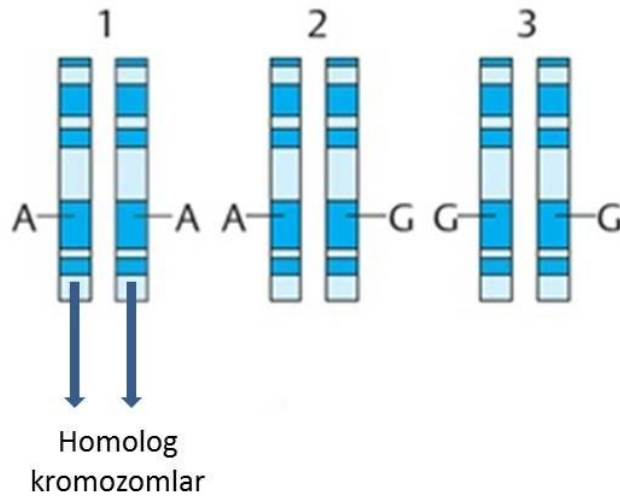
Tek nükleotid polimorfizmleri insan genomundaki en basit ve en yaygın genetik polimorfizm kaynağıdır. Tüm insan DNA polimorfizmlerinin %90'ını kapsamaktadır [63].

1.1.6.1 Tek Nükleotid Polimorfizmleri

Tek nükleotid polimorfizmi, genomun herhangi bir bölgesinde bulunan tek nükleotid dizilim farklılıklarıdır [64].

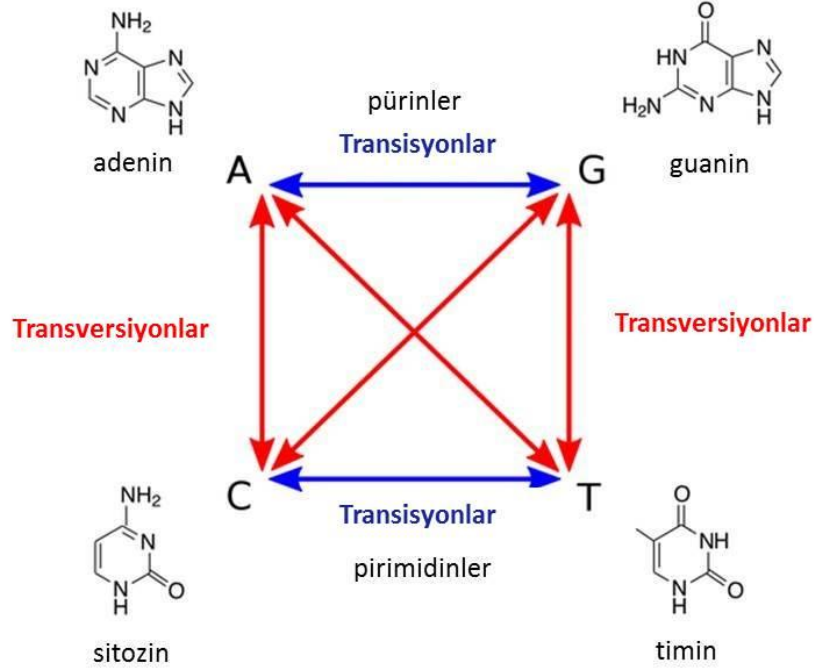
SNP'ler genellikle iki allel içermektedir. Yani bir populasyonda bir SNP bölgesi için çoğunlukla iki baz-çifti (allel) olasılığı bulunmaktadır. Bu nedenle 3 farklı olası genotipten söz edilmektedir (Şekil 1.6). Tek nükleotid düzeyindeki varyasyon allel frekansı ile açıklanmaktadır. SNP frekansı, minör allel frekansı veya daha az yaygın olan allel frekansı cinsinden verilmektedir. Örneğin, minör allel (G) frekansı 0.40 olan bir

SNP için, popülasyonda %60 oranında bulunan yaygın (majör) allel karşısında popülasyonun %40'ının G alleleline sahip olduğu anlaşılmaktadır [65].



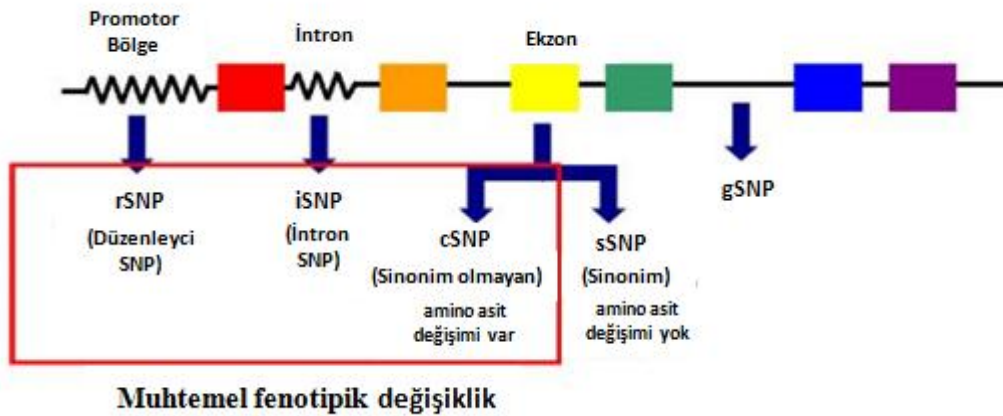
Şekil 1. 6 Tek nükleotid polimorfizmi genotipleri [60]

Tek nükleotid polimorfizminin bazı alt grupları vardır. Bunlar transisyonlar ve transversiyonlardır. Transisyon, DNA dizisindeki bir pürin bazının (A, G) diğer bir pürin bazına veya bir pirimidin bazının (T, C) diğer bir pirimidin bazına dönüşmesi ile gerçekleşmektedir. Transversiyonda dizi içindeki bir pürin bazının (A, G) bir pirimidin bazına (T, C) veya bir pirimidin bazının bir pürin bazına dönüşmesi söz konusudur [59]. Şekil 1.7'de görüldüğü gibi transversiyonun farklı biçimlerinin sayısı transisyonun sayısından iki kat fazladır. Buna rağmen transisyon sıklığı transversiyon sıklığından daha yüksektir. İnsan genomundaki SNP'lerin %25'ini G>A ve C>T transisyonları oluşturmaktadır [57].



Şekil 1. 7 Transversiyon ve transisyonlar [66]

SNP'ler genomik DNA'nın yapısal elementleri ve fonksiyonel özelliklerine göre birkaç farklı sınıfa ayrılmaktadır. SNP'ler genlerin kodlanan dizilerinde (ekzon SNP=eSNP), genlerin kodlanmayan bölgesinde (intron SNP=iSNP ve promotor SNP=pSNP) veya genler arası bölgelerde (intergenic SNP=gSNP) yer almaktadır [57],[67]. Gen ifadesini kontrol eden düzenleyici bölgede bulunan SNP'ler düzenleyici SNP (rSNP) olarak adlandırılmaktadır. Düzenleyici SNP'ler promotor SNP'leri ve bazı intron SNP'leri de kapsamaktadır (Şekil 1.8) [57].



Şekil 1. 8 Gendeki pozisyonuna bağlı olarak farklı SNP çeşitleri [57].

Düzenleyici bölgedeki SNP'ler gen ifadesini ve gen ürün düzeyini etkileyebilmektedir. İntronik bölgedeki SNP'ler protein yapısını etkilemezler. Fakat bazı SNP'ler splay varyantlarının üretimini etkileyebilmektedir [68]. Kodlanan bölgede bulunan bir SNP, elde edilen proteinde iki farklı etkiye sebep olabilir. Sinonim (Synonymous) SNP'ler (sSNP) üretilen proteinde amino asit değişimine sebep olmamaktadır. Bu durum aynı zamanda sessiz mutasyon olarak da adlandırılmaktadır [69]. Sinonim olmayan (non-Synonymous) SNP'ler (cSNP) amino asit değişimine neden olur ve insan popülasyonundaki kodlanan proteinlerin fonksiyonel çeşitliliği için önemli bir faktördür [70], [71].

SNP'ler fonksiyonel etkisi hakkındaki verilerin varlığına dayanarak 3 gruba ayrılmaktadır. Fonksiyonel etkisi bilinmeyen SNP'ler anonim SNP, muhtemelen bir fonksiyonel etkiye sahip olanlar aday (candidate) SNP, protein fonksiyonunda ve ekspresyonunda bir değişime neden olan SNP'ler ise protein SNP'leri olarak adlandırılır [57].

SNP teknolojilerinin farklı uygulama alanlarına gen keşfi ve haritalanması, ilişkilendirme temelli aday polimorfizm testleri, tanı ve risk profillerinin oluşturulması, çevresel uyarılara, ksenobiyotiklere ve diyetle karşı cevabın tahmin edilmesi (öngörülmesi), homojenite testi ve epidemiyolojik çalışma dizaynı ve fizyolojik genomik örnek olarak verilebilmektedir [72].

1.1.6.2 Tek Nükleotid Polimorfizmleri ile Prostat Kanserinin İlişkilendirilmesi

SNP'ler insan genomunda yaklaşık olarak her 200-300 baz çiftinde bir bulunmaktadır. Genom yaklaşık 3 milyar baz çifti içerdiğinden genomda 10-15 milyon SNP bulunduğu tahmin edilmektedir. SNP sıklığı tüm genom boyunca eşit aralıklı ise, bu durum tahmini 30,000 insan geninde yaklaşık olarak 300,000-600,000 SNP bulunduğu anlamına gelmektedir [73].

İnsan popülasyonları arasında farklılıklar bulunmaktadır, bu nedenle bir coğrafik ya da etnik grupta yaygın olan bir SNP alleli bir diğerinde daha nadir olabilmektedir. Bazı SNP'ler belirli bir popülasyona özgüdür [74]. SNP'lerin biyolojik etkisi bazı durumlarda bir ya da daha fazla hastalığa yatkınlığı arttırabilmektedir. Hastalığa yatkınlık ve hastalığın ortaya çıkması üzerinde etkili olan SNP'lerin tanımlanması hasta ve

kontrollerde SNP'lerin genotiplenmesi ve frekans farklılıklarının araştırılması ile başarılmaktadır [75]. SNP'lerin ilaç yanıtına olan çeşitlilikte de payının olduğu bilinmektedir [76]. Sonuç olarak, SNP'ler benzer koşullarda bulunan bireylerden bazılarının daha sağlıklı bazılarının ise hastalığa yatkın olmasına, aynı hastalığın seyrinin bireyler arasında farklılık göstermesine ve bazı bireylerin tedaviye olumlu yanıt verirken, diğerlerinin vermemesine büyük oranda açıklık getirmektedir [77].

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile 1q21, 2p15, 3q21, 4q13, 5p15, 6q25, 7q21, 8q24, 10q11, 11q13, 15q21, 17q12, 17q24, 19q13, 22q13 ve Xp11 kromozomlarında risk lokuslarının varlığı tespit edilmiştir [78]. Yapılan birçok çalışmada bu lokuslarda bulunan SNP'lerin prostat kanseri ile ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir [79], [80], [81], [82], [83], [84], [85], [86], [87], [88], [89], [90], [91].

Toplumumuzda yapılan bazı çalışmalarda polimorfizmler ile prostat kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda genotipleme yöntemi olarak PCR-RFLP seçilmiştir. 2008 yılında yapılan bir çalışmada VDR geninde (Vitamin D reseptörü) rs7975232, rs1544410 ve rs731236 polimorfizmlerinin prostat kanseri gelişimi ve ilerleyişindeki rolü araştırılmış olup rs7975232'nin sporadik prostat kanseri gelişiminde rol oynayabileceği bildirilmiştir [92]. 2010 yılında NAT2 (N-asetiltransferaz 2) geninde yer alan rs1799930 ve rs1799931 polimorfizmlerinin prostat kanseri ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur [93]. 2011 yılında yapılan bir diğer çalışmada, AXIN2 geninde yer alan yedi polimorfizmin prostat kanseri riski üzerine etkisi araştırılmış olup rs35285779 polimorfizminin koruyucu bir SNP olarak prostat kanseri gelişimi ile ilişkili olabileceği önerilmiştir [94]. 2014 yılında, MMP-2 (Matriks metalloproteinaz) rs2423865 ve TIMP-2 (Metalloproteinaz doku inhibitörü) rs8179090 polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkisi araştırılmıştır ve TIMP-2 rs8179090 (GC) genotipinin prostat kanserine karşı koruyucu etkisinin olabileceği bildirilmiştir [95].

Yaptığımız literatür araştırmasına göre, bu tez çalışmasına dahil edilen ve farklı toplumlarda çalışılmış olan SNP'lerin toplumumuzda daha önce çalışılmadığı tespit edilmiştir.

1.1.7 SNP Genotipleme

SNP genotipleme yöntemleri, hibridizasyon, allel-spesifik PCR, primer uzama, oligonükleotid ligasyonu ve endonükleaz kesimi olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır. Bu yöntemlerin her birinin avantaj ve dezavantajları Çizelge 1.1’de gösterilmiştir [96]. Başlıca allel tespit etme yöntemleri, fluoressans, kemiluminesans ve bu tez çalışmasında uygulanan kütle spektrometrisidir [97].

Çizelge 1. 1 SNP genotipleme yöntemlerinin özellikleri [96].

Yöntemler	Avantajları	Dezavantajları
Hibridizasyon	Yaygın olarak kullanılır, çoklu örnekte çalışılabilir, işaretleme yöntemi ucuzdur, assay basittir.	Genotip ayrımı sınırlıdır, hata oranı yüksektir, problemler pahalıdır.
Allel spesifik PCR	Real time PCR gerçekleştirilir, işaretleme yöntemi ucuzdur, assay basittir.	Optimizasyon gerektirir, spesifik olmayan ürünler belirlenemez, primerler ve problemler pahalıdır.
Primer uzama	Hassas genotipleme gerçekleştirir, işaretleme yöntemi gerektirmez, çoklu örnekle çalışılabilir.	PCR’a benzer bileşenler bulunur, ekipmanlar pahalıdır.
Oligonükleotid ligasyonu	Assay farklı şekillerde gerçekleştirilebilir, çoklu örnekle çalışılabilir.	Çoklu işaretlenmiş problemler gerektirir, problemler pahalıdır.
Endonükleaz kesimi	Pahalı değildir, ekipman gerektirmez.	Yüksek işlem hacmine uygun değildir.

SNP genotipleme her genetik ilişkilendirme çalışmasının önemli bir parçasıdır ve uygun genotipleme yönteminin seçilmesi çalışmanın başarısı için oldukça önem taşımaktadır [98].

Yaygın olarak kullanılan ve ticari olarak elde edilebilen sekiz genotipleme assayi bulunmaktadır. Bunlar TaqMan, SNPstream, SNPlex, hME/iPLEX, MIP, GeneChip, Goldengate, Infinium I ve II’dir (Çizelge 1.2) [99].

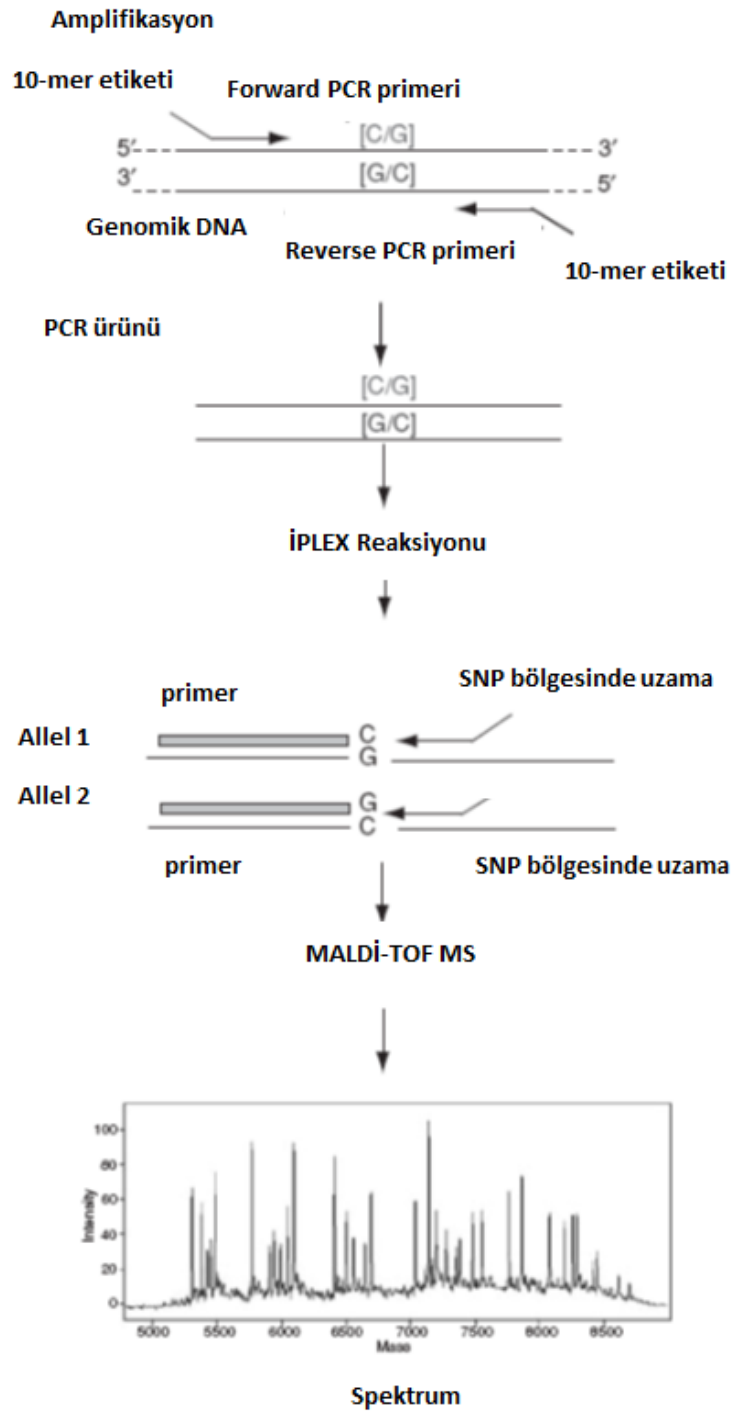
Çizelge 1. 2 Ticari olarak elde edilen genotiplleme assayleri [99]

	Assay Tipi	Teknolojinin temeli	Avantaj	Dezavantaj
TaqMan	5' ekzonükleaz/ PCR	TaqMan problemleri	Basitlik, Yüksek örnek işlem hacmi	Tek plex , Pahalı assaylar
hME/iPLEX	Primer uzama	MALDI-TOF kütle spektrometrisi	Düşük assay maliyeti, Yüksek örnek işlem hacmi	Yoğun bakım gerektiren ekipmanlar
SNPstream	Primer uzama	Tag array	Çoklu assaylar, Yüksek örnek işlem hacmi	Düşük multipleks, Multiplekste kısıtlama
SNPlex	OLA/PCR	Kapiler elektroforez	48 plexe kadar çıkılabilir, Yüksek örnek işlem hacmi	Karmaşık reaksiyon hazırlama
Goldengate	Primer uzama/ ligasyon	Bead array	Orta-yüksek multipleks, Yüksek geçiş oranı ve kesinlik, orta örnek işlem hacmi	Düşük plexler (384- 96) , Pahalı
MIP	Padlockproblemleri/ OLA	Tag array	Uygun maliyetli , Çok yüksek multipleks assay	Karmaşık reaksiyon hazırlama, Düşük örnek işlem hacmi
GeneChip	Hibridizasyon	Oligonükleotid array	Ultra-yüksek multipleks (100- 500 K) , Çok uygun maliyetli, nicel analiz araçları	Örnek başına iki çip gerektirir
Infinium I ve II	Hibridizasyon/ Primer uzama ve ligasyon	Bead array	Ultra-yüksek multipleks, Yüksek geçiş oranı ve kesinlik	Nicel analizler tartışmaya açıktır

Bu tez çalışmasında iPLEX genotiplleme yöntemi seçilmiştir (Sequenom Inc.). Bunun temel sebepleri, yöntemin multipleks reaksiyonlara olanak sağlaması, verilerin kısa sürede %99,7'den daha yüksek bir kesinlikte elde edilmesi, bir SNP'nin analizi için düşük maliyet gerektirmesi ve Türkiye'de bulunabilirliğidir.

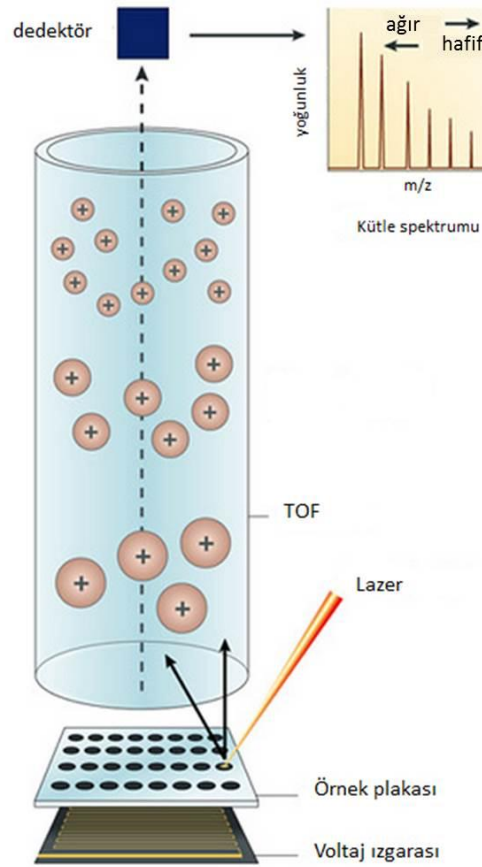
Bu teknikte SNP içeren genom bölgeleri spesifik primerler kullanılarak PCR aracılığıyla çoğaltılır. Ürünler kalıp olarak kullanılarak daha sonra tek baz uzama reaksiyonuna (iPLEX reaksiyonu) maruz bırakılır. Bir tespit edici primer 3' ucundaki nükleik asit sekansına yapışır. Daha sonra bu primer ddNTP içeren tek bir baz tarafından uzatılır [57]. Burada, polimorfik bölgeyi içeren PCR ürünü kalıp görevi yapmaktadır ve primerin 3' ucu allelik bazdan meydana gelmektedir. Sadece 3' bazın hedef DNA'da bulunan allele komplementer olması durumunda primer uzatılır. Primer uzama olayının izlenmesi DNA örneğinde bulunan allelin anlaşılmasına izin verir [100], [101]. Matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi

(MS: Mass Spectrometry) ile allellerin kütle esaslı tespit edilmesi gerçekleştirilir (Şekil 1.9).



Şekil 1. 9 iPLEX reaksiyon basamakları şeması [102]

MALDI-TOF MS oligonükleotid, peptid, protein ve oligosakkarit gibi çeşitli biyomoleküllerin kütle analizi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir [97]. DNA'nın kütle spektrometrisi ile analizi yumuşak iyonizasyon gerektirir (örneğin; fermentasyon olmadan) ve genellikle matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanlı (MALDI-TOF) analizi ile gerçekleştirilir. MALDI yöntemi allel spesifik ürünlerin bir matriks bileşeni ile metal bir plaka üzerinde karışımını içermektedir. Karışım daha sonra güçlü bir potansiyel farkı uygulaması ile iyonizasyonun gerçekleştiği gaz fazına geçmesine sebep olan kısa bir lazer atışı ile ısıtılır. İyonlar dedektöre doğru hızlandırılır ve kütle/yük oranının hesaplanmasına izin veren uçuş zamanı (dedektöre ulaşma zamanı alınarak) ölçülür [103] (Şekil 1.10). Genellikle, matriks ile iyonizasyon esnasında spektral analizi kolaylaştıran tek yüklü iyonlar üretilir. MALDI-TOF MS yönteminde, çok sayıda oligonükleotidin karışımı hızlıca ayrıştırılabilir ve florofor gibi spesifik tespit etme etiketi olmadan da doğru bir şekilde analiz edilebilir [97], [104]. Bu nedenle MALDI-TOF MS çeşitli SNP genotipleme yöntemlerinde kullanılmaktadır [97].



Şekil 1. 10 MALDI-TOF reaksiyon şeması ve spektrum görüntüsü [105]

1.2 Tezin Amacı

Farklı toplumlarda hastalık risk allellerinin de farklı olduğu bilinmektedir, bu nedenle her toplumun SNP profilleri ayrı ayrı tanımlanmalıdır. Bu tez çalışmasının amacı, daha önce farklı toplumlarda prostat kanseri ile ilişkilendirilmiş olan SNP allellerinin toplumumuzdaki dağılımının tespit edilerek prostat kanserine yatkınlığı olan kişilerin genetik olarak belirlenmesi ve tek nükleotid polimorfizmleri ile prostat kanserinin ilişkilendirilmesidir.

Bu tez çalışmasının bir diğer amacı, çok sayıda SNP'nin kısa sürede, çoklu örnekte ve nispeten düşük maliyet ile standart koşullarda analiz edilmesinin önünü açmaktır.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında, toplumumuzda prostat kanseri ve tek nükleotid polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılarak SNP'ler ile prostat kanserinin ilişkilendirilmesi durumunda; elde edilen sonuçların, hastalık ortaya çıkmadan önce risk faktörlerini tespit etmede bir biyomarkır olarak kullanılabileceğinin belirlenmesi durumunda, toplumumuzda "Prostat kanseri risk tahmin paneli" tasarlanmasının önünü açacağı öngörülmektedir.

MATERYAL ve YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışma Populasyonu

Bu çalışmaya Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği'ne başvuran kişilerden prostat kanseri hasta grubu olarak klinik veya histopatolojik olarak prostat kanseri tanısı almış 85 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak prostat kanseri olmadığı bilinen 90 birey çalışmaya alınmıştır.

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan toplam 175 kişiden kan örneklerinin alınabilmesi için Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin 2012/13/10 nolu kararı ile 24.09.2012 tarihinde etik kurul onayı (EK-A) alınmıştır. Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden kan örneği alınmadan önce çalışma hakkında bilgi veren asgari bilgilendirilmiş gönüllü olur formu (EK-B) ile bireylerin onamı alınmıştır. Ayrıca örnek alınan hastalardan prostat kanseri ile ilişkili olabilecek diğer durumların belirlenebilmesi amacıyla hasta bilgi formu doldurtularak bilgi alınmıştır (EK-C).

2.1.2 Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması

DNA izolasyonları yapılmak üzere hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden EDTA'lı tüplere periferik kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri numune taşıma çantası ile soğukta muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir. Kan örnekleri alındıktan sonra bekletilmeden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyonu tamamlanan örneklerin saflığı ve DNA miktarı tayin edilerek çalışmaya uygunluğu kontrol edilmiştir.

2.1.3 Kimyasal Maddeler, Enzimler ve Kitler

Kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapmak amacıyla kullanılan kandan DNA izolasyon kiti (Invisorb Spin Blood Mini Kit, Cat no#: 1031100300) Invitex'ten temin edilmiştir. Multipleks PCR'da kullanılan ve içerisinde dNTP karışımı, 10X PCR Tamponu ve $MgCl_2$ içeren PCR seti Sequenom Inc.'den temin edilmiştir. Reaksiyonda kullanılan PCR enzimi Roche'dan temin edilmiştir.

PCR sonrası temizleme reaksiyonunda (SAP reaksiyonu) kullanılan shrimp alkalin fosfataz enzimi ve tampon çözeltisi, tek baz spesifik uzama reaksiyonunda kullanılan iPLEX enzim, 10X iPLEX tampon çözeltisi, iPLEX terminasyon karışımı ve rezin ile temizleme aşamasında kullanılan SpectroCLEAN rezin Sequenom Inc.'den temin edilmiştir. Tüm aşamalarda kullanılan ultrasaf distile su Invitrogen'den temin edilmiştir.

2.1.4 Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Emniyet kabini-Nüve, mini santrifüj/vorteks-BIOSAN, santrifüj-Beckman Coulter, mikrosantrifüj-Beckman Coulter, termal çalkalayıcı-BIOSAN, mikro-hacim UV-Vis spektrofotometre-Thermo, termal döngüleyici-BIO-RAD, döner çalkalayıcı-Scientific Industries, MassArray Nanodispenser- Sequenom Inc., MassArray Analyser-Sequenom Inc.

2.1.5 SNP ve Primerler

Bu tez çalışmasında genotiplenen 67 SNP'ye ait rs (referans SNP) numaraları, multipleks PCR'da kullanılan forward ve reverse primerler, polimorfik bölgeyi içeren ampikon uzunluğu ve tek baz spesifik uzama reaksiyonunda kullanılan uzama problemleri Çizelge 2.1'de verilmiştir. Multipleks PCR primerleri ve uzama problemleri Metabion International AG Almanya'da sentezletilmiştir.

Çizelge 2. 1 SNP'ler ve genotipleme primerleri

SNP Numarası	Forward Primerler	Reverse Primerler	Uzama Probu	Amplikon uzunluğu
rs8102476	ACGTTGGATGACACCAGCTTCTCTCCCGT	ACGTTGGATGAACGCGAGGACAGGCAATG	GCCCCCTCCATGACCC	99
rs10993994	ACGTTGGATGATACTGGAGAGGGCAACCAC	ACGTTGGATGCCCTCTGTAAACACTCAATG	AACCACGCATTTCGAC	99
rs902774	ACGTTGGATGACAGCAGTTCTTCCCTGCTC	ACGTTGGATGCGGGGATGGATTGTGCAAAAC	TGCCTCCTAGTGGAT	97
rs4430796	ACGTTGGATGTGAATACAGAGAGGCGACAC	ACGTTGGATGCAAAAGACCCCAACAACGCTTG	GCAGCACAGACTGGA	100
rs11199874	ACGTTGGATGGAGAAGGCCCATAGAAGTAGC	ACGTTGGATGGATGGACATTGGCAATGTAG	AGTAGCTGGTGGCAGA	99
rs1983891	ACGTTGGATGACACGCTGGTCCCATTTCTC	ACGTTGGATGACAAGGACCAACAGACAGAC	CTCCCATTTCTCCTCGTA	97
rs4962416	ACGTTGGATGGATTATTTATGGAAGTTTCTCG	ACGTTGGATGAGGAACAGGGAGTGACTCAG	TAAGTTTCTTGACACCG	89
rs6465657	ACGTTGGATGGCAGATCAGACTAAGTATAG	ACGTTGGATGGGACTTTTGCCAAAGAAATGAC	TGGTACGTATTGGCTTAC	96
rs3774315	ACGTTGGATGACTAAATGTGGCAGAGTGAC	ACGTTGGATGCTTAAAGAAAGGAAGAGCC	GCAGAGTGACAGATCTAA	85
rs1016343	ACGTTGGATGCAATCTTAGTGGGTCCAAG	ACGTTGGATGAAGAGGACAGCAGAACTGTG	CATGTGTTACATTTCCCTC	100
rs16902094	ACGTTGGATGATCAGCTATCTCAGTCTCAC	ACGTTGGATGCGTTAAATTTATGCTACTGG	CACAATAACCCAAATGGACT	95
rs7130881	ACGTTGGATGTCTGGCTCCAGAACCACATAC	ACGTTGGATGGAGTGTCAACACACATGCAGG	CACCCATACACTGATAGAGT	98
rs6983267	ACGTTGGATGACCCCTCATCGTCTTTGAGC	ACGTTGGATGGTCAATAGCACATAAAAAATTC	TTGAGCTCAGCAGATGAAAG	94
rs1456315	ACGTTGGATGGGATGAAGAAGTGAAGTTGC	ACGTTGGATGTTATATATGTTAGTAAATTTAAA	CTGAGGTTGCTAATAAATCTA	90
rs10896449	ACGTTGGATGGTTGAGCCTCATCTCTTGAC	ACGTTGGATGCCATGGGTACTATTAGCAG	TCTTGACATTCCTCTTAAA	98
rs9364554	ACGTTGGATGAGGAACACACAGCTCAAAATG	ACGTTGGATGCCACTATGATTAGTCCATCC	AGATCAAAATGTTCACTCAAA	81
rs12653946	ACGTTGGATGACGTAACACACACAAATGTGC	ACGTTGGATGCTGCAACTTCTTGTGATG	GATTTGAGCTGGTTAGCTTTG	95
rs4242382	ACGTTGGATGAGAAAAAGAGGTAACCCAGG	ACGTTGGATGCACCTACTGCTGATCTTGG	GGTGGCCCTCTAGTTATCTTCCC	99
rs7501939	ACGTTGGATGCGGTGTAGAGGCTGAAATAG	ACGTTGGATGGACATATTTAAAGGCGCCAT	TGTAGAGGCTGAAATAGATACAG	98
rs7210100	ACGTTGGATGTTGCCCTATAGAACCCTGTTCC	ACGTTGGATGCAAACTTATAGGGTATGCTG	GGAGCTAGAACCTGTTCCATACAC	97

Çizelge 2. 1 SNP'ler ve genotipleme primerleri (devamı)

SNP Numarasi	Forward Primerler	Reverse Primerler	Uzama Probu	Amplikon uzunluğu
rs4775302	ACGTTGGATGGTATATACATGGACTACAG	ACGTTGGATGCACATATTGATGCCAACCTTG	CTCCATGGACTACAGTGGAAAAA	96
rs10934853	ACGTTGGATGACATGACTCACGTTGGCCTG	ACGTTGGATGCAGAAAGCTTAAGGGCATACG	CCCCTTGTTACAGGTTCTACCCCT	99
rs445114	ACGTTGGATGGAATAGCAAGTAAGTGCTAA	ACGTTGGATGCCGTTTATCCCTTTATTTG	GTAAGTGCTAAAAATAAAGGTAATCT	81
rs721048	ACGTTGGATGTCCTGTTCCACACTGAGGTC	ACGTTGGATGCAGAACCCCTGAGGATTATC	AACCTTCCACACTGAGGTCCTTATTC	80
rs6497287	ACGTTGGATGCTATTTTGGACTCATTTAAATC	ACGTTGGATGGATCTTAAAGAGAACTAAGG	ATTATTAGTATATTCTCCACCTAAAC	99
rs2292884	ACGTTGGATGAACTGTGTTCTCCAGGTAGG	ACGTTGGATGCCTTCTGCTGCAGATCTTG	TCAGAAAGGCATTCCACAGCTGAAATA	99
rs9325782	ACGTTGGATGCTGTAGGTTAAGAAAAATGC	ACGTTGGATGGCAGTTTTTCTCTAAATTGTCC	GCAATATAAAACTTCCAAATCAAGAAA	97
rs11228565	ACGTTGGATGAGACCTAGGCAAGCTCTTTG	ACGTTGGATGTAGATAAGGCTTCATGCCCC	CCATACCTAGGCAAGCTCTTTGACCCAA	98
rs339331	ACGTTGGATGAAATGAGCAGCTTTCTGTCC	ACGTTGGATGCACCTTTCATGAACCTCTCTC	CCTCATAGTCACTAAAGATAAACCTCAT	97
rs16901979	ACGTTGGATGGTTGTGGAGCAGTGTAAATG	ACGTTGGATGCTTCCATAACATGTTATCTC	GCAGTGTAAATGATTAGCATTTACTTAT	96
rs9600079	ACGTTGGATGAGAGGAGGTTGCACCCACTT	ACGTTGGATGGCAATTGGTCTCAATTTTAC	GGGTAGGAGGTTGCACCCACTTACAATT	97
rs3865443	ACGTTGGATGTCTGTGCCTCCATTACCTG	ACGTTGGATGCAGAAAGGGAAGAGGGATCAA	TACCTGCAGCTCTCA	100
rs4242384	ACGTTGGATGCATGAATCCTTCTCACCCG	ACGTTGGATGTGACAGTCCCATGCTAGAAG	GCAGCTGACTGTGTT	100
rs9623117	ACGTTGGATGTGGAAGATGGCTAGAGATGG	ACGTTGGATGCCATTTTCTCTCCCTGTTAC	CGGATGGGGAAGGAG	92
rs1859962	ACGTTGGATGAAGAGGCTGCAGACTTTTCC	ACGTTGGATGATCTTGGACCTTTAAAGTG	CCAAATCCCTGCCCGTG	82
rs13385191	ACGTTGGATGAGACTGCACAGTGAAGTGAC	ACGTTGGATGTCCAATCCTTCTCTCGTTG	GGTCCCTATGTCAAGGAA	98
rs10486567	ACGTTGGATGAACTGTAAAGCCCAAGCATC	ACGTTGGATGTCAAGACATGCTTGTGAC	TTGCTGTGTAATGGGATA	98
rs2735839	ACGTTGGATGCCCTATTTCTGAATTCCTCC	ACGTTGGATGCCTAGGGATCTGGTTCTGTC	GATCGCCCATGGTCCACT	95
rs1512268	ACGTTGGATGCAGTCATGTGAAGCAAAACC	ACGTTGGATGTTTATCAATGTCCAGCCC	GCAAAACCTTTCTGTAGAT	97
rs651164	ACGTTGGATGTATAAGATACAGGGCAAGGG	ACGTTGGATGCAAGAAGCTCTCAATGGTGG	TTACTGAAATGAAGGGCTA	98

Çizelge 2. 1 SNP'ler ve genotipleme primerleri (devamı)

SNP Numarası	Forward Primerler	Reverse Primerler	Uzama Probu	Amplikon uzunluğu
rs2410373	ACGTTGGATGCAGTAGGGTTCTACGAGTC	ACGTTGGATGTCGTTTCCACTATTGATC	GCTGAATCTGTTGGGACTGC	94
rs1447295	ACGTTGGATGGACTTCAATTGAGGAAGTGC	ACGTTGGATGTATCAAGGGTTCTCTGTTGC	CATTGGGAGGTATGTAAAA	97
rs7931342	ACGTTGGATGTCCTTAGACAACCTCTGCC	ACGTTGGATGGAGTGGTGTACAGGATCAGG	AACTCCACATTCTGCTTATCA	100
rs5945572	ACGTTGGATGGAGTTCCATAAAGACAGGAG	ACGTTGGATGAGGCCAAGAAATCTGCTACC	TGCTGTGATTTGCTCAACCCAC	93
rs1571801	ACGTTGGATGGACTTCCAAAGTTGTCAAATAC	ACGTTGGATGTTAAGTGTGTACATACTGGC	AAAGGTAAGAAAAAGTTTCAAAAT	97
rs12155172	ACGTTGGATGTTCTGTGTTGGCCTGTTCC	ACGTTGGATGACACAGCATGGGAATGTGAG	TTCCTCTCTGCCAC	103
rs3096702	ACGTTGGATGAAGATTTCCCAAAACCGGC	ACGTTGGATGCTTATCTTGGCTCTTGCCAG	AGCATCTTGCCCATTT	99
rs1218582	ACGTTGGATGCCGGAGAGTCTCTGTTCTTAG	ACGTTGGATGTCCCAAGCACCAACACCATA	TCCATCCCAGGCGGA	109
rs3771570	ACGTTGGATGGGAACTAGAAGATACGTGG	ACGTTGGATGTCTCTGGGACAGAATGATG	AAAGCAGAACCCAGACA	93
rs1270884	ACGTTGGATGTCAGTAGGTAAATGGGC	ACGTTGGATGTGACAAAAGAACCCATCAGAC	CTGGCCCAATAATGCCC	119
rs7611694	ACGTTGGATGAGGGCATACCAATCAGAAAGC	ACGTTGGATGCTGCCTGACTTGGTTTATCC	AGAAGCCACAGACTAAC	102
rs1933488	ACGTTGGATGTGTGAGACATGGTTGGAG	ACGTTGGATGCGGCTTTTCTCCAAATGGTG	GGGTTTCCCTGGAAAGATA	117
rs3850699	ACGTTGGATGCCAGCTCTCCCCAGAATAG	ACGTTGGATGCCATCTAAAAAATAATAAG	TCCCCAGAAATAGCTTCCCA	81
rs11568818	ACGTTGGATGTTATTGGCAGGAAGCACAC	ACGTTGGATGATGAGGTTTCTCATGGAGTC	AGGAAGCACACAATGTATT	108
rs6062509	ACGTTGGATGTGCTGCCACACTGTGACTC	ACGTTGGATGCAATTTCTCTCGGGATGGAC	GAGGGGACTCCAGCAGAGGC	104
rs8008270	ACGTTGGATGGAGAGACGTGGAAGAC	ACGTTGGATGCTACACATCTCATCACCTCG	AGACATATCTCTCGAGACAAAA	93
rs7141529	ACGTTGGATGTCACCTGTTCTGTGAGATTCC	ACGTTGGATGCCCATTTGGCATTTGATTCG	TGAGATTCTCTATTGATGTCAG	101
rs6869841	ACGTTGGATGGGAAGTGGTGGAAAGTGGTC	ACGTTGGATGGCAACATCCAATCCATCAGG	GTGTGAAAGTGGTCATATTAC	100
rs2427345	ACGTTGGATGTAGCGCTCAGCCTCTGTG	ACGTTGGATGGGATGAGTGTGCGTTTCATTG	GGGAGTTGACCCGGGAAACGC	110
rs11650494	ACGTTGGATGGCTCTAAACTGATGTAGG	ACGTTGGATGACTCAGGGTTCTCTCCTAAG	CCCGTACAATTACCTGGGGACAC	112

Çizelge 2. 1 SNP'ler ve genotipleme primerleri (devamı)

SNP Numarası	Forward Primerler	Reverse Primerler	Uzama Probu	Amplikon uzunluğu
rs7241993	ACGTTGGATGAATAGCAGAACCAAACTC	ACGTTGGATGTAGGCTGATGGGACTTCAAG	AAGGTAACATTTTTCTTAAATGC	102
rs4245739	ACGTTGGATGCTGACAGGTTGAAATAAAA	ACGTTGGATGAGCATATGGTAGTACGAAC	GTTCAAATAATGTGGTAAGTGAAC	120
rs2405942	ACGTTGGATGGTTTCTGGTGCGAGTTGTAG	ACGTTGGATGACCAAAACAACTGAGGTTTC	TGGCAGTTGTAGTTTATTCAATTTT	80
rs11135910	ACGTTGGATGATTCACTCCCTTACCACAG	ACGTTGGATGACCATGTACCTGAGATGAGC	CAGGGAGCCCATCTG	109
rs1894292	ACGTTGGATGTCATGGATTCCCTCCCAATG	ACGTTGGATGGGGTCCAGCACAACACTTTG	CCCTCCCAATGAGCATA	118
rs11902236	ACGTTGGATGAACGCACTGTCAGTTACAGGGAC	ACGTTGGATGTCTACCTGGATCAAGGAC	TTAAGGTTCTCACTCCG	107
rs684232	ACGTTGGATGTTTAAAGCCAGATGACGCAG	ACGTTGGATGAATGGTGGACTATTCAAGAC	ACGTTTACTGAGGTTGAATA	110

2.2 Yöntem

Bu tez çalışmasının yöntemi aksi belirtilmediği sürece iPLEX® Gold Application Guide (2009) [106] ve iPLEX® Gold SNP Genotyping Training Protocol (2009) [107] referans alınarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.1 Kütle Spektrometrisi Esaslı Deney Tasarımı

2.2.1.1 Amplifikasyon Primerlerinin Tasarlanması

Amplifikasyon primer çiftleri ortamda yer alan kalıp DNA dizileri ile hibridize olarak reaksiyonu başlatmaktadır. Multipleks PCR amplifikasyon primerleri Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak tasarlanmıştır [108].

Amplifikasyon primerleri tasarlanırken bazı unsurlara dikkat edilmesi gerekmektedir. Polimorfik bölgeyi içeren optimum amplikon boyutu 80 ile 120 baz çifti arasında olmalıdır. 400 baz çiftinden daha uzun fragmentlerden kaçınılmalıdır. Kütle spektrumundaki karışıklığı önlemek ve PCR performansını artırmak için amplifikasyon primerlerinin kütlesinin uzama primerinin (uzama problemleri) ve uzama reaksiyonu ürünlerinin kütlesinden farklı olduğundan emin olmak gerekmektedir. Bu nedenle her bir amplifikasyon primerinin 5' ucuna genel bir 10-mer etiketi eklenmelidir. 10-mer etiketinin dizisi 5'-ACGTTGGATG-3' şeklindedir. PCR primerleri tasarlanırken primer dimeri oluşumunu dikkate almak gerekmektedir. Çünkü multipleks reaksiyonlar için primerlerin tasarlanmasında bu konu önem taşımaktadır. Sequenom'un Assay Designer yazılımı, primerleri muhtemel dimer oluşumu açısından kontrol etmektedir.

2.2.1.2 Uzama Problemlerinin (Primerlerinin) Tasarlanması

Uzama problemleri amplifikasyon sonrası elde edilen PCR ürününe spesifik hibridizasyon gerçekleştirerek ortamda var olan allelin belirlenmesi için tek bazlık bir uzama gerçekleştirmektedir. Sonuçta oluşan ürünler arasında allele özgü kütle farklılıkları meydana gelmektedir. SNP allelleri arasındaki kütle farkı MassARRAY® Typer 4.0 yazılımı üzerinde analiz edilmesine olanak tanımaktadır (Çizelge 2.2).

Uzama problemleri tasarlanırken de bazı unsurlara dikkat edilmesi gerekmektedir. Tasarlanan uzama probleminin 3' ucu polimorfik bölgenin hemen yanında olmalıdır. Uzama problemleri 15-30 nükleotid uzunluğunda olmalıdır. Tm değeri yaklaşık olarak 60 °C veya daha yüksek olmalıdır. En iyi sonucu elde etmek için uzama primerleri ve ürünlerinin kütleleri arasında en azından 30 Da'luk fark olması gerekmektedir (aynı assayın allelleri hariç). Tercih edilen analit kütleleri 4500-9000 Da arasında olmalıdır.

Tek baz uzama problemleri Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak tasarlanmıştır. Uzama problemlerinin ve tek baz spesifik uzama reaksiyonu sonucunda elde edilebilecek dizilerin kütleleri yazılım tarafından belirlenmiştir.

Çizelge 2. 2 SNP allelleri arasındaki kütle (Da) farklılıkları [106]

Terminatör	A	C	G	T
A	0	-24	16	55.9
C	24	0	40	79.9
G	-16	-40	0	39.9
T	-55.9	-79.9	-39.9	0

2.2.1.3 Assay Dizayını (Deney Tasarımı)

Bu tez çalışmasında öncelikle 175 örnekte 45 SNP'nin genotiplemesi için assay tasarımı Sequenom'un Assay Designer yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma sırasında 23 yeni SNP'nin prostat kanseri ile ilişkisinin bildirilmesi [81] üzerine bu SNP'ler de çalışmaya dahil edilerek assay tasarımı aynı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Tasarım sonucu 22 SNP ikinci set olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Multipleks reaksiyonlarda tek bir kuyuda çalışılabilecek olan SNP sayısı plex terimi ile tanımlanmıştır. Her iki setteki multipleks reaksiyonlar her bir örnek için iki plexte çalışılmıştır. 45 SNP'nin bulunduğu sette plex 1'de 31 SNP, plex 2'de 14 SNP çalışılmıştır (Çizelge 2.3). 22 SNP'nin bulunduğu ikinci sette ise plex 1'de 18 SNP, plex 2'de ise 4 SNP çalışılmıştır (Çizelge 2.4).

Çizelge 2. 3 Set 1’de yer alan multipleks reaksiyonlar

Multipleks reaksiyon		SNP’ler	
Plex 1	rs8102476	rs7130881	rs445114
	rs10993994	rs6983267	rs721048
	rs902774	rs1456315	rs6497287
	rs4430796	rs10896449	rs2292884
	rs11199874	rs9364554	rs9325782
	rs1983891	rs12653946	rs11228565
	rs4962416	rs4242382	rs339331
	rs6465657	rs7501939	rs16901979
	rs3774315	rs7210100	rs16901979
	rs1016343	rs4775302	
	rs16902094	rs10934853	
Plex 2	rs3865443	rs10486567	rs1447295
	rs4242384	rs2735839	rs7931342
	rs9623117	rs1512268	rs5945572
	rs1859962	rs651164	rs1571801
	rs13385191	rs2410373	

Çizelge 2. 4 Set 2’de yer alan multipleks reaksiyonlar

Multipleks reaksiyon		SNP’ler	
Plex 1	rs12155172	1933488	rs6869841
	rs3096702	rs3850699	rs2427345
	rs1218582	rs11568818	rs11650494
	rs3771570	rs6062509	rs7241993
	rs1270884	rs8008270	rs4245739
	rs7611694	rs7141529	rs2405942
Plex 2	rs11135910	rs11902236	
	rs1894292	rs684232	

2.2.2 Genomik DNA İzolasyonu ve Miktar Tayini

2.2.2.1 Genomik DNA İzolasyonu

Temin edilen kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu ticari kit (Invisorb Spin Blood Mini Kit, Cat no#: 1031100300) kullanılarak üretici talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir.

İzolasyondan önce Elüsyon Tamponu D (Elution Buffer D) 2.0 ml'lik tüpe alınıp 56°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 200 µl kan örneği 1.5 ml'lik reaksiyon tüpüne aktarılmıştır. 200 µl Lizis Tamponu HL (Lysis Buffer HL) eklenip, pipetle beş kez aşağı ve yukarı doğru karıştırılarak 56°C'deki çalkalamalı inkübatörde 3 dakika inkübe edilmiştir. 20 µl Proteinaz K eklenip kısa bir süre vortekslenmiştir. Reaksiyon tüpü 56°C'deki çalkalamalı inkübatörde 5 dakika inkübe edilmiştir. 200 µl Bağlanma Tamponu HL (Binding Buffer HL) eklenip vorteksle ya da 4-5 kez aşağı yukarı pipetleme yapılarak karıştırılmıştır. RTA Spin filtre seti (RTA Spin Filter Set) olarak adlandırılan tüpler alınıp hazırlanan karışım eklenmiş ve kapağı kapatılarak 1 dakika inkübe edilmiştir. Bu sette üstte Spin Filtre ve altta Receiver (Alıcı) tüplerden oluşan birbiri içine geçebilen özel üretilmiş tüpler bulunmaktadır. 13.000 x g'de (12.000 rpm) 2 dakika santrifüjlendikten sonra süzüntü atılıp RTA spin filtre yeni bir 2.0 ml'lik alıcı tüpe konulmuştur. 500 µl ön yıkama tamponu (Pre-Wash Buffer) RTA spin filtreye eklenmiştir. Filtrenin kapağı kapatılıp 13.000 x g'de 1 dakika santrifüjlendikten sonra süzüntü atılıp RTA spin filtre yeni bir alıcı tüpe konulmuştur. Yıkama aşamasında 700 µl yıkama tamponu (Wash Buffer) eklenip 13.000 x g'de 1 dakika santrifüjlendikten sonra süzüntü atılarak RTA spin filtre yeni bir alıcı tüpe konulmuştur. Yıkama aşaması iki kez tekrar edilmiştir. RTA spin filtre tekrar yeni bir alıcı tüpe konularak etanolün tamamen uzaklaşması için 4 dakika en yüksek hızda santrifüjlenmiştir. RTA spin filtre yeni bir 1.5 ml'lik alıcı tüpe konulup önceden ısıtılmış (56°C) elüsyon tamponundan 75 µl eklenip oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilmiştir. 8.000 x g'de (9.500 rpm) 1 dakika santrifüjlenerek DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.2 İzolasyonu Yapılan DNA'nın Miktar ve Saflık Tayini

DNA miktar ve saflık tayini 260 nm ve 280 nm dalga boylarındaki UV spektrofotometrede ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiştir. DNA'nın saf olarak elde edilebilmesi için 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorbans değeri oranının 1.7 ile 2.0 arasında olması gerekmektedir ($A_{260}/A_{280}=1.7-2.0$) [109]. DNA miktarı, 260 nm'deki bir optik dansite (OD) ünitesinin 50 µg/ml çift iplikli DNA'ya eşit kabul edilmesiyle hesaplanmıştır. DNA miktarı (2.1)'de verilen formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{DNA miktarı} = \text{OD ünitesi} \times \text{sulandırma faktörü} \times 50 \text{ µg/ml} \quad (2.1)$$

*DNA'nın 1:10 oranında sulandırılması durumunda sulandırma faktörü 10 olarak alınır.

İzole edilen her bir DNA'nın saflık derecesi ve miktarı NanoDrop Mikro-Hacim UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak kontrol edilmiştir. Her bir genomik DNA örneğinin 1 µl'si cihaza pipetlenerek DNA miktarı ve saflığı belirlenmiştir.

2.2.3 DNA'nın Genotipleme İçin Çoğaltılması (Multipleks PCR)

Nükleik asit değişimlerinin belirlenebilmesi ve tek baz spesifik uzama reaksiyonunda kullanılabilmesi için genomik DNA'daki hedef bölge, tasarım sonucu elde edilen forward ve reverse primer çiftleri kullanılarak multipleks PCR ile çoğaltılmıştır.

Bölüm 2.2.1.3'de belirtildiği gibi SNP'ler plex 1 ve plex 2 şeklinde gruplara ayrılmıştır. Her iki set çalışmamızda da PCR karışımları hazırlanırken plex 1 ve plex 2 de yer alması gereken primer çiftleri kullanılmıştır. PCR bileşenleri ve miktarı Çizelge 2.5'te verilmiştir. Hazırlanan reaksiyon karışımı yavaşça karıştırılıp, 1000 rpm hızında santrifüj edilmiştir.

Amplifikasyon 92 °C'de 2 dakika ön denatürasyon, 95 °C'de 30 saniye denatürasyon, 56 °C'de 30 saniye bağlanma, 72 °C'de 1 dakika uzama ile 45 döngü ve 72 °C'de 3 dakika son uzama olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. 5 Multipleks PCR karışımı (* reaksiyona göre optimize edilecek değer)

Bileşenler	Son Konsantrasyon	Reaksiyonda Kullanılan Bileşen Hacmi (µl)
dH ₂ O	*	1,800
10X PCR Tamponu (20 mM MgCl ₂)	1x (2 mM MgCl ₂)	0,500
MgCl ₂ (25 mM)	2 mM	0,400
dNTP karışımı (her birinden 25 mM)	500 µM	0,100
Primer karışımı (0,5 µM)	0,1 µM	1,00
Roche PCR Enzimi (5 U/µl)	1.0 U/reaksiyon	0,200
PCR karışımı toplam hacim 4 µl olacak şekilde hazırlandıktan sonra;		
DNA (10 ng/µl)	2 ng/µl	1,00
Toplam Hacim		5,00

2.2.4 dNTP Nötralizasyonu (SAP Reaksiyonu)

Amplifikasyon ürünlerindeki bağlanmamış dNTP'ler shrimp alkalen fosfat (Shrimp alkaline phosphatase:SAP) ile nötralize edilmiştir. SAP, serbest dNTP'den bir fosfat grubunu keserek geri dönüşümsüz olarak dNDP'ye çevirmektedir. Bağlanmamış, serbest bulunan dNTP'leri defosforile etmek için hazırlanan SAP reaksiyonu bileşenleri Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Hazırlanan 2µl SAP karışımı multipleks PCR ürünlerine eklenmiştir. Örnek plakası yavaşça karıştırılıp 1000 rpm hızında santrifüj edilmiştir. SAP reaksiyonu 37 °C'de 40 dakika süreyle gerçekleştirilerek, reaksiyon karışımı enzimin inaktive edilmesi için 85 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir.

Çizelge 2. 6 SAP reaksiyonu bileşenleri (* reaksiyona göre optimize edilecek değer)

Bileşenler	7 µl reaksiyondaki son hacim (PCR + SAP)	2µl SAP karışımı içersindeki bileşen miktarı [µl]
dH ₂ O	*	1,53
TS Tamponu (10X)	0,24 X	0,17
SAP Enzimi (1,7 U/µl)	0,5 U	0,30
Toplam Hacim (µl)	*	2 µl

2.2.5 Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu

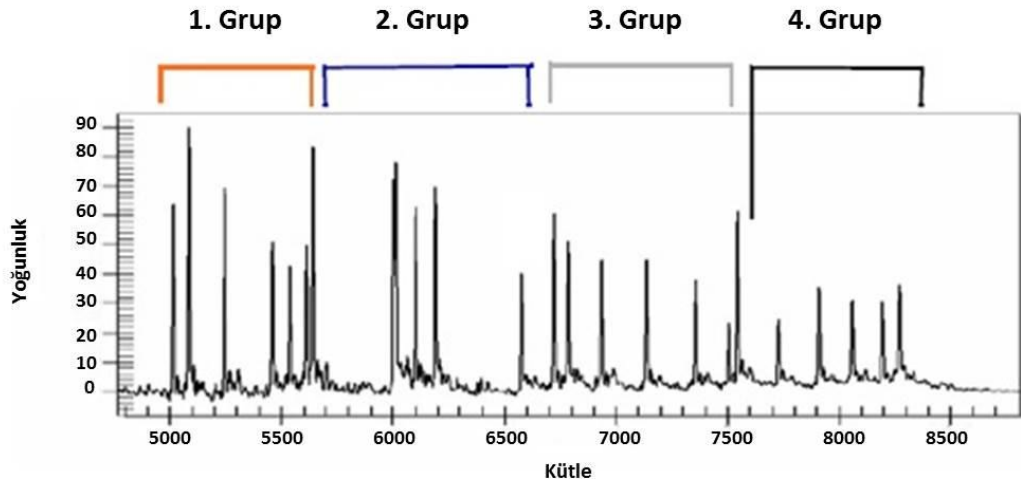
2.2.5.1 Uzama Probu Konsantrasyonlarının Ayarlanması

Pik yoğunluğu ve analit kütlesi arasındaki ters orantı nedeniyle, tek baz spesifik uzama reaksiyonundaki uzama probu konsantrasyonlarının ayarlanması gerekmektedir. Kütlesi en yüksek olan primerin (~8500 Da) pik yoğunluğu daha düşük kütleli primerlerin ortalamasına göre %25'ten daha azdır. Yani kütle arttıkça sinyal-gürültü oranı azalmaya eğilimlidir. Sinyal-gürültü oranının dengelenmesi açısından oligoların konsantrasyonlarının ayarlanması önerilmektedir. Aksi halde gürültüden dolayı sinyaller ayırt edilemez hale gelmektedir. Genotipleme reaksiyonlarında, analit pikleri kaçırılabilen ve genotipleme hataları ortaya çıkabilmektedir.

Analit kütlesi ve sinyal-gürültü oranı arasındaki ters orantıya ek olarak, pik uzunluklarında da beklenmeyen varyasyonlar meydana gelebilmektedir. Bu varyasyonlar tutarsız oligonükleotid kalitesinden ve MALDI'deki düşük desorpsiyon/iyonizasyon davranışından kaynaklanabilmektedir.

Bu sorunların giderilmesi ve modernize edilmesi için tek baz spesifik uzama reaksiyonunun hazırlanmasında dört farklı yöntem belirlenmiştir. İlk üç yöntem primerlerin kütlesine göre 2, 3 ve 4 aşamalı olarak gruplara ayrılarak konsantrasyonlarının ayarlanmasını gerektirmektedir. Dördüncü yöntem bütün primerlerin kütlesine göre spesifik bir konsantrasyonda karışımını ve bu konsantrasyonların kullanılarak spektrumda her bir primerin dengelenmesini gerektirmektedir. Bu tez çalışmasında, uzama primeri konsantrasyonları düşük kütleli

primerlerden yüksek kütleli primerlere doğru dört aşamalı olarak ayarlanmıştır (Şekil 2.1). Düşük kütleli primer grubunun konsantrasyonu 7.0 μM , bir sonraki grubun 9.3 μM , üçüncü grubun 11.6 μM ve en yüksek kütleli grubun ise 14.0 μM olacak şekilde ayarlanmıştır. 7/9.3/11.6/14 μM konsantrasyonlarındaki uzama probu karışımı uygun miktarda dH_2O eklenerek hazırlanmıştır.



Şekil 2. 1 Dört aşamalı uzama probu ayarlama metoduna göre primerlerin gruplandırılması [106].

2.2.5.2 Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu Hazırlanması ve Termal Döngüleyicide İşlem Görmesi

SAP reaksiyonu ürünleri, daha sonra tek baz spesifik uzama reaksiyonuna tutulmuş, tasarlanan problemlerin hedef bölge ile hibridizasyonu ve tek kütle-modifiye nükleotid uzaması gerçekleştirilmiştir. Multipleks PCR reaksiyonuna benzer şekilde tek baz spesifik uzama reaksiyonu da her iki set için plex 1 ve plex 2 olmak üzere ikişer kez hazırlanmıştır. Tek baz spesifik uzama reaksiyonu bileşenleri Çizelge 2.7’de verilmiştir.

Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 1000 rpm hızında 1 dakika santrifüj edilmiştir. Örnek plakası üzerindeki her kuyuya 2 μl tek baz spesifik uzama reaksiyon karışımı eklenmiştir. Örnek plakası yavaşça karıştırılmıştır ve termal döngüleyici aşaması öncesinde 1000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Reaksiyon Çizelge 2.8’de belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. 7 Tek baz spesifik uzama reaksiyonu bileşenleri (* reaksiyona göre optimize edilecek değer)

Bileşenler	9µl reaksiyon hacmindeki son konsantrasyon	2 µl karışım içersindeki bileşen miktarı (µl)
dH ₂ O	*	0.619
iPLEX Tamponu (10X)	0.222X	0.200
iPLEX Terminasyon karışımı	1X	0.200
iPLEX Uzama Primeri Karışımı 7/9.3/11.6/14 µM	0.84/1.04/1.57	0.940
iPLEX Enzim	1X	0.041
Hacim (µl)	*	2
SAP+PCR	*	7
Toplam Hacim (µl)	*	9

Çizelge 2. 8 Tek baz spesifik uzama reaksiyonu koşulları

Basamaklar	İşlem	Sıcaklık ve Süre
1	Ön denatürasyon	94 °C'de 30 saniye
2	Denatürasyon	94 °C'de 5 saniye
3	Bağlanma	52 °C'de 5 saniye
4	Uzama	80 °C'de 5 saniye
5	Son uzama	72 °C'de 3 dakika
Döngü sayıları		2-4 basamaklar 40 döngü; 3-4 basamaklar 5 döngü

2.2.6 Rezin ile Temizleme

Kütle spektrometrik analiz optimizasyonu için tek baz spesifik uzama reaksiyonu ürünleri Na⁺, K⁺ ve Mg²⁺ gibi iyonları uzaklaştırarak arka plan kirliliğini minimuma indirmek için katyonik değişim sağlayan rezin ile muamele edilmiştir [102], [106]. Rezin

ince uzun bir kaşık yardımı ile bulunduğu kaptan çukur plaka üzerine aktarılmıştır ve çukur plaka üzerinde bulunan kuyulara yayılması sağlanmıştır. Rezinin fazlası çukur plakadan sıyrılarak uzaklaştırılmıştır ve rezin en az 20 dakika beklemeye bırakılmıştır. Bu esnada, örnek plakadaki her bir kuyucuğa 16 µl dH₂O eklenmiştir. rnek plaka yavaşça alt-st edilerek çukur plaka üzerine yerleştirilmiştir. rnek ve çukur plakalar birlikte tutulmuş ve yavaşça ters çevrilerek rezinin çukur plakadan örnek plakaya dökülmesi sağlanmıştır. Çukur plakaya hafifçe vurarak rezinin tamamının örnek plakaya dökülmesi sağlanmıştır. Kuyucuklarda hava kabarcıkları oluşması durumunda plaka kısa bir süre santrifüjlenmiştir. rnek plakası döner-çalkalayıcıda oda sıcaklığında 35 dakika döndürülmüştür ve 3200 x g'de 5 dakika santrifüjlenmiştir.

2.2.7 Nanodispenser ile ürünlerin ipe Aktarımı

Hedef bölgenin amplifikasyonu, SAP uygulaması ile bağlanmamış serbest bulunan dNTP'leri defosforile etme, tek baz spesifik uzama reaksiyonu ve ortamdaki tuzların uzaklaştırılması için rezin uygulanması aşamalarını takiben elde edilen modifiye ürünü, nano litre (nl) hacminde ortalama 15 nl PCR ürünü 384-element SpectroCHIP® II zerine dağıtmak için nanodispenser kullanılmıştır. Oligonkleotidlerin silika ip üzerindeki matriks spotlarına aktarılması oligonükleotidleri MALDI-TOF matriksine (3-hidroksipikolinik asit) dahil etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlemde delikli iğnelerin kapiler etkisinden ve nano hacimde gerçekleştirdiği dağılımdan yararlanılmıştır [102], [106].

2.2.8 MALDI-TOF MS ile Genotipleme ve Veri Analizi

Nanodispenser ile zerine PCR ürünü dağıtılan 384-element SpectroCHIP® II analizi için ktle spektrometrisi (MassARRAY® Analyser 4) cihazına yüklenmiştir. Cihaza yükleme aşamasından sonra sonuç alımı maksimum 40 dakika sürmüştür. Lazer atımı sonrası elde edilen verilerin analizi, spektrum görüntüsünün ve allel spesifik piklerin elde edilmesi için (iPLEX SpectroCHIP® II analizi) cihazda bulunan MassARRAY® TYPER 4.0 genotipleme yazılımı kullanılmıştır. Assay tasarımı aşamasında elde edilen bilgiler, spektrumda doğru analitin beklenen pozisyonunun hesaplanması için sistem tarafından kullanılmaktadır.

2.2.9 İstatistik Analizler

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 20.0, Chicago, IC, USA) paket programı kullanılmıştır. Tüm testlerde $p \leq 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

2.2.9.1 Hardy Weinberg Dengesi

Hardy Weinberg kuralına göre yeterli büyüklükteki bir popülasyonda, seçim, mutasyon ve göç olaylarının meydana gelmediği ve rastgele eşleşmenin olduğu koşullarda gen ve genotip frekansları sabit kalmaktadır. Böylece gen ve genotip frekansları dengeye ulaşmış olan popülasyonlara ise dengeli popülasyon ya da Hardy Weinberg dengesinde (HWE) olan popülasyon adı verilmektedir [110]. Hardy Weinberg kuralına uygun olan popülasyonlarda allel frekansları nesilden nesile değişmemekte ve genotip frekansları allel frekanslarından tahmin edilebilmektedir [111]. İnsandaki çoğu SNP'nin allel ve genotip frekanslarının nesilden nesile değişmediği yani Hardy Weinberg dengesinde olduğu bilinmektedir [112], [113].

Çalışmamızda Hardy Weinberg dengesi test edilirken öncelikle genotiplerin çalışma grubundaki gözlenen birey sayıları bulunmuştur. Allel frekansları hesaplanmıştır. Hesaplanan allel frekansları kullanılarak beklenen genotip frekansları elde edilmiştir. Hardy Weinberg kuralına göre allel frekansları sırasıyla p ve q olan iki allelli (A ve a) bir lokusta, genotip frekanslarının 3.1'de belirtilen denkleme uyması beklenmektedir [111].

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \quad (3.1)$$

Eşitlikte $p^2 = AA$; $2pq = Aa$ ve $q^2 = aa$ genotiplerinin frekansını göstermektedir.

Gözlenen değerler ile beklenen değerler arasındaki farkın önemli olup olmadığını test etmek ve çalışma grubunun her bir SNP için Hardy Weinberg dengesini değerlendirmek amacıyla ki-kare testi uygulanmıştır. $p \leq 0,05$ olan SNP'lerin HWE dengesinde olmadığı kabul edilmiştir.

2.2.9.2 Olasılıklar Oranı (Odds Ratio=OR) Testi

Bu tez çalışmasında SNP allel ve genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkisi OR değerleri hesaplanarak belirlenmiştir.

İlişkilendirmenin bir ölçütü olan olasılıklar oranı hasta-kontrol çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. OR, kontroller ile karşılaştırıldığında hastalardaki genetik değişimin ortaya çıkma olasılığı olarak tanımlanmaktadır [114]. Bir başka deyişle, kontroller ile karşılaştırıldığında hastalarda, bir SNP allelinin veya genotipinin artan frekansta olması, ilgili SNP allelinin bulunmasının hastalık riskini arttırabileceğini göstermektedir [115]. Eğer olasılıklar oranı belirgin bir şekilde 1'den büyük ise genetik değişim hastalık ile ilişkilendirilmektedir [114]. Çizelge 2.9'da hasta ve kontrol grubunda allel 1 ve allel 2'ye sahip olan bireylerin sayısı a, b, c ve d harfleri ile belirtilmiştir. Allel 1'in hastalık ile ilişkisi araştırılmak istendiğinde, (3.2)'deki eşitlik kullanılarak olasılıklar oranı hesaplanabilmektedir.

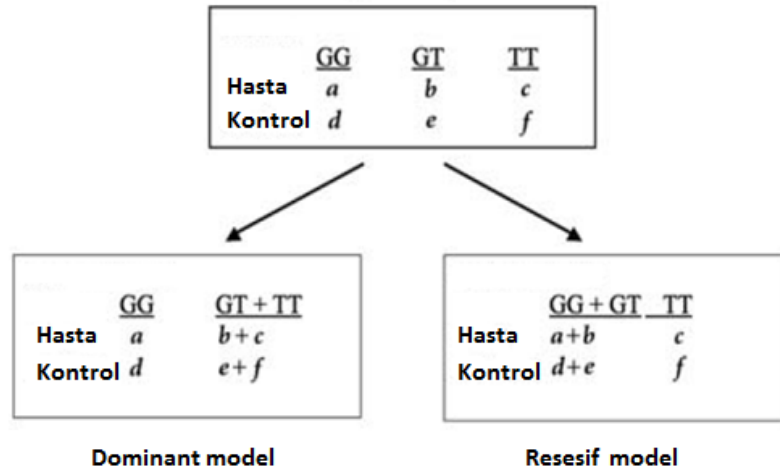
Çizelge 2. 9 Olasılıklar oranı hesaplama prensibi

	Allel 1	Allel 2
Hasta	a	b
Kontrol	c	d

$$OR = (a/b) / (c/d) = ad/bc \quad (3.2)$$

Minör allel frekansı (MAF); polimorfik lokustaki az yaygın olan allele ait frekanstır. Populasyonlar arasında çeşitlilik gösteren 0-0,5 arasında bir değere sahiptir [114]. Hastalık ile ilişkilendirilen allellerin çoğunluğunun frekansının 0,5'in altında olduğu bildirilmiştir [116]. Bu nedenle SNP allellerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilebilmesi için allel frekansları hesaplanmıştır ve çalışma populasyonunda kontrol grubuna göre yaygın (majör) olan allel belirlenerek referans olarak alınmıştır [117]. Hastalık ile ilişkili olabileceği öngörülen minör allelin referans allele göre OR değeri, %95 güven aralığı (GA) ve p değeri hesaplanmıştır. $p \leq 0,05$ olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ve OR değeri 1'den büyük ise prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir.

SNP'lerin hastalık ile ilişkisi dominant veya resesif modele göre de hesaplanabilmektedir. Örneğin Şekil 2.2'de T allelinin risk alleli olarak kabul edildiği duruma göre, dominant ve resesif modeller gösterilmiştir [118]. Bu çalışmada, SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesi için genotip frekansları hesaplanmıştır ve çalışma popülasyonunda kontrol grubuna göre yaygın olan homozigot genotip belirlenerek referans olarak alınmıştır. OR değerleri ve %95 GA homozigot karşılaştırma modeline (Örneğin GG ile TT) ve dominant modele (Örneğin GG ile GT+TT) göre hesaplanmıştır [117], [118]. $p \leq 0,05$ olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ve OR değeri 1'den büyük ise prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 2. 2 SNP analiz modelleri [119]

2.2.9.3 Kliniko-patolojik Değişkenlerin SNP'lerle İlişkisinin Belirlenmesi

Hasta grubundaki bireylere ait ailede kanser öyküsü, ailede prostat kanseri öyküsü, sigara kullanımı, alkol kullanımı, hastalık tanısının konulduğu dönemdeki yaş, Gleason skoru ve PSA değerleri gibi kliniko-patolojik değişkenlerin SNP'lerle ilişkisinin belirlenebilmesi için ki-kare testi ve Fisher kesinlik testi (Fisher's exact test) kullanılmıştır.

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

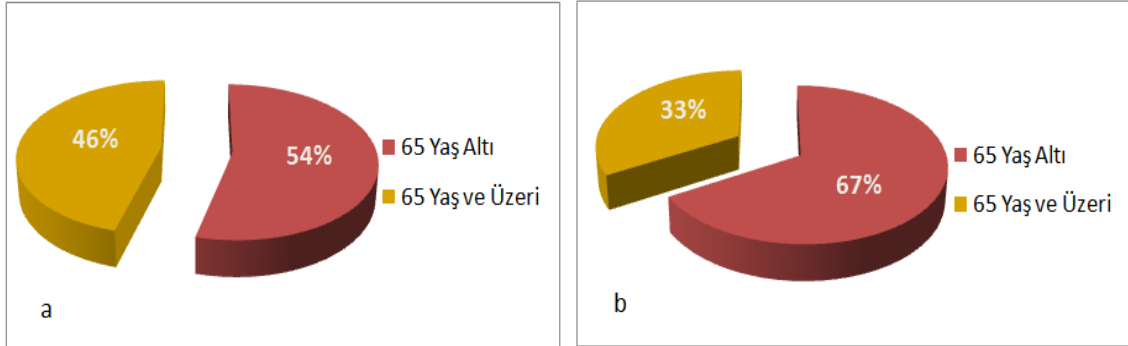
3.1 Prostat Kanseri Tanısının Yapılması ve Çalışma Populasyonunun Tanıtılması

Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği'ne başvuran kişilerde prostat kanseri tanısı Prof. Dr. Ali İhsan Taşçı ve Asis. Dr. Buğra Doğukan Törer tarafından gerçekleştirilmiştir. Transrektal ultrasonografi eşliğinde biyopsi ile 83 hastaya, tur-prostat operasyonu (kapalı prostat operasyonu) sonrasında alınan patoloji örneklerinin incelenmesi ile 2 hastaya prostat kanseri tanısı konulmuştur.

Yaşın prostat kanseri için en güçlü risk faktörü olduğu ve ileri yaş erkeklerde prostat kanseri görülme sıklığının yüksek olduğu Bölüm 1.1.3.2'de açıklanmıştır. Çalışma grubumuzun yaş durumları göz önüne alındığında, hasta grubunu oluşturan bireylerin prostat kanseri tanısının yapıldığı zamanki yaş ortalamasının 64 olduğu belirlenmiştir. En genç hastanın 46 yaşında, en yaşlı hastanın ise 81 yaşında olduğu belirlenmiştir. Prostat kanseri tanısı yeni konmuş hastaların %75'inden fazlasının 65 yaşın üstünde olduğu bilinmektedir. Bu çalışmaya katılan 39 (%46) hastanın 65 yaşında veya 65 yaşın üzerinde olduğu, 46 (%54) hastanın ise 65 yaşın altında olduğu saptanmıştır. Şekil 3.1-a'da hasta grubunu oluşturan bireylerin 65 yaşına göre oluşturulan yaş yüzdeleri grafiği gösterilmiştir.

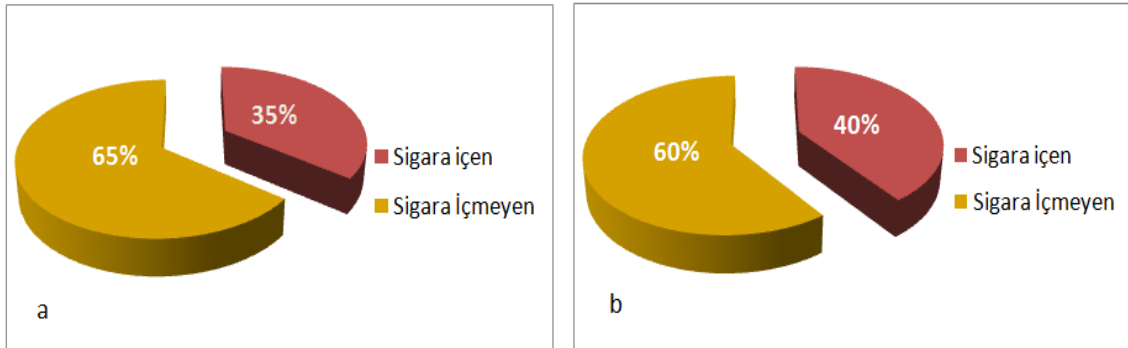
Kontrol grubunu oluşturan bireylerin çalışmaya dahil oldukları zamanki yaş ortalamasının 56 olduğu hesaplanmıştır. Çalışmaya katılan en genç bireyin 18 yaşında en yaşlı bireyin ise 88 yaşında olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubundaki 60 kişinin 65 yaşın altında, 30 kişinin ise 65 yaşında veya 65 yaşın üzerinde olduğu saptanmıştır.

Kontrol grubunun 65 yaşına göre oluşturulan yaş yüzdesi grafiği Şekil 3.1-b’de verilmiştir. Grafik incelendiğinde kontrol grubundaki bireylerin %33’ünün 65 yaşında veya 65 yaşın üzerinde olduğu görülmektedir.



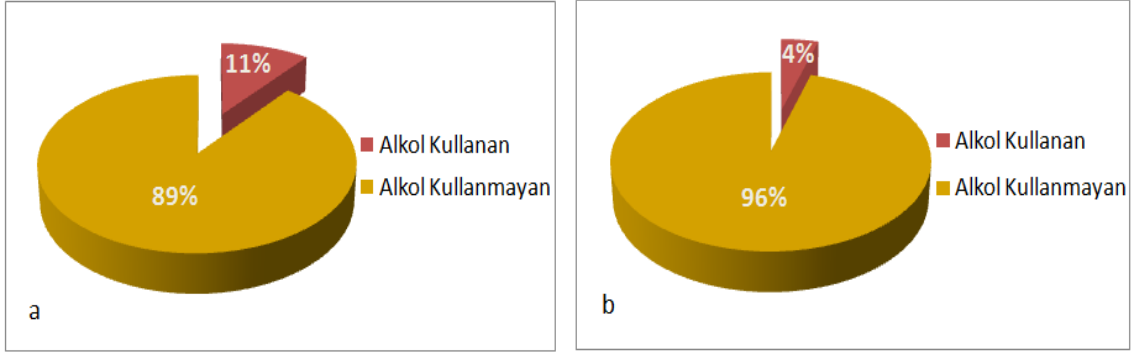
Şekil 3. 1 Çalışma grubunun 65 yaşa göre yaş dağılım yüzdeleri; a: Hasta, b: Kontrol

Sigara içmenin dolaşımdaki hormon düzeylerini etkileyerek veya doğrudan karsinojenlere maruz kalma ile prostat kanseri riskini arttırabildiği bildirilmiştir [120]. Buna göre çalışma grupları sigara içme durumlarına göre incelenmiştir. Hastalarda sigara içenlerin sayısının 30 (%35) olduğu, kontrol grubuna ait bireylerde ise 36 (%40) olduğu bildirilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2 Çalışma grubuna ait bireylerin sigara içme yüzdeleri; a: Hasta, b: Kontrol

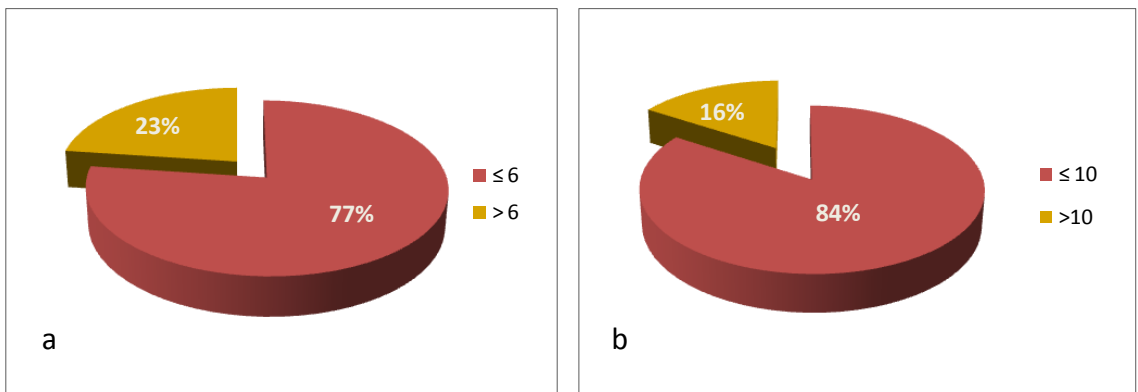
Çalışmamıza katılan hastaların 9’u (%11), kontrol grubundaki bireylerin ise 4’ü (%4) alkol kullandığı belirtmişlerdir. Şekil 3.3’te çalışma grubunun alkol kullanma yüzdelерinin bulunduğu grafikler verilmiştir.



Şekil 3. 3 Çalışma grubuna ait bireylerin alkol kullanma yüzdeleri; a: Hasta, b: Kontrol

Gleason skoru prostat kanseri derecelendirmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Gleason skoru 6 veya düşük olan kanserler düşük dereceli iken Gleason skoru 6'dan büyük olan kanserlerin orta dereceliden yüksek dereceli kanserlere doğru adlandırıldığı Bölüm 1.1.3.2'de açıklanmıştır. Buna göre çalışmamıza katılan prostat kanseri hastalarının Gleason skoruna bakıldığında 64 (%77) hastada 6 veya 6'dan düşük olduğu, 19 (%23) hastada ise 6'dan yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.4-a). Gleason skoru en yüksek olan (Gleason skoru sırasıyla 8, 9 ve 9) üç hastanın ikisinde metastatik prostat kanseri olgusu bulunduğu saptanmıştır. Çalışmamıza katılan 85 hastanın ise 3'ünde metastatik prostat kanseri olgusu bildirilmiştir.

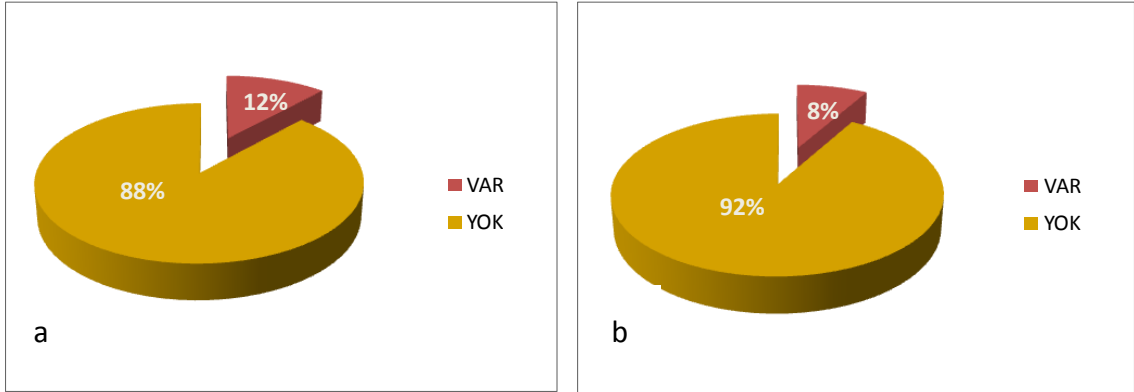
Çalışmamızda yer alan hastaların serumdaki PSA düzeyleri incelendiğinde hastaların 69'unda (%84) 10 veya 10 ng/ml'den düşük olduğu, 13'ünde (%16) ise 10 ng/ml'den yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.4-b).



Şekil 3. 4 Hasta grubundaki bireylerin a: Gleason skoru, b: serumdaki PSA düzeyi yüzdeleri

Bu tez çalışmasına katılan 10 (%12) hastada ailede kanser öyküsünün olduğu bildirilmiştir. Bunların 7'sinde (%8) ailede prostat kanseri hastalığının olduğu

belirtilmiştir (Şekil 3.5). 4 hastanın babasında, 3 hastanın ise erkek kardeşleri/ağabeylerinde prostat kanseri olgusu kaydedilmiştir.



Şekil 3. 5 Hasta grubundaki bireylerin a: ailede kanser öyküsü, b: ailede prostat kanseri öyküsü yüzdeleri

3.2 Hasta ve Kontrol Örneklerinden İzole Edilen DNA'ların Safılık ve Miktar Analizi

Hasta ve kontrol grubuna ait örnekler T0001'den başlayarak T0175'e kadar numaralandırılarak kodlanmıştır. DNA izolasyonu sonucunda NanoDrop Mikro-Hacim UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak tayin edilen DNA konsantrasyonları (ng/μl) ve absorbans değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Çalışmamızda izolasyonu tamamlanan örneklerin çoğunluğuna ait A_{260}/A_{280} değerleri 1.7-2.0 arasında olduğundan DNA izolasyonu yapılan her bir örnek daha sonraki deneysel basamakların gerçekleştirilmesi için çalışmaya dahil edilmiştir [109].

Çizelge 3. 1 Çalışma grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/μl)	A_{260}	A_{280}	A_{260}/A_{280}
T0001	106,7	2,135	1,177	1,81
T0002	46	0,919	0,516	1,78
T0003	166,6	3,331	1,801	1,85
T0004	43,4	0,868	0,47	1,84
T0005	57	1,139	0,628	1,82
T0006	84,2	1,685	0,967	1,74
T0007	75,7	1,514	0,838	1,81
T0008	63,5	1,271	0,721	1,76
T0009	46,5	0,929	0,535	1,74
T0010	72,9	1,459	0,822	1,78
T0011	77,6	1,553	0,857	1,81

Çizelge 3. 1 Çalışma grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0012	56,8	1,135	0,636	1,78
T0013	98,7	1,973	1,096	1,8
T0014	116,9	2,337	1,275	1,83
T0015	98,6	1,972	1,083	1,82
T0016	67,9	1,357	0,732	1,85
T0017	72,9	1,457	0,803	1,81
T0018	70,8	1,416	0,773	1,83
T0019	93,4	1,868	1,039	1,8
T0020	20,9	0,417	0,24	1,74
T0021	34,3	0,687	0,342	2,01
T0022	38,6	0,772	0,405	1,91
T0023	71,6	1,432	0,807	1,77
T0024	39,3	0,786	0,402	1,96
T0025	18,8	0,376	0,239	1,57
T0026	21	0,419	0,199	2,11
T0027	34,4	0,688	0,351	1,96
T0028	22	0,44	0,22	2
T0029	23,2	0,463	0,259	1,79
T0030	57,2	1,143	0,55	2,08
T0031	32,6	0,652	0,316	2,07
T0032	32,7	0,654	0,313	2,09
T0033	52,8	1,056	0,51	2,07
T0034	42,4	0,848	0,476	1,78
T0035	54,9	1,097	0,627	1,75
T0036	99,1	1,983	1,071	1,85
T0037	35,2	0,704	0,382	1,84
T0038	65	1,3	0,764	1,7
T0039	67,6	1,351	0,811	1,67
T0040	101,1	2,022	1,217	1,66
T0041	53,7	1,073	0,596	1,8
T0042	69,2	1,385	0,692	2
T0043	76,6	1,531	0,857	1,79
T0044	91,1	1,822	0,987	1,85
T0045	92,8	1,856	1,012	1,83
T0046	56,2	1,124	0,603	1,86
T0047	54,1	1,082	0,565	1,91
T0048	68,8	1,376	0,757	1,82
T0049	76,2	1,524	0,873	1,75
T0050	105,6	2,112	1,157	1,83
T0051	82	1,64	0,893	1,84
T0052	249,2	4,984	2,677	1,86
T0053	103,3	2,066	1,104	1,87

Çizelge 3. 1 Çalışma grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0054	211,8	4,237	2,271	1,87
T0055	49,9	0,999	0,553	1,81
T0056	95	1,899	1,042	1,82
T0057	116,1	2,321	1,267	1,83
T0058	68,9	1,379	0,782	1,76
T0059	105,9	2,118	1,192	1,78
T0060	100,6	2,012	1,147	1,75
T0061	64,6	1,293	0,751	1,72
T0062	97,9	1,958	1,074	1,82
T0063	173,7	3,474	1,873	1,85
T0064	222,2	4,445	2,381	1,87
T0065	60,1	1,202	0,645	1,86
T0066	61,4	1,227	0,664	1,85
T0067	26,9	0,538	0,288	1,87
T0068	51,3	1,027	0,579	1,77
T0069	55,4	1,109	0,623	1,78
T0070	28,7	0,574	0,314	1,83
T0071	30,3	0,606	0,344	1,76
T0072	14,4	0,287	0,174	1,65
T0073	78	1,56	0,866	1,8
T0074	38,2	0,765	0,422	1,81
T0075	53,2	1,063	0,571	1,86
T0076	51,1	1,022	0,575	1,78
T0077	108,2	2,163	1,19	1,82
T0078	53,2	1,064	0,568	1,87
T0079	47	0,941	0,487	1,93
T0080	32,1	0,642	0,344	1,87
T0081	43,2	0,865	0,472	1,83
T0082	40,6	0,811	0,442	1,84
T0083	268,6	5,372	3,491	1,54
T0084	21	0,42	0,248	1,69
T0085	30,5	0,61	0,352	1,73
T0086	36	0,72	0,399	1,81
T0087	78,8	1,576	0,868	1,82
T0088	73,6	1,472	0,819	1,8
T0089	84,8	1,697	0,961	1,77
T0090	110,6	2,211	1,213	1,82
T0091	122,9	2,457	1,363	1,8
T0092	82,5	1,649	0,923	1,79
T0093	95,8	1,916	1,042	1,84
T0094	128,7	2,574	1,426	1,8
T0095	113,7	2,275	1,235	1,84

Çizelge 3. 1 Çalışma grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0096	97,3	1,947	1,089	1,79
T0097	71,1	1,422	0,788	1,8
T0098	91,5	1,83	1,005	1,82
T0099	65,1	1,301	0,72	1,81
T0100	109,5	2,191	1,173	1,87
T0101	46,9	0,939	0,54	1,74
T0102	19,3	0,385	0,193	1,99
T0103	24,2	0,485	0,237	2,04
T0104	22,6	0,453	0,229	1,98
T0105	16	0,319	0,149	2,14
T0106	31,5	0,629	0,309	2,03
T0107	27,9	0,558	0,278	2,01
T0108	16,4	0,328	0,166	1,97
T0109	51,5	1,03	0,559	1,84
T0110	22,1	0,443	0,22	2,01
T0111	41,7	0,835	0,462	1,81
T0112	53	1,059	0,572	1,85
T0113	75,3	1,506	0,829	1,82
T0114	60,5	1,211	0,679	1,78
T0115	93,5	1,87	1,017	1,84
T0116	85,7	1,713	0,947	1,81
T0117	75	1,501	0,805	1,86
T0118	42,9	0,859	0,47	1,83
T0119	64,9	1,299	0,713	1,82
T0120	78,6	1,571	0,865	1,82
T0121	112,7	2,254	1,236	1,82
T0122	31,3	0,626	0,327	1,91
T0123	104,2	2,085	1,135	1,84
T0124	120,5	2,41	1,276	1,89
T0125	104,8	2,096	1,134	1,85
T0126	81,2	1,624	0,879	1,85
T0127	139,4	2,789	1,512	1,84
T0128	83,6	1,672	0,923	1,81
T0129	86,4	1,728	0,996	1,73
T0130	97,6	1,952	1,077	1,81
T0131	236,6	4,733	2,551	1,86
T0132	114,9	2,298	1,274	1,8
T0133	67,1	1,342	0,759	1,77
T0134	95,8	1,916	1,051	1,82
T0135	88,4	1,768	1,008	1,75
T0136	70	1,401	0,773	1,81
T0137	44,1	0,882	0,508	1,74

Çizelge 3. 1 Çalışma grubu örneklerinin DNA konsantrasyonu ve saflık tayini (devamı)

Örnekler	DNA Kons. (Ünite:ng/µl)	A ₂₆₀	A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
T0138	80,2	1,604	0,903	1,78
T0139	60,7	1,214	0,691	1,76
T0140	79,1	1,582	0,878	1,8
T0141	58,3	1,165	0,656	1,78
T0142	61,7	1,234	0,678	1,82
T0143	99,7	1,995	1,095	1,82
T0144	134,5	2,69	1,449	1,86
T0145	46,9	0,938	0,526	1,78
T0146	70,4	1,408	0,771	1,83
T0147	75,6	1,512	0,832	1,82
T0148	23,4	0,469	0,251	1,87
T0149	30,2	0,604	0,335	1,8
T0150	44	0,88	0,491	1,79
T0151	28,2	0,564	0,289	1,95
T0152	54,2	1,084	0,571	1,9
T0153	51,1	1,023	0,599	1,71
T0154	45,9	0,918	0,529	1,74
T0155	22,1	0,442	0,27	1,64
T0156	57,4	1,149	0,644	1,79
T0157	78,2	1,564	0,83	1,88
T0158	51,3	1,026	0,584	1,76
T0159	183,1	3,662	1,95	1,88
T0160	99,8	1,996	1,081	1,85
T0161	38,3	0,767	0,464	1,65
T0162	39,8	0,797	0,421	1,89
T0163	55,3	1,106	0,596	1,85
T0164	56,6	1,131	0,61	1,86
T0165	48,8	0,976	0,535	1,82
T0166	55,8	1,115	0,624	1,79
T0167	34,3	0,685	0,366	1,87
T0168	44,7	0,895	0,484	1,85
T0169	63,8	1,277	0,695	1,84
T0170	36,9	0,738	0,39	1,89
T0171	37,5	0,75	0,399	1,88
T0172	73,2	1,464	0,804	1,82
T0173	64,8	1,297	0,722	1,8
T0174	29,4	0,587	0,337	1,74
T0175	29,3	0,586	0,328	1,79

3.3 SNP, Primer ve Uzama Problemlerinin Genomdaki Konumu

Bu tez çalışmasında genotiplenen 67 SNP'nin genomdaki konumu, allel, kromozom ve gen bilgileri [78], [121] ve Çizelge 3.2'de belirtilen diğer kaynaklara göre hazırlanmıştır.

Çizelge 3. 2 SNP'lerin genomdaki konumu ve allel bilgileri

SNP Numarası	Fiziksel Pozisyonu	Kromozom Lokasyonu	Genin Sembolü	Alleller	Kaynak (lar)
rs4242384	128,518,554	8q24.21	Intergenik	A/C	[83], [84], [86]
rs1859962	69,108,753	17q.24.3	Intergenik	G/T	[83], [84], [86], [90]
rs651164	160,581,374	6q.25.3	SLC22A1	A/G	[84], [86]
rs1016343	128,093,297	8q.24.21	Intergenik	C/T	[83], [86]
rs7130881	68,995,958	11q.13.3	Intergenik	A/G	[84], [86]
rs445114	128,323,181	8q.24.21	Intergenik	C/T	[80], [86]
rs7501939	36,101,156	17q12	HNF1B	C/T	[82], [83], [84], [86]
rs10993994	51,549,496	10q.11.23	MSMB	C/T	[82], [83], [85], [86]
rs6983267	128,413,305	8q.24.21	Intergenik	G/T	[83], [85], [86], [89]
rs1456315	128,103,937	8q.24.21	Intergenik	A/G	[82], [122]
rs1512268	23,526,463	8p.21.2	NKX3.1	A/G	[82], [84], [123]
rs6465657	97,816,327	7q.21.3	LMTK2	C/T	[83], [84]
rs1447295	128,485,038	8q.24.21	Intergenik LOC727677	A/C	[80], [89], [90]
rs16901979	128,124,916	8q.24.21	Intergenik	A/C	[80], [90]
rs4430796	36,098,040	17q.12	HNF1B	A/G	[80], [85], [124]
rs5945572	51,229,683	Xp.11.22	NUDT10, NUDT11, LOC340602	A/G	[79]
rs721048	63,131,731	2p15	EHBP1	A/G	[79]
rs10896449	68,994,667	11q.13.3	Intergenik	A/G	[85]
rs11199874	123,032,519	10q26.12	Intergenik	A/G	[91]
rs4775302	46,639,808	15q21.1	Intergenik	A/G	[91]
rs9623117	40,452,119	22q13.1	TNRC6B	C/T	[88]
rs6497287	28,440,287	15q13	HERC2	C/T	[125]
rs3774315	172,231,986	3q26	TNFSF10	A/G	[125]
rs1571801	124,427,373	9q33	DAB2IP	A/C	[126]
rs3865443	51,537,682	19q13.33	KLK12	G/T	[127]
rs4242382	128,517,573	8q.24.21	Intergenik	A/G	[85]
rs4962416	126,696,872	10q26.13	CTBP2	C/T	[85]
rs10486567	27,976,563	7p15.2	JAZF1	A/G	[85]
rs13385191	20,888,265	2p24.1	C2orf43	A/G	[82]
rs12653946	1,895,829	5p15.33	Intergenik	C/T	[82]
rs1983891	41,536,427	6p21.1	FOXP4	C/T	[82]

Çizelge 3. 2 SNP'lerin genomdaki konumu ve allel bilgileri (devamı)

SNP Numarası	Fiziksel Pozisyonu	Kromozom Lokasyonu	Genin Sembolü	Alleller	Kaynak (lar)
rs339331	117,210,052	6q22.1	GPRC6A-RFX6	C/T	[82]
rs9600079	73,728,139	13q22.1	Intergenik	G/T	[82]
rs9325782	16,090,473	chr:8	MSRI	C/T	[128]
rs2410373	15,924,506	chr:8	MSRI	A/C	[128]
rs7210100	47,436,749	17q21.33	ZNF652	A/G	[87]
rs902774	53,273,904	12q13.13	KRT8, EIF4B, TENC1	A/G	[86]
rs2292884	238,443,226	2q37.3	MLPH	A/G	[86]
rs10934853	128,038,373	3q21.3	Intergenik	A/C	[80]
rs16902094	128,320,346	8q24.21	Intergenik	A/G	[80]
rs8102476	38,735,613	19q13.2	Intergenik	C/T	[80]
rs11228565	68,978,580	11q13.3	Intergenik	A/G	[80]
rs9364554	160,833,664	6q25.3	SLC22A3	C/T	[84]
rs7931342	68,994,497	11q13.3	Intergenik	G/T	[84]
rs2735839	51,364,623	19q13.3	KLK3	A/G	[84]
rs1218582	154,834,183	1q21.3	KCNN3	C/T	[81]
rs1270884	114,685,571	12q24.21	TBX5	C/T	[81]
rs1894292	74,349,158	4q13.3	AFM, RASSF6	A/G	[81]
rs1933488	153,441,079	6q25.2	RSG17	A/G	[81]
rs2405942	9,814,135	Xp22.2	SHROOM2	A/G	[81]
rs2427345	61,015,611	20q13.33	GATAS, CABLES2	C/T	[81]
rs3771570	242,382,864	2q37.3	FARP2	C/T	[81]
rs4245739	204,518,842	1q32.1	MDM4	A/C	[81]
rs6062509	62,362,563	20q13.33	ZGPAT	G/T	[81]
rs6869841	172,939,426	5q35.2	BOD1 (FAM44B)	C/T	[81]
rs7141529	69,126,744	14q24.1	RAD51B	C/T	[81]
rs7241993	76,773,973	18q23	SALL3	C/T	[81]
rs7611694	113,275,624	3q13.2	SIDT1	A/C	[81]
rs8008270	53,372,330	14q22.1	FERMT2	C/T	[81]
rs11135910	25,892,142	8p21.2	EBF2	C/T	[81]
rs11568818	102,401,661	11q22.2	MMP7	A/G	[81]
rs11650494	47,345,186	17q21.32	HOXB13, PRAC, SPOP, ZNF652	A/G	[81]
rs11902236	10,117,868	2p25.1	TAF1B, GRHL1	C/T	[81]
rs12155172	20,994,491	7p15.3	SP8	A/G	[81]
rs3096702	32,192,331	6p21.32	NOTCH4	C/T	[81]
rs3850699	104,414,221	10q24.32	TRIM8	C/T	[81]
rs684232	618,965	17p13.3	VPS53, FAM57A	A/G	[81]

Genotiplenen 67 SNP'nin genomdaki yeri ile ilgili doğrulama yapılarak SNP'lerin bulunduğu yaklaşık 200 bç'lik DNA dizileri elde edilmiştir. Her bir SNP için multipleks PCR'da kullanılan forward ve reverse primerler ile tek baz spesifik uzama problemlerinin genom dizisi üzerindeki konumları manuel olarak da tespit edilmiştir. Böylece yazılımlar kullanılarak tasarlanan primer ve problemlerin SNP'nin bulunduğu genom dizisi üzerindeki konumları doğrulanmıştır.

Çizelge 3.3'de örnek olarak rs902774 nolu SNP'ye ait primer ve uzama probu dizileri SNP'nin yer aldığı DNA dizisi üzerinde gösterilmiştir. Multipleks PCR primerleri tasarlanırken her bir amplifikasyon primerinin 5' ucuna genel bir 10-mer etiketi (5'-ACGTTGGATG-3') eklenmesi gerektiği Bölüm 2.2.1.1'de açıklanmıştır. Bu nedenle forward PCR primeri tasarlanırken Çizelge 3.3'de mavi ile gösterilen dizinin 5' ucuna 10-mer etiketi eklenerek primerin dizisi 5'ACGTTGGATGAGCAGTTTCTTCCCTGCTC 3' olarak elde edilmiştir. Çizelge 3.3'de yeşil ile gösterilen dizinin reverse ve komplementeri alınarak 5' ucuna 10-mer etiketi eklenmiş ve reverse PCR primerinin dizisi 5'ACGTTGGATGCGGGATGGATTGTGCAAAC3' olarak elde edilmiştir. Çizelge 3.3'de görüldüğü gibi kırmızı ile gösterilen uzama probu dizisinin 3' ucu SNP'nin bulunduğu bölgenin yanındadır.

Çizelge 3. 3 rs902774 no'lu SNP'nin bulunduğu DNA dizisi (Forward PCR primeri mavi ile gösterilen diziye, reverse PCR primeri yeşil ile gösterilen diziye göre tasarlanmıştır, uzama probunun dizisi kırmızı ile gösterilmiştir)

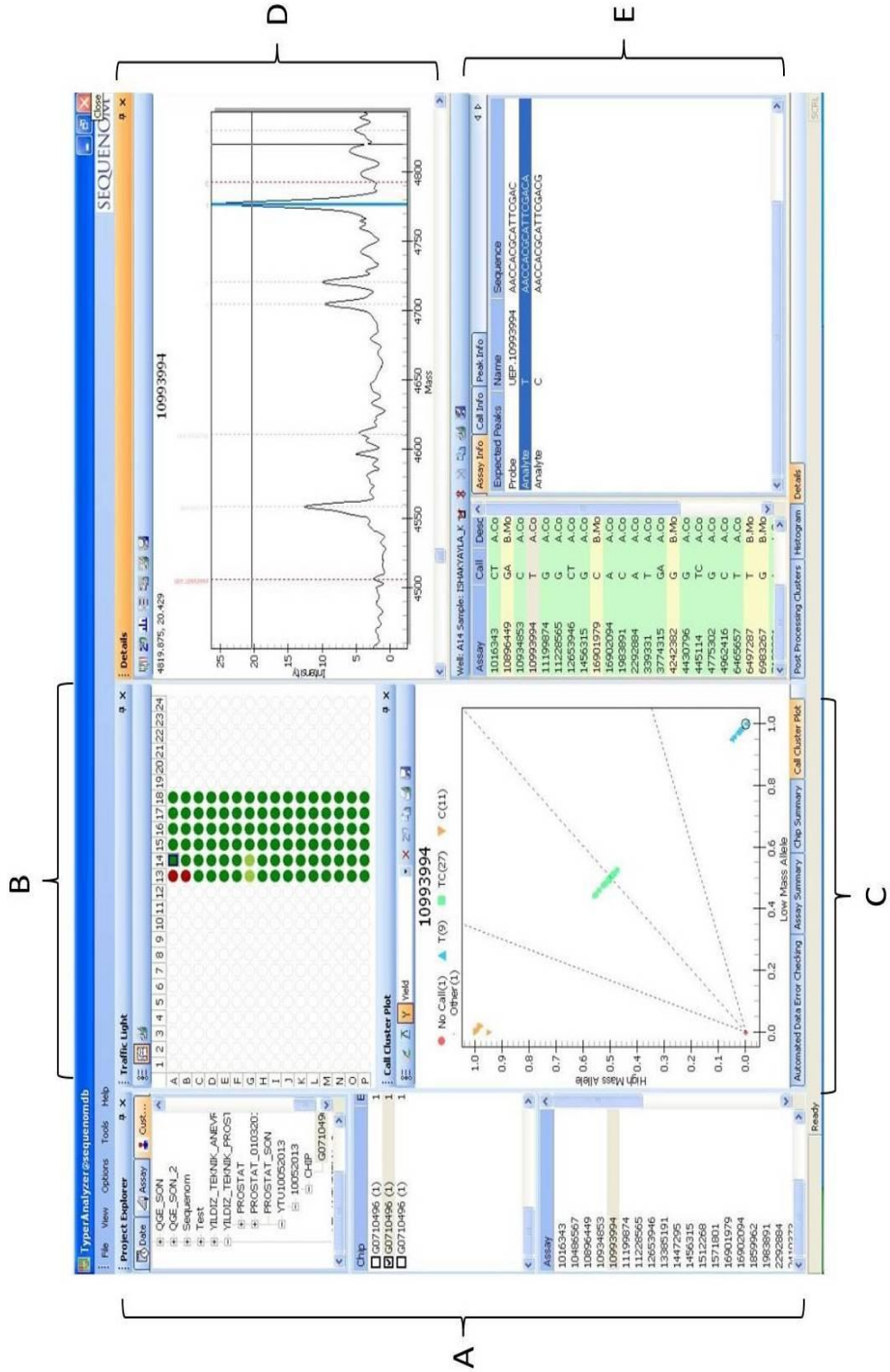
SNP'nin bulunduğu DNA dizisi	Uzunluk (bç)
5'AGGGAGGATGTAGTGAGGGGGTGGGAGGGTGTGCAGGCTCGGCTTCCAGA AGCCGGGAGAGCAGTTTCTTCCCTGCTCCTCTGCTGCCTCCTAGTGGAT[A/G] TCTGATGTCTCTCCKGTTTGACAAATCCATCCCGCTTCGGTCAATCCTAGCCGT CTWGGTGCCATTCTTCAGAAGTTCAAGCAGGCTGACAGCAGGCT 3'	100 bç [A/G] 100 bç

3.4 Genotipleme Uygulama Sonuçları

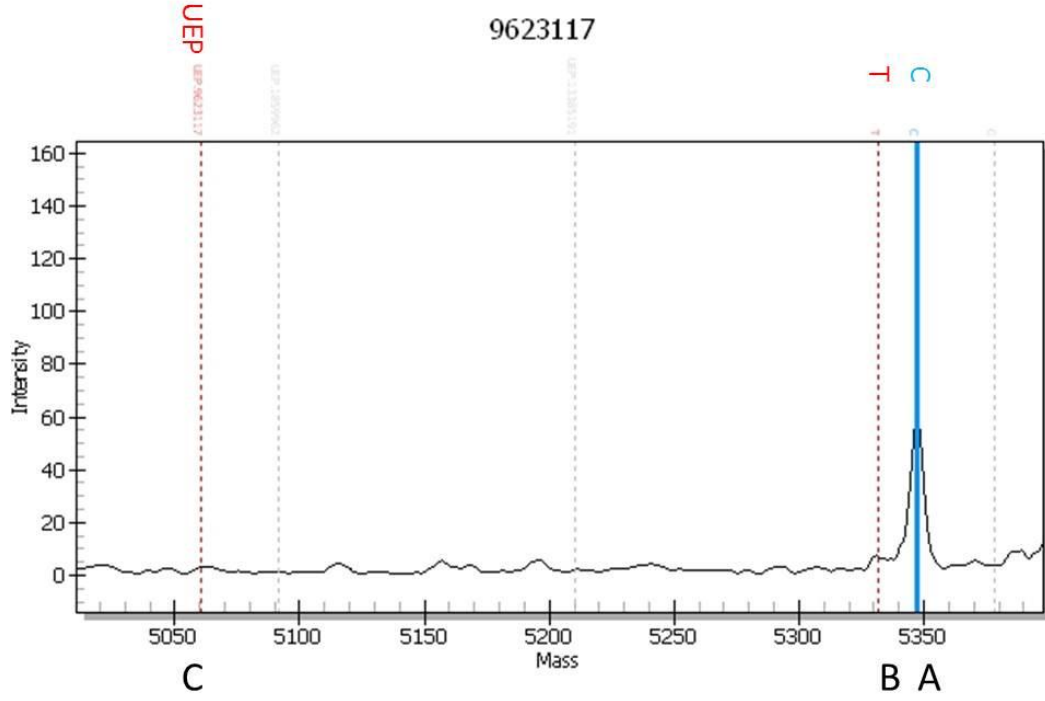
MassARRAY TYPED 4.0 genotipleme yazılımı ile üzerine PCR ürünü dağıtılan SpectroChip'in analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar verilerin analizine olanak

sağlayan yazılımın veritabanına otomatik olarak yüklenmiştir. Şekil 3.6'da rs10993994'a ait genotipleme sonuçları örnek olarak gösterilmiştir. A'da gösterilen araç (Project Explorer) genotipleme sonuçlarını incelemek için istenilen assay ve çipin seçilmesini sağlamaktadır. B'de gösterilen araç (Traffic Lights) her bir kuyudaki başarılı sonuç yüzdesini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Her bir nokta ilgili kuyuya yüklenen DNA örneğini temsil etmektedir. Koyu yeşil ve açık yeşil noktalar elde edilen verilerin sırasıyla iyi ve orta kalitede olduğunu belirtirken kırmızı renkli noktalar ise verilerin zayıf olduğunu veya veri elde edilemediğini belirtmektedir. C'de gösterilen araçta (Cluster Plot) bulunan noktalar düşük kütleli, yüksek kütleli ve orta düzeyde kütleli allellere ait dağılımları göstermektedir. D'de gösterilen araçta (Spectrum) analite ait sinyaller ile genotip ve kütle dağılımını gösteren spektrumlar yer almaktadır. E'de gösterilen araçta ise her bir kuyuda bulunan SNP'ler için genotipleme verileri (genotipler, uzama reaksiyonu ürünlerinin dizileri) detaylı olarak yer almaktadır.

Şekil 3.7'de ise rs9623117 için bir spektrum örneği gösterilmiştir. Bu SNP için tasarlanan uzama primerinin 5060,3 Da olduğu; tek baz uzama reaksiyonu sonucunda diziye C veya T alleli dahil olursa sırasıyla 5347,5 veya 5331,5 Daltonluk dizilerin elde edileceği bilinmektedir. Şekil 3.7'da A, B ve C ile gösterilen dikey çizgiler rs9623117 için incelenmesi gereken değerleri işaret etmektedir. A ile gösterilen pik 5347,5 Daltona tekabül etmekte olup C allelinin varlığını göstermektedir. Buna karşılık 5331,5 Da için pik oluşumu gözlenmediğinden T allelinin var olmadığı anlaşılmaktadır (B). Bağlanmamış uzama primerlerinin (UEP:Unextended Extend Primers) de beklenen kütle değerinde olduğu görülmektedir (C). Spektrumda yer alan düşük yoğunluktaki diğer pikler multipleks reaksiyondaki diğer SNP'lere ait bağlanmamış uzama primerlerini ve allelleri göstermektedir.



Şekil 3. 6 rs10993994 için MassARRAY TYPER 4.0 genotipleme sonucu örneği



Şekil 3. 7 rs9623117 için spektrum örneği (A:C alleli, B:T alleli C:UEP)

3.5 İstatistik Analizler

3.5.1 Hardy Weinberg Dengesi Testi Sonuçları

67 SNP'den rs11135910, rs11902236, rs445114, rs721048, rs6497287 ve rs6983267 polimorfizmlerinin genotipleri için Hardy Weinberg dengesinden sapma olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Çizelge 3.4). Çizelge 3.4 incelendiğinde 6 SNP için de homozigot genotiplerin gözlenen değerlerinin beklenenden fazla olduğu; heterozigot genotiplerin gözlenen değerlerinin ise beklenenden az olduğu görülmektedir.

Hardy Weinberg dengesinden sapmalar genotipleme hataları için bir marker olarak kullanılmaktadır [129]. Bununla birlikte, Hardy Weinberg dengesinde olan bir populasyonun sınırsız sayıda bireyden oluştuğu varsayılmaktadır [130]. Analizin sınırlı sayıda bireyle yapılması bir örnekleme hatasını da dikkate almamızı zorunlu kılmaktadır [131].

Çizelge 3. 4 Hardy Weinberg testi sonuçları

SNP'ler	Genotipler	Gözlenen	Beklenen	Ki kare	P değeri
rs11135910	CC	135	131,16	6,25	0,012
	CT	33	40,69		
	TT	7	3,16		
rs11902236	CC	90	83,45	5,44	0,020
	CT	61	74,10		
	TT	23	16,45		
rs445114	TT	58	50,63	5,24	0,022
	TC	69	83,74		
	CC	42	34,63		
rs721048	GG	127	122,70	6,89	0,009
	GA	34	42,60		
	AA	8	3,70		
rs6497287	TT	128	126,04	4,38	0,036
	TC	19	22,92		
	CC	3	1,04		
rs6983267	GG	55	48,46	4,09	0,043
	GT	71	84,07		
	TT	43	36,46		

İlişkilendirme çalışmalarında, fenotipler ile SNP ilişkisi analiz edilmeden önce genellikle her bir SNP'nin HWE test edilmektedir [129]. Geleneksel olarak, HWE'den belirgin bir şekilde sapma gösteren SNP'ler ileri analizler yapılmadan çalışmadan çıkarılmaktadır [130]. Ancak rs11135910 [81], rs11902236 [81], rs445114 [80], [86], rs721048 [79], rs6497287 [125] ve rs6983267 [83], [86] daha önce yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında HWE açısından test edildiği ve HWE'den sapma göstermediği için bu tez çalışmasında nasıl bir farklılık oluşabileceğini test etmek için sözkonusu SNP'ler tez çalışmasına dahil edilerek analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu SNP'ler için istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

3.5.2 Prostat Kanseri ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

3.5.2.1 Prostat Kanseri ile SNP Allellerinin İlişkilendirilmesi

Analizleri tamamlanan 67 SNP'den 7 tanesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Bunlardan rs1016343, rs1456315, rs10896449, rs3771570, rs7141529 ve rs684232 varyantlarının en yüksek OR değerleri ile istatistiksel olarak prostat kanseri riski ile belirgin bir şekilde ilişkili olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel olarak belirgin bir

şekilde anlamlı olduğu tespit edilen rs2427345 prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmemiştir. 60 SNP'ye ait p değerleri 0,05'ten büyük olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çizelge 3.5'te her bir SNP'deki allel frekansları, OR ve p değerleri verilmiştir.

Çizelge 3. 5 SNP allellerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları

SNP			1. Allelin Frekansı		2. Allelin Frekansı		Minör allelin Yaygın allele göre	
rs numarası	1. Allel	2. Allel	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs339331	T	C	0,762	0,733	0,238	0,267	0,86 (0,52-1,40)	0,536
rs445114	T	C	0,556	0,540	0,444	0,460	0,94 (0,61-1,44)	0,771
rs651164	A	G	0,357	0,328	0,643	0,672	1,14 (0,73-1,77)	0,564
rs721048	G	A	0,866	0,839	0,134	0,161	1,03 (0,55-1,94)	0,932
rs902774	G	A	0,793	0,862	0,207	0,138	1,62 (0,75-3,51)	0,220
rs1016343	C	T	0,735	0,841	0,265	0,159	1,91 (1,12-3,26)	0,017
rs1447295	C	A	0,917	0,928	0,083	0,072	1,17 (0,53-2,56)	0,699
rs1456315	A	G	0,517	0,309	0,483	0,691	2,40 (1,22-4,72)	0,011
rs1512268	A	G	0,500	0,444	0,500	0,556	1,25 (0,82-1,92)	0,296
rs1571801	C	A	0,805	0,756	0,195	0,244	0,75 (0,45-1,25)	0,272
rs1983891	C	T	0,805	0,727	0,195	0,273	0,65 (0,39-1,08)	0,093
rs2292884	A	G	0,732	0,738	0,268	0,262	1,03 (0,64-1,68)	0,890
rs2410373	A	C	0,506	0,562	0,494	0,438	1,25 (0,82-1,92)	0,305
rs2735839	G	A	0,792	0,772	0,208	0,228	0,89 (0,54-1,49)	0,661
rs3774315	A	G	0,599	0,648	0,401	0,352	1,23 (0,79-1,91)	0,353
rs3865443	G	T	0,744	0,678	0,256	0,322	0,72 (0,45-1,15)	0,174
rs4242382	A	G	0,098	0,052	0,902	0,948	1,96 (0,84-4,56)	0,120
rs4242384	A	C	0,905	0,944	0,095	0,056	1,79 (0,79-4,06)	0,164
rs4430796	G	A	0,409	0,489	0,591	0,511	0,72 (0,47-1,11)	0,138
rs4775302	A	G	0,587	0,557	0,413	0,443	0,88 (0,57-1,37)	0,580
rs4962416	T	C	0,988	0,983	0,012	0,017	0,69 (0,11-4,21)	0,692
rs5945572	A	G	0,357	0,289	0,643	0,711	1,37 (0,87-2,15)	0,174
rs6465657	C	T	0,544	0,483	0,456	0,517	1,28 (0,83-1,96)	0,266
rs6497287	T	C	0,933	0,904	0,067	0,096	0,67 (0,29-1,58)	0,365
rs6983267	G	T	0,543	0,528	0,457	0,472	0,94 (0,61-1,45)	0,785
rs7130881	A	G	0,815	0,869	0,185	0,131	1,51 (0,84-2,73)	0,170
rs7210100	G	A	1,000	1,000	0,000	0,000	1,09 (0,02-55,06)	0,967
rs7501939	C	T	0,675	0,609	0,325	0,391	0,75 (0,48-1,18)	0,211
rs7931342	G	T	0,583	0,500	0,417	0,500	0,71 (0,47-1,09)	0,119
rs8102476	T	C	0,476	0,466	0,524	0,534	1,04 (0,68-1,59)	0,853
rs9325782	T	C	0,994	0,972	0,006	0,028	0,21 (0,02-1,84)	0,159
rs9364554	C	T	0,774	0,812	0,226	0,188	1,26 (0,75-2,14)	0,386
rs9600079	G	T	0,582	0,512	0,418	0,488	0,75 (0,49-1,16)	0,200

Çizelge 3. 5 SNP allellerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları (devamı)

SNP			1. Allelin Frekansı		2. Allelin Frekansı		Minör allelin Yaygın allele göre	
rs numarası	1. Allel	2. Allel	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs9623117	T	C	0,744	0,733	0,256	0,267	0,95 (0,59-1,53)	0,820
rs10486567	G	A	0,679	0,683	0,321	0,317	1,02 (0,65-1,60)	0,924
rs10896449	G	A	0,574	0,466	0,426	0,534	1,54 (1,00-2,37)	0,047
rs10934853	C	A	0,698	0,642	0,302	0,358	0,78 (0,49-1,23)	0,279
rs10993994	T	C	0,555	0,489	0,445	0,511	1,30 (0,85-1,99)	0,222
rs11199874	G	A	0,698	0,744	0,302	0,256	1,26 (0,78-2,03)	0,338
rs11228565	G	A	0,744	0,807	0,256	0,193	1,44 (0,86-2,41)	0,167
rs12653946	C	T	0,487	0,517	0,513	0,483	1,13 (0,73-1,73)	0,586
rs13385191	A	G	0,625	0,583	0,375	0,417	0,84 (0,55-1,29)	0,427
rs16901979	C	A	0,920	0,953	0,080	0,047	1,79 (0,72-4,44)	0,210
rs16902094	A	G	0,860	0,852	0,140	0,148	0,94 (0,51-1,73)	0,844
rs1218582	C	T	0,641	0,572	0,359	0,428	0,75 (0,49-1,15)	0,187
rs1270884	T	C	0,547	0,511	0,453	0,489	0,87 (0,57-1,32)	0,501
rs1894292	G	A	0,547	0,528	0,453	0,472	0,93 (0,61-1,41)	0,718
rs1933488	A	G	0,518	0,506	0,482	0,494	0,95 (0,63-1,45)	0,821
rs2405942	A	G	0,788	0,789	0,212	0,211	1,02 (0,61-1,70)	0,942
rs2427345	C	T	0,700	0,561	0,300	0,439	0,55 (0,35-0,85)	0,007
rs3771570	C	T	0,851	0,922	0,149	0,078	2,07 (1,04-4,14)	0,039
rs4245739	A	C	0,702	0,685	0,298	0,315	0,92 (0,58-1,46)	0,732
rs6062509	T	G	0,682	0,722	0,318	0,278	1,21 (0,76-1,91)	0,415
rs6869841	C	T	0,738	0,767	0,262	0,233	1,17 (0,72-1,90)	0,537
rs7141529	C	T	0,500	0,617	0,500	0,383	1,61 (1,05-2,46)	0,029
rs7241993	C	T	0,720	0,700	0,280	0,300	0,91 (0,57-1,44)	0,678
rs7611694	A	C	0,631	0,578	0,369	0,422	0,80 (0,52-1,23)	0,311
rs8008270	C	T	0,788	0,833	0,212	0,167	1,34 (0,78-2,30)	0,282
rs11135910	C	T	0,876	0,856	0,124	0,144	0,83 (0,45-1,55)	0,567
rs11568818	A	G	0,482	0,517	0,518	0,483	1,15 (0,75-1,75)	0,521
rs11650494	G	A	0,894	0,900	0,106	0,100	1,07 (0,53-2,12)	0,856
rs11902236	C	T	0,726	0,661	0,274	0,339	0,74 (0,46-1,16)	0,189
rs12155172	G	A	0,759	0,839	0,241	0,161	1,65 (0,97-2,81)	0,063
rs3096702	C	T	0,735	0,789	0,265	0,211	1,35 (0,82-2,21)	0,239
rs3850699	T	C	0,771	0,722	0,229	0,278	0,77 (0,48-1,26)	0,300
rs684232	A	G	0,612	0,717	0,388	0,283	1,61 (1,03-2,51)	0,038

rs1016343 için kontrol ve hasta grubundaki allel dağılımları incelendiğinde C allelinin frekansının T allelininkinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Minör allelin yaygın allele göre OR değeri 1,91 (%95 GA=1,12-3,26) ve p değeri ise 0,017 olarak

hesaplanmıştır ($p \leq 0,05$) (Çizelge 3.5). Sonuç olarak çalışma grubumuzda rs1016343 T allelinin prostat kanseri riski ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

2008 yılında Avrupalı toplumda 1,854 prostat kanseri hastası ve 1,894 kontrol ile yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmasında rs1016343 polimorfizmi prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir ($OR=1,37$; $p=1 \times 10^{-7}$) [83]. 2010 yılında Zheng ve arkadaşlarının 288 hasta ve 155 kontrolden oluşan Çinli popülasyonu ile yapmış olduğu çalışmada rs1016343 polimorfizminin prostat kanseri riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ($OR=2,07$; %95 GA=1.35-3.20; $p=9.4 \times 10^{-4}$) [131]. 2011 yılında Avrupalı toplumdan 2,782 hasta ve 4,458 kontrol ile yapılan bir diğer genom boyu ilişkilendirme çalışmasında rs1016343 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir ($OR=1,31$; %95 GA=1.20-1.42; $p=4 \times 10^{-10}$) [86]. 2012 yılında Danimarkalı 648 hasta ve 526 kontrolden oluşan çalışma popülasyonunda bazı SNP'lerin prostat kanseri ile ilişkisi araştırılmış ve rs1016343 polimorfizmi ile prostat kanseri riski ilişkilendirilmiştir ($OR=1,25$; %95 GA=1.03-1.53; $p=0,02$) [132]. Xu ve arkadaşları (2009) 868 hasta ve 878 kontrolden oluşan Afrikalı Amerikalı bireylerde içerisinde rs1016343'ün de olduğu 20 farklı SNP'nin prostat kanseri ile ilişkisini araştırmıştır ve rs1016343 prostat kanseri ile ilişkilendirilememiştir ($OR=1,16$; %95 GA=0.99-1.37; $p=0,071$) [133].

rs1016343 polimorfizmi 8q24.21'de yer almaktadır. 8q24.21'de yer alan polimorfizmler çok sayıda çalışmada prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir [79], [80], [82], [83], [84],[85], [86], [89], [122], [123].

Eeles ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınladıkları çalışmada 211,115 SNP içeren Illumina array kullanılarak Avrupalı toplumdan 25,074 hasta ve 24,272 kontrolde genotipleme yapılmış ve 23 yeni SNP'nin prostat kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [81]. Bu SNP'ler, bu tez çalışmasına dahil edilmiş ve 22 tanesinin genotiplemesi yapılarak rs3771570, rs7141529 ve rs684232'nin prostat kanseri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Kontrol ve hasta grubundaki rs3771570 allel dağılımları incelendiğinde C allelinin frekansının T allelininkinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Minör allelin yaygın allele göre OR değeri 2,07 (%95 GA=1,04-4,14) ve p değeri ise 0,039 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.5). rs7141529 için de benzer şekilde C allelinin frekasının T

allelininkinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. OR değerinin 1,61 (%95 GA=1,05-2,46) olduğu belirlenmiştir ($p=0,029$) (Çizelge 3.5). rs684232 için yaygın allelin A, nadir allelin ise G olduğu belirlenmiştir. OR değeri 1,61 (%95 GA=1,03-2,51), p değeri ise 0,038 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.5). Eeles ve arkadaşları (2013) rs3771570, rs7141529 ve rs684232 için minör allele göre hesapladıkları OR değerlerinin sırasıyla 1.12 (%95 GA=1.08–1.17), 1.09 (%95 GA=1.06–1.12) ve 1.10 (%95 GA=1.07–1.14) olduğunu bildirmişlerdir [81].

rs7141529 polimorfizmi 14q24'te RAD51B geninin en uzun izoformunun son intronunda yer almaktadır. RAD51 ailesi üyelerinin homolog rekombinasyon yoluyla çift iplikçikli DNA kırıklarının tamirinde görev aldığı ve potansiyel olarak onkogenik olduğu bildirilmiştir [81]. rs3771570 polimorfizmi 2q37.3'te FARP2 geninde yer almaktadır [81]. 2q37.3 daha önce yapılan çalışmalarda prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir [86], [134], [135]. rs684232 polimorfizminin 17p13.3'te yer aldığı ve aday genlerin VPS53 ve FAM57A olduğu bildirilmiştir [81].

rs1456315 polimorfizminin çalışma grubumuzdaki allel dağılımları incelendiğinde kontrol grubunda G allelinin frekansının A allelinin frekansına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Minör allelin yaygın allele göre hesaplanan OR değerinin 2,40 (%95 GA=1,22-4,72) ve p değerinin 0,011 olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.5). Takata ve arkadaşları 2010 yılında yayınladıkları çalışmada, 4,584 hasta ve 8,801 kontrolden oluşan Japon populasyonunda rs1456315 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkili olduğunu bildirmiştir [82]. Benzer şekilde, 4,484 hasta ve 8,934 kontrolden oluşan Çinli populasyonu ile yapılan çalışmada rs1456315 polimorfizmi prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir [122]. rs1456315 polimorfizmi de 8q24.21'de yer almaktadır.

rs10896449 polimorfizminin kontrol grubundaki A allelinin frekansının G allelininkine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Minör allelin yaygın allele göre hesaplanan OR değerinin 1,54 (%95 GA=1,00-2,37) ve p değerinin 0,047 olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.5).

2008 yılında, Avrupa kökenli 1,172 prostat kanseri hastası ve 1,157 kontrolden oluşan genom boyu ilişkilendirme çalışmasında rs10896449 polimorfizmi prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir ($OR=1,1$; %95 GA=0,98-1,23; $p=2\times 10^{-9}$) [85]. 2012 yılında Danimarkalı

648 hasta ve 526 kontrolden oluşan çalışma populasyonunda rs10896449 polimorfizmi ile prostat kanseri riski ilişkilendirilmiştir (OR=1.25; %95 GA=1.06-1.48; p=0.01) [132]. Wang ve ark. (2011) Afrikalı Amerikalı bireylerden oluşan ve 127 prostat kanseri hastası ile 345 kontrol içeren çalışmalarında 24 SNP'nin prostat kanseri ile ilişkisini araştırmış, rs10896449 polimorfizmi ile prostat kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit etmemiştir (OR=0,98; %95 GA=0,73-1,34; p=0,90) [136]. rs10896449 polimorfizmi 11q13.3'te intergenik bölgede yer almaktadır ve kendisine en yakın gen olan MYEOV geni 67 kilobaz yakınında bulunmaktadır. MYEOV geninin ekspresyonu çoklu miyelom hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. MYEOV geninin prostat kanseri riski ile ilgili rolünün olup olmadığı henüz bilinmemektedir [137], [138].

3.5.2.2 Prostat Kanseri ile SNP Genotiplerinin İlişkilendirilmesi

Çalışılan 67 SNP'nin yalnızca 1 tanesine (rs1859962) ait genotipleme verileri alınamamıştır. Bununla birlikte rs902774 ve rs1456315 için yaklaşık örneklerin yarısına ait genotipleme verileri elde edilememiştir (Çizelge 3.6). Bu durumun multipleks PCR'da primer çiftlerinin SNP'nin bulunduğu bölgeye bağlanamayışından kaynaklı olabileceği sonucuna varılmıştır.

rs7210100 polimorfizmi için hasta ve kontrol grubundaki bütün bireylerde GG genotipinin bulunduğu, AA genotipinin ise gözlenmediği belirlenmiştir (Çizelge 3.6). Bununla birlikte Haiman ve ark. (2011) Afrikalı Amerikalı olan 3,425 hasta ve 3,290 kontrolden oluşan çalışmalarında rs7210100 polimorfizmini prostat kanseri riski ile ilişkilendirmişlerdir [87].

Elde edilen bulgulara göre yapılan analizlerin rs1016343, rs1983891, rs3865443, rs7931342, rs1218582, rs2427345, rs7141529, rs684232 için istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Bunlardan rs1016343, rs7141529 ve rs684232 için hesaplanan OR değerleri 1'den büyük olduğu için prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3. 6 SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs339331	Hasta: 82 Kontrol: 88	TT	48 (0,585)	48 (0,545)	Referans	
		TC	29 (0,354)	33 (0,375)	0,88 (0,46-1,67)	0,692
		CC	5 (0,061)	7 (0,080)	0,71 (0,21-2,41)	0,587
		TC+CC	34 (0,415)	40 (0,455)	0,85 (0,46-1,56)	0,600
rs445114	Hasta: 81 Kontrol: 88	TT	28 (0,346)	30 (0,341)	Referans	
		TC	34 (0,420)	35 (0,398)	1,04 (0,52-2,09)	0,911
		CC	19 (0,234)	23 (0,261)	0,89 (0,40-1,96)	0,764
		TC+CC	53 (0,654)	58 (0,659)	0,98 (0,52-1,85)	0,948
rs651164	Hasta: 84 Kontrol: 90	AA	14 (0,167)	8 (0,089)	1,80 (0,68-4,77)	0,240
		AG	32 (0,381)	43 (0,478)	0,76 (0,40-1,45)	0,409
		GG	38 (0,452)	39 (0,433)	Referans	
		AA+AG	46 (0,548)	51 (0,567)	0,93 (0,51-1,68)	0,800
rs721048	Hasta: 82 Kontrol: 87	GG	62 (0,756)	65 (0,747)	Referans	
		AG	18 (0,220)	16 (0,184)	1,18 (0,22-2,51)	0,670
		AA	2 (0,024)	6 (0,069)	0,35 (0,07-1,80)	0,208
		AG+AA	20 (0,244)	22 (0,253)	0,95 (0,47-1,92)	0,893
rs902774	Hasta: 46 Kontrol: 47	GG	28 (0,609)	35 (0,745)	Referans	
		AG	17 (0,369)	11 (0,234)	1,93 (0,78-4,78)	0,154
		AA	1 (0,022)	1 (0,021)	1,25 (0,07-20,89)	0,877
		AG+AA	18 (0,391)	12 (0,255)	1,87 (0,77-4,54)	0,163
rs1016343	Hasta: 81 Kontrol: 88	CC	44 (0,543)	61 (0,693)	Referans	
		TC	31 (0,383)	26 (0,296)	1,65 (0,86-3,16)	0,129
		TT	6 (0,074)	1 (0,011)	8,32 (0,97-71,57)	0,054
		TC+TT	37 (0,457)	27 (0,307)	1,90 (1,01-3,57)	0,046
rs1447295	Hasta: 84 Kontrol: 90	CC	71 (0,845)	77 (0,856)	Referans	
		CA	12 (0,143)	13 (0,144)	1,00 (0,43-2,34)	0,998
		AA	1 (0,012)	0 (0,000)	3,25 (0,13-81,12)	0,472
		CA+AA	13 (0,155)	13 (0,144)	1,08 (0,47-2,50)	0,849
rs1456315	Hasta: 29 Kontrol: 47	AA	15 (0,517)	14 (0,298)	2,45 (0,94-6,41)	0,068
		AG	0 (0,000)	1 (0,021)	0,75 (0,03-19,46)	0,861
		GG	14 (0,483)	32 (0,681)	Referans	
		AA+AG	15 (0,517)	15 (0,319)	2,29 (0,88-5,92)	0,089
rs1512268	Hasta: 84 Kontrol: 89	AA	19 (0,226)	18 (0,202)	1,56 (0,65-3,71)	0,319
		AG	46 (0,548)	43 (0,483)	1,58 (0,77-3,22)	0,212
		GG	19 (0,226)	28 (0,315)	Referans	
		AA+AG	65 (0,774)	61 (0,685)	1,57 (0,80-3,10)	0,193
rs1571801	Hasta: 82 Kontrol: 90	CC	51 (0,622)	52 (0,578)	Referans	
		CA	30 (0,366)	32 (0,355)	0,96 (0,51-1,80)	0,888
		AA	1 (0,012)	6 (0,067)	0,17 (0,02-1,46)	0,106
		CA+AA	31 (0,378)	38 (0,422)	0,83 (0,45-1,53)	0,555
rs1983891	Hasta: 82 Kontrol: 88	CC	52 (0,634)	50 (0,568)	Referans	
		TC	28 (0,342)	28 (0,318)	0,96 (0,50-1,85)	0,906
		TT	2 (0,024)	10 (0,114)	0,19 (0,04-0,92)	0,039
		TC+TT	30 (0,366)	38 (0,432)	0,76 (0,41-1,40)	0,381
rs2292884	Hasta: 82 Kontrol: 86	AA	45 (0,549)	48 (0,558)	Referans	
		AG	30 (0,366)	31 (0,361)	1,03 (0,54-1,97)	0,923
		GG	7 (0,085)	7 (0,081)	1,07 (0,35-3,28)	0,910
		AG+GG	37 (0,451)	38 (0,442)	1,04 (0,57-1,91)	0,903
rs2410373	Hasta: 81 Kontrol: 89	AA	21 (0,259)	28 (0,315)	Referans	0,595
		AC	40 (0,494)	44 (0,494)	1,21 (0,60-2,46)	0,304
		CC	20 (0,247)	17 (0,191)	1,57 (0,66-3,70)	0,427
		AC+CC	60 (0,741)	61 (0,685)	1,31 (0,67-2,56)	
rs2735839	Hasta: 84 Kontrol: 90	GG	54 (0,643)	54 (0,600)	Referans	
		AG	25 (0,298)	31 (0,344)	0,81 (0,42-1,54)	0,515
		AA	5 (0,059)	5 (0,056)	1,00 (0,27-3,65)	1,000
		AG+AA	30 (0,357)	36 (0,400)	0,83 (0,45-1,54)	0,561
rs3774315	Hasta: 81 Kontrol: 88	AA	28 (0,346)	35 (0,398)	Referans	
		AG	41 (0,506)	44 (0,500)	1,16 (0,61-2,24)	0,648
		GG	12 (0,148)	9 (0,102)	1,67 (0,61-4,52)	0,315
		AG+AA	53 (0,654)	53 (0,602)	1,25 (0,67-2,34)	0,485

Çizelge 3. 6 SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları
(devamı)

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs3865443	Hasta: 84 Kontrol: 90	GG	48 (0,571)	39 (0,433)	Referans	
		GT	29 (0,345)	44 (0,489)	0,54 (0,28-1,01)	0,052
		TT	7 (0,084)	7 (0,078)	0,81 (0,26-2,51)	0,719
		GT+TT	36 (0,429)	51 (0,567)	0,57 (0,31-1,05)	0,070
rs4242382	Hasta: 82 Kontrol: 86	AA	1 (0,012)	0 (0,000)	3,44 (0,14-85,98)	0,451
		AG	14 (0,171)	9 (0,105)	1,79 (0,73-4,39)	0,205
		GG	67 (0,817)	77 (0,895)	Referans	
		AA+AG	15 (0,183)	9 (0,105)	1,92 (0,79-4,66)	0,152
rs4242384	Hasta: 84 Kontrol: 90	AA	69 (0,821)	80 (0,889)	Referans	
		AC	14 (0,167)	10 (0,111)	1,62 (0,68-3,89)	0,277
		CC	1 (0,012)	0 (0,000)	3,47 (0,14-86,68)	0,448
		AC+CC	15 (0,179)	10 (0,111)	1,74 (0,73-4,12)	0,209
rs4430796	Hasta: 82 Kontrol: 88	GG	14 (0,171)	20 (0,227)	0,53 (0,22-1,28)	0,158
		AG	39 (0,475)	46 (0,523)	0,64 (0,32-1,29)	0,216
		AA	29 (0,354)	22 (0,250)	Referans	
		GG+AG	53 (0,646)	66 (0,750)	0,61 (0,31-1,18)	0,142
rs4775302	Hasta: 80 Kontrol: 87	AA	28 (0,350)	26 (0,299)	Referans	
		AG	38 (0,475)	45 (0,517)	0,78 (0,39-1,56)	0,488
		GG	14 (0,175)	16 (0,184)	0,81 (0,33-1,99)	0,649
		AG+GG	52 (0,650)	61 (0,701)	0,79 (0,41-1,52)	0,481
rs4962416	Hasta: 85 Kontrol: 89	TT	83 (0,976)	87 (0,978)	Referans	0,549
		TC	2 (0,024)	1 (0,011)	2,10 (0,19-23,56)	0,521
		CC	0 (0,000)	1 (0,011)	0,35 (0,01-8,70)	0,963
		TC+CC	2 (0,024)	2 (0,022)	1,05 (0,14-7,61)	
rs5945572	Hasta: 84 Kontrol: 90	AA	30 (0,357)	26 (0,289)	1,37 (0,72-2,59)	0,336
		GG	54 (0,643)	64 (0,711)	Referans	
rs6465657	Hasta: 80 Kontrol: 88	CC	26 (0,325)	17 (0,193)	1,60 (0,67-3,88)	0,286
		TC	35 (0,438)	51 (0,580)	0,72 (0,34-1,55)	0,402
		TT	19 (0,237)	20 (0,227)	Referans	
		TC+CC	61 (0,762)	68 (0,772)	0,94 (0,46-1,93)	0,875
rs6497287	Hasta: 67 Kontrol: 83	TT	59 (0,881)	69 (0,831)	Referans	
		TC	7 (0,104)	12 (0,145)	0,68 (0,25-1,84)	0,451
		CC	1 (0,015)	2 (0,024)	0,58 (0,05-6,61)	0,665
		TC+CC	8 (0,119)	14 (0,169)	0,67 (0,26-1,70)	0,398
rs6983267	Hasta: 81 Kontrol: 88	GG	29 (0,358)	26 (0,295)	Referans	
		GT	30 (0,370)	41 (0,466)	0,66 (0,32-1,33)	0,243
		TT	22 (0,272)	21 (0,239)	0,94 (0,42-2,09)	0,878
		GT+TT	52 (0,642)	62 (0,705)	0,75 (0,39-1,43)	0,386
rs7130881	Hasta: 81 Kontrol: 88	AA	55 (0,679)	66 (0,750)	Referans	
		AG	22 (0,272)	21 (0,239)	1,26 (0,63-2,52)	0,520
		GG	4 (0,049)	1 (0,011)	4,80 (0,52-44,21)	0,166
		AG+GG	26 (0,321)	27 (0,250)	1,42 (0,72-2,77)	0,308
rs7210100	Hasta: 81 Kontrol: 88	GG	81 (1,000)	88 (1,000)	Referans	
		AA	0 (0,000)	0 (0,000)	1,09 (0,02-55,36)	0,967
rs7501939	Hasta: 80 Kontrol: 87	CC	36 (0,450)	31 (0,356)	referans	
		TC	36 (0,450)	44 (0,506)	0,70 (0,37-1,35)	0,292
		TT	8 (0,100)	12 (0,138)	0,57 (0,21-1,58)	0,284
		TC+TT	44 (0,550)	56 (0,644)	0,68 (0,36-1,26)	0,218
rs7931342	Hasta: 84 Kontrol: 90	GG	32 (0,381)	22 (0,244)	Referans	
		GT	34 (0,405)	46 (0,512)	0,51 (0,25-1,02)	0,058
		TT	18 (0,214)	22 (0,244)	0,56 (0,25-1,29)	0,172
		GT+TT	52 (0,619)	68 (0,756)	0,53 (0,27-1,01)	0,053
rs8102476	Hasta: 83 Kontrol: 88	TT	21 (0,253)	16 (0,182)	1,15 (0,49-2,75)	0,744
		TC	37 (0,446)	50 (0,568)	0,65 (0,32-1,33)	0,238
		CC	25 (0,301)	22 (0,250)	Referans	
		TC+TT	58 (0,698)	66 (0,75)	0,773 (0,39-1,52)	0,454
rs9325782	Hasta: 81 Kontrol: 88	TT	80 (0,988)	83 (0,943)	Referans	
		TC	1 (0,012)	5 (0,057)	0,21 (0,02-1,81)	0,155
		CC	0 (0,000)	0 (0,000)	1,04 (0,02-52,91)	0,985
		TC+CC	1 (0,012)	5 (0,057)	0,21 (0,02-1,81)	0,155

Çizelge 3. 6 SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları
(devamı)

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs9364554	Hasta: 82 Kontrol: 88	CC	50 (0,610)	57 (0,648)	Referans	
		TC	27 (0,329)	29 (0,329)	1,06 (0,56-2,03)	0,857
		TT	5 (0,061)	2 (0,023)	2,85 (0,53-15,34)	0,223
		TC+TT	32 (0,390)	31 (0,352)	1,18 (0,63-2,19)	0,609
rs9600079	Hasta: 79 Kontrol: 85	GG	25 (0,316)	25 (0,294)	Referans	
		GT	42 (0,532)	37 (0,435)	1,14 (0,56-2,31)	0,726
		TT	12 (0,152)	23 (0,271)	0,52 (0,21-1,27)	0,152
		GT+TT	54 (0,684)	60 (0,706)	0,90 (0,46-1,75)	0,756
rs9623117	Hasta: 84 Kontrol: 90	TT	46 (0,547)	50 (0,555)	Referans	
		TC	33 (0,393)	32 (0,356)	1,12 (0,60-2,10)	0,722
		CC	5 (0,060)	8 (0,089)	0,68 (0,21-2,23)	0,523
		TC+CC	38 (0,453)	40 (0,445)	1,03 (0,57-1,88)	0,916
rs10486567	Hasta: 84 Kontrol: 90	GG	38 (0,452)	44 (0,489)	Referans	
		AG	38 (0,452)	35 (0,389)	1,26 (0,69-2,36)	0,479
		AA	8 (0,096)	11 (0,122)	0,84 (0,31-2,31)	0,739
		AG+AA	46 (0,548)	46 (0,511)	1,16 (0,64-2,10)	0,630
rs10896449	Hasta: 81 Kontrol: 88	GG	30 (0,370)	18 (0,204)	2,22 (0,95-5,18)	0,06
		AG	33 (0,408)	46 (0,523)	0,96 (0,45-0,04)	0,908
		AA	18 (0,222)	24 (0,273)	Referans	
		AG+GG	63 (0,777)	64 (0,727)	1,31 (0,65-2,65)	0,448
rs10934853	Hasta: 81 Kontrol: 88	CC	38 (0,469)	36 (0,409)	Referans	
		AC	37 (0,457)	41 (0,466)	0,85 (0,45-1,62)	0,629
		AA	6 (0,074)	11 (0,125)	0,52 (0,17-1,54)	0,237
		AC+AA	43 (0,531)	52 (0,591)	0,78 (0,43-1,44)	0,432
rs10993994	Hasta: 82 Kontrol: 88	TT	27 (0,329)	24 (0,273)	1,62 (0,71-3,67)	0,242
		TC	37 (0,451)	38 (0,432)	1,40 (0,66-2,98)	0,374
		CC	18 (0,220)	26 (0,295)	Referans	
		TC+TT	64 (0,780)	62 (0,704)	1,49 (0,74-2,99)	0,26
rs11199874	Hasta: 81 Kontrol: 88	GG	43 (0,531)	50 (0,568)	Referans	
		AG	27 (0,333)	31 (0,352)	1,01 (0,52-1,95)	0,970
		AA	11 (0,136)	7 (0,080)	1,83 (0,65-5,13)	0,252
		AG+AA	38 (0,469)	38 (0,432)	1,16 (0,63-2,13)	0,626
rs11228565	Hasta: 80 Kontrol: 88	GG	45 (0,563)	56 (0,636)	Referans	
		AG	29 (0,362)	30 (0,341)	1,20 (0,63-2,29)	0,574
		AA	6 (0,075)	2 (0,023)	3,73 (0,72-19,40)	0,117
		AG+AA	35 (0,437)	32 (0,364)	1,36 (0,73-2,53)	0,329
rs12653946	Hasta: 80 Kontrol: 80	CC	20 (0,250)	27 (0,314)	Referans	
		TC	38 (0,475)	35 (0,407)	1,47 (0,70-3,07)	0,310
		TT	22 (0,275)	24 (0,279)	1,24 (0,55-2,80)	0,610
		TC+TT	60 (0,750)	59 (0,686)	1,37 (0,69-2,71)	0,362
rs13385191	Hasta: 84 Kontrol: 90	AA	30 (0,357)	29 (0,322)	Referans	
		AG	45 (0,536)	47 (0,522)	0,93 (0,48-1,78)	0,817
		GG	9 (0,107)	14 (0,156)	0,62 (0,23-1,66)	0,342
		AG+GG	54 (0,643)	61 (0,678)	0,86 (0,46-1,60)	0,627
rs16901979	Hasta: 81 Kontrol: 86	CC	68 (0,840)	78 (0,907)	Referans	
		AC	13 (0,160)	8 (0,093)	1,86 (0,73-4,77)	0,194
		AA	0 (0,000)	0 (0,000)	1,15 (0,02-58,54)	0,946
rs16902094	Hasta: 82 Kontrol: 88	AA	63 (0,768)	63 (0,716)	Referans	
		AG	15 (0,183)	24 (0,273)	0,62 (0,30-1,30)	0,209
		GG	4 (0,049)	1 (0,011)	4,00 (0,43-36,79)	0,221
		AG+GG	19 (0,232)	25 (0,284)	0,76 (0,38-1,52)	0,436
rs1218582	Hasta: 85 Kontrol: 90	CC	39 (0,459)	28 (0,311)	Referans	
		TC	31 (0,365)	47 (0,522)	0,47 (0,24-0,92)	0,027
		TT	15 (0,176)	15 (0,167)	0,72 (0,30-1,70)	0,453
		TC+TT	46 (0,541)	62 (0,689)	0,53 (0,29-0,99)	0,046
rs1270884	Hasta: 85 Kontrol: 90	TT	29 (0,341)	26 (0,289)	Referans	
		TC	35 (0,412)	40 (0,444)	0,78 (0,39-1,58)	0,495
		CC	21 (0,247)	24 (0,267)	0,78 (0,36-1,73)	0,547
		TC+CC	56 (0,659)	64 (0,711)	0,78 (0,41-1,49)	0,457

Çizelge 3. 6 SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları
(devamı)

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs1894292	Hasta: 85 Kontrol: 90	AA	16 (0,188)	23 (0,256)	0,81 (0,35-1,88)	0,626
		AG	45 (0,529)	39 (0,433)	1,35 (0,67-2,69)	0,401
		GG	24 (0,283)	28 (0,311)	Referans	
		AG+AA	69 (0,717)	62 (0,689)	1,15 (0,60-2,20)	0,677
rs1933488	Hasta: 85 Kontrol: 90	GG	23 (0,270)	19 (0,211)	0,93 (0,40-2,16)	0,868
		AG	36 (0,424)	51 (0,567)	0,54 (0,26-1,12)	0,098
		AA	26 (0,306)	20 (0,222)	Referans	
		GG+AG	59 (0,694)	70 (0,778)	0,65 (0,33-1,28)	0,210
rs2405942	Hasta: 84 Kontrol: 90	AA	66 (0,786)	71 (0,789)	Referans	
		GG	18 (0,214)	19 (0,211)	1,02 (0,49-2,11)	0,959
rs2427345	Hasta: 85 Kontrol: 90	CC	43 (0,506)	25 (0,278)	Referans	
		TC	33 (0,388)	51 (0,567)	0,38 (0,19-0,73)	0,004
		TT	9 (0,106)	14 (0,155)	0,37 (0,14-0,99)	0,047
		TC+TT	42 (0,494)	65 (0,722)	0,38 (0,20-0,70)	0,002
rs3771570	Hasta: 84 Kontrol: 90	CC	61 (0,726)	76 (0,844)	Referans	
		TC	21 (0,250)	14 (0,156)	1,87 (0,88-3,98)	0,105
		TT	2 (0,024)	0 (0,000)	6,22 (0,29-131,97)	0,241
		TC+TT	23 (0,273)	14 (0,156)	1,07 (0,46-2,48)	0,878
rs4245739	Hasta: 84 Kontrol: 89	AA	37 (0,440)	43 (0,483)	Referans	
		AC	44 (0,524)	36 (0,404)	1,42 (0,76-2,65)	0,269
		CC	3 (0,036)	10 (0,113)	0,35 (0,09-1,36)	0,130
		AC+CC	47 (0,560)	46 (0,517)	1,19 (0,65-2,16)	0,574
rs6062509	Hasta: 85 Kontrol: 90	GG	9 (0,106)	5 (0,056)	2,02 (0,63-6,55)	0,238
		GT	36 (0,424)	40 (0,444)	1,01 (0,54-1,88)	0,969
		TT	40 (0,470)	45 (0,500)	Referans	
		GG+GT	45 (0,530)	45 (0,500)	1,12 (0,62-2,04)	0,697
rs6869841	Hasta: 84 Kontrol: 90	CC	46 (0,548)	51 (0,567)	Referans	
		TC	32 (0,381)	36 (0,400)	0,99 (0,53-1,83)	0,963
		TT	6 (0,071)	3 (0,033)	2,22 (0,52-9,38)	0,279
		TC+TT	38 (0,452)	39 (0,433)	1,08 (0,59-1,97)	0,800
rs7141529	Hasta: 84 Kontrol: 90	CC	23 (0,274)	37 (0,411)	Referans	
		TC	38 (0,452)	37 (0,411)	1,65 (0,83-3,29)	0,154
		TT	23 (0,274)	16 (0,178)	2,31 (1,01-5,27)	0,046
		TC+TT	61 (0,726)	53 (0,589)	1,85 (0,98-3,50)	0,058
rs7241993	Hasta: 84 Kontrol: 90	CC	43 (0,512)	43 (0,478)	Referans	
		TC	35 (0,417)	40 (0,444)	0,87 (0,47-1,63)	0,673
		TT	6 (0,071)	7 (0,078)	0,86 (0,26-2,76)	0,796
		TC+TT	41 (0,488)	47 (0,522)	0,87 (0,48-1,58)	0,653
rs7611694	Hasta: 84 Kontrol: 90	AA	31 (0,369)	30 (0,333)	Referans	
		AC	44 (0,524)	44 (0,489)	0,97 (0,50-1,86)	0,922
		CC	9 (0,107)	16 (0,178)	0,54 (0,21-1,42)	0,214
		AC+CC	53 (0,631)	60 (0,667)	0,85 (0,46-1,59)	0,622
rs8008270	Hasta: 85 Kontrol: 90	CC	53 (0,624)	65 (0,722)	Referans	
		TC	28 (0,329)	20 (0,222)	1,66 (0,84-3,28)	0,148
		TT	4 (0,047)	5 (0,056)	0,98 (0,25-3,84)	0,978
		TC+TT	32 (0,376)	25 (0,278)	0,57 (0,83-2,97)	0,165
rs11135910	Hasta: 85 Kontrol: 90	CC	67 (0,788)	68 (0,756)	Referans	
		TC	15 (0,176)	18 (0,200)	0,85 (0,39-1,82)	0,667
		TT	3 (0,036)	4 (0,044)	0,76 (0,16-3,53)	0,727
		TC+TT	18 (0,212)	22 (0,244)	0,83 (0,41-1,69)	0,607
rs11568818	Hasta: 85 Kontrol: 90	AA	22 (0,259)	21 (0,233)	Referans	
		AG	38 (0,447)	51 (0,567)	0,71 (0,34-1,48)	0,361
		GG	25 (0,294)	18 (0,200)	1,33 (0,57-3,11)	0,516
		AG+GG	63 (0,741)	69 (0,767)	0,87 (0,44-1,74)	0,695
rs11650494	Hasta: 85 Kontrol: 90	AA	1 (0,011)	0 (0,000)	3,17 (0,13-79,28)	0,482
		AG	16 (0,189)	18 (0,200)	0,94 (0,44-1,99)	0,874
		GG	68 (0,800)	72 (0,800)	Referans	
		AA+AG	17 (0,200)	18 (0,200)	1,00 (0,48-2,10)	1,000

Çizelge 3. 6 SNP genotiplerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmesinin sonuçları
(devamı)

SNP	Birey sayısı	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (%95 GA)	p değeri
rs11902236	Hasta: 84 Kontrol: 90	CC	49 (0,583)	41 (0,456)	Referans	
		TC	24 (0,286)	37 (0,411)	0,54 (0,28-1,05)	0,070
		TT	11 (0,131)	12 (0,133)	0,77 (0,31-1,92)	0,571
		TC+TT	35 (0,417)	49 (0,544)	0,60 (0,33-1,09)	0,093
rs12155172	Hasta: 85 Kontrol: 90	GG	49 (0,576)	63 (0,700)	Referans	
		AG	31 (0,365)	25 (0,278)	1,59 (0,84-3,04)	0,157
		AA	5 (0,059)	2 (0,022)	3,21 (0,60-17,28)	0,174
		AG+AA	36 (0,424)	27 (0,300)	1,71 (0,92-3,20)	0,090
rs3096702	Hasta: 85 Kontrol: 90	CC	48 (0,565)	55 (0,611)	Referans	
		TC	29 (0,341)	32 (0,356)	1,04 (0,55-1,96)	0,907
		TT	8 (0,094)	3 (0,033)	3,06 (0,77-12,17)	0,113
		TC+TT	37 (0,435)	35 (0,389)	1,21 (0,66-2,21)	0,533
rs3850699	Hasta: 85 Kontrol: 90	TT	48 (0,565)	48 (0,533)	Referans	
		TC	35 (0,411)	34 (0,378)	1,03 (0,55-1,91)	0,927
		CC	2 (0,024)	8 (0,089)	0,25 (0,05-1,24)	0,090
		TC+CC	37 (0,435)	42 (0,467)	0,88 (0,49-1,60)	0,677
rs684232	Hasta: 85 Kontrol: 90	AA	30 (0,353)	45 (0,500)	Referans	
		AG	44 (0,518)	39 (0,433)	1,69 (0,90-3,18)	0,103
		GG	11 (0,129)	6 (0,067)	2,75 (0,92-8,23)	0,071
		AG+GG	55 (0,647)	45 (0,500)	1,83 (0,10-3,36)	0,050

Çalışmamızda rs1016343 polimorfizmi için kontrol grubunda yaygın olan CC genotipi referans olarak seçilmiştir. Buna göre TT genotipi için OR değeri 8,32 (%95 GA=0,97-71,57), p değeri ise 0,054 olup anlamlılık sınırındadır. Elde edilen OR değerinin çok yüksek olmasına rağmen %95 güven aralığının çok geniş olması değerlendirmemizin hassas olmadığını göstermektedir. Dominant model (TC+TT) için yapılan analize göre ise OR değeri 1,90 (%95 GA=1,01-3,57) olarak hesaplanmış ve prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (p=0,046) (Çizelge 3.6).

Salinas ve arkadaşları (2008) Kafkasyalı (1,308 hasta ve 1,266 kontrol) ve Afrikalı Amerikalı (149 hasta ve 85 kontrol) bireylerle yapmış oldukları çalışmada 23 SNP'nin prostat kanseri ile ilişkisini araştırmış ve Kafkasyalı bireylerden oluşan çalışma grubunda rs1016343 polimorfizminin prostat kanseri riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma grubunda yaygın olarak bulunan CC genotipi referans alınarak TC ve CC genotiplerinin ayrı ayrı OR değerleri hesaplanmıştır. Populasyonda nadir olarak bulunan TT genotipi CC genotipi ile kıyaslandığında OR=1,91 (%95 GA=1,33-2,73) olarak elde edilmiştir (p<0,05). Afrikalı Amerikalı çalışma grubunda ise rs1016343 polimorfizmi için istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir [139]. Hui ve

arkadaşları 2014 yılında, Çin'in kuzey bölgesinde 286 hasta ve 288 kontrol ile yapmış oldukları çalışmada rs1016343 polimorfizmini prostat kanseri riski ile ilişkili olduğunu rapor etmiştir. Resesif modele (TC+CC ile TT) göre hesaplanan TT genotipine ait OR değerinin 1,64 (%95 GA=1,07-2,53) olduğunu bildirmişlerdir (p=0,023) [118].

rs7141529 polimorfizmi için CC genotipi kontrol grubunda yaygın olarak bulunduğundan referans olarak seçilip OR hesaplamaları yapılmıştır. TT genotipi için OR değeri 2,31 (%95 GA=1,01-5,27) olarak elde edilerek prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (p=0,046) (Çizelge 3.6). rs684232 için AA genotipi referans olarak alındığında dominant modele göre AG+GG genotipleri için OR değeri 1,83 (%95 GA=0,10-3,36) olarak hesaplanmıştır ve AG+GG genotipleri prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (p=0,050) (Çizelge 3.6). Eeles ve arkadaşlarının (2013) yapmış oldukları çalışmada rs7141529 ve rs684232 genotiplerinin OR değerleri için herhangi bir veri bulunmamaktadır [81].

3.5.3 Prostat Kanserin Bazı Klinikopatolojik Değişkenlerle İlişkilendirilmesi

Genotipleme tamamlanan 67 SNP'nin bazı klinikopatolojik değişkenlerle olan ilişkisi araştırılmıştır. Yapılan ki kare testleri sonucunda ailede kanser öyküsü, ailede prostat kanseri öyküsü, sigara kullanımı, alkol kullanımı, tanı konulduğu dönemdeki yaş, Gleason skoru gibi çeşitli değişkenlerle 9 SNP'nin istatistiksel olarak ilişkili olduğu belirlenmiştir.

3.5.3.1 Hastaların Prostat Kanseri Tanısının Konulduğu Dönemdeki Yaşı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışmamızdaki hastalar prostat kanseri riski için belirleyici bir yaş olarak görülen 65 yaş ve üzeri ile 65 yaşın altında olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Her iki yaş grubundaki hastaların tek nükleotid polimorfizmleri yönünden yapılan ki kare analizleri sonucunda rs1218582 ve rs3850699 polimorfizmleri ile yaş grupları arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p≤0,05).

rs1218582 için genotiplerin her iki yaş grubundaki dağılımının çapraz tablosu incelendiğinde CT veya TT genotiplerinin 65 yaşın altındaki hastaların 19'unda (%41,3), 65 yaşında veya 65 yaşın üzerinde olan hastaların ise 27'sinde (%69,2) bulunduğu

belirlenmiştir. CC genotipindeki hastaların 27'si (%58,7) 65 yaşın altındayken, 12'sinin (%30,8) ise 65 yaşında veya 65 yaşın üzerinde olduğu tespit edilmiştir. rs1218582 için yapılan ki kare analizi sonucunda p değeri 0,010 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.8'de belirtilen rs3850699 genotiplerinin yaş gruplarındaki dağılımına göre 65 yaşın altındaki hastaların 25'inde (%54,3) CC veya CT genotipi bulunurken 21'inde (%45,7) ise TT genotipi bulunmaktadır. 65 yaşında veya 65 yaşın üzerindeki hastaların 12'sinde (%30,8) CC veya CT genotipi bulunuyorken, 27 (%69,2) hastada TT genotipi bulunmaktadır. rs3850699 için p değerinin 0,029 olduğu bulunmuştur.

2013 yılında Avrupa toplumunda yapılan bir genom boyu ilişkilendirme çalışması ile rs1218582 ve rs3850699 polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [81]. Daha önce bu polimorfizmler için prostat kanseri hastalarındaki kliniko-patolojik değişkenler ile ilişkisinin belirlendiği bir çalışma bildirilmemiştir. 2011 yılında Avrupa toplumunda toplam 3,945 birey ile yapılan bir çalışmada ise tanı konulduğu dönemdeki yaş ile rs7679673, rs9364554, rs13254738, rs6983267, rs4430796, rs1859962 ve rs2735839 polimorfizmleri ilişkilendirilmiştir ($p \leq 0,05$) [140]. rs9364554, rs6983267, rs4430796 ve rs2735839 polimorfizmlerinin bu tez çalışmasında da tanı konulduğu dönemdeki yaş ile ilişkisi araştırılmış olup istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir.

Çizelge 3. 7 Prostat kanseri hastalarındaki yaş gruplarının rs1218582 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs1218582		Toplam	P değeri
			CT+TT	CC		
Yaş grupları	65 yaş altı	Hasta Sayısı	19	27	46	0,010
		65 yaş altındaki yüzdesi	41.3%	58.7%	100.0%	
	65 yaş ve üzeri	Hasta Sayısı	27	12	39	
		65 yaş ve üzerindeki yüzdesi	69.2%	30.8%	100.0%	
Toplam	Hasta Sayısı		46	39	85	
	Toplamın yüzdesi		54.1%	45.9%	100.0%	

Çizelge 3. 8 Prostat kanseri hastalarındaki yaş gruplarının rs3850699 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs3850699		Toplam	P değeri
			CC+CT	TT		
Yaş grupları	65 yaş altı	Hasta Sayısı	25	21	46	0,029
		65 yaş altındaki yüzdesi	54.3%	45.7%	100.0%	
	65 yaş ve üzeri	Hasta Sayısı	12	27	39	
		65 yaş ve üzerindeki yüzdesi	30.8%	69.2%	100.0%	
Toplam	Hasta Sayısı		37	48	85	
	Toplamın yüzdesi		43.5%	56.5%	100.0%	

3.5.3.2 Ailede Kanser Öyküsü ile SNP'lerin ilişkilendirilmesi

Çalışmamızda yer alan hastaların ailelerinde kanser görülme durumları ile SNP'lerin ilişkisi araştırıldığında rs5945572 genotipleri ile ailede kanser öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna ulaşılmıştır (p=0,012).

Çizelge 3.9'daki çapraz tablo incelendiğinde 30 (%40,5) hastanın AA genotipine, 54 (%64,3) hastanın ise GG genotipine sahip olduğu ve heterozigot genotipli hastaların bulunmadığı görülmektedir. AA genotipine sahip hastalarda ailede kanser öyküsü görülmezken, GG genotipine sahip 10 (%100) hastada ailede kanser öyküsü olduğu belirtilmiştir. Bir başka deyişle, ailelerinde kanser öyküsü bulunan hastaların tamamının GG genotipine sahip olduğu saptanmıştır.

Yaptığımız literatür araştırmasına göre ailede kanser öyküsü ile ilişkilendirilen bir SNP bildirilmemiştir.

Çizelge 3. 9 Ailede kanser öyküsünün rs5945572 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs5945572		Toplam	P değeri
			AA	GG		
Ailede kanser	Yok	Hasta sayısı	30	44	74	0,012
		Yok grubundaki yüzdesi	40,5%	59,5%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	0	10	10	
		Var grubundaki yüzdesi	,0%	100,0%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		30	54	84	
	Toplamın yüzdesi		35,7%	64,3%	100,0%	

3.5.3.3 Ailede Prostat Kanseri Öyküsü ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

rs5945572 ve rs7931342 polimorfizmleri ile ailede prostat kanseri öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.10'da rs5945572 genotiplerinin ailede prostat kanseri öyküsündeki dağılımlarına ait çapraz tablo verilmiştir. Ailelerinde prostat kanseri öyküsü bulunan 7 hasta olduğu ve bu hastaların tamamının (%100) GG genotipine sahip olduğu saptanmıştır ($p=0,047$). rs7931342 genotiplerinin ailede prostat kanseri öyküsündeki dağılımlarına ait çapraz tablo incelendiğinde GG genotipine sahip hastalarda ailede prostat kanseri öyküsü olmadığı, GT veya TT genotipine sahip 7 (%100) hastada, ailede prostat kanseri öyküsü olduğu belirlenmiştir ($p=0,041$) (Çizelge 3.11).

2012 yılında Danimarkalı 648 hasta ve 526 kontrolden oluşan çalışma popülasyonunda bazı SNP'lerin, hastalığın aile öyküsü ile ilişkisi araştırılmış olup rs6983267 ve rs5759167 negatif aile geçmişi ile belirgin bir şekilde ilişkilendirilmiştir (p değerleri sırasıyla 0,04 ve 0,02'dir) [132]. Bu tez çalışmasında rs6983267 polimorfizminin ailede prostat kanseri öyküsü ile ilişkisi araştırılmış olup istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir.

Çizelge 3. 10 Ailede prostat kanseri öyküsünün rs5945572 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs5945572		Toplam	P değeri
			AA	GG		
Ailede prostat kanseri	Yok	Hasta sayısı	30	47	77	0,047
		Yok grubundaki yüzdesi	39,0%	61,0%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	0	7	7	
		Var grubundaki yüzdesi	,0%	100,0%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		30	54	84	
	Toplamın yüzdesi		35,7%	64,3%	100,0%	

Çizelge 3. 11 Ailede prostat kanseri öyküsünün rs7931342 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs7931342		Toplam	P değeri
			GT+TT	GG		
Ailede prostat kanseri	Yok	Hasta sayısı	45	32	77	0,041
		Yok grubundaki yüzdesi	58,4%	41,6%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	7	0	7	
		Var grubundaki yüzdesi	100,0%	,0%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		52	32	84	
	Toplamın yüzdesi		61,9%	38,1%	100,0%	

3.5.3.4 Gleason Skoru ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışmamızda yer alan hastalar Gleason skorlarına göre iki gruba ayrılmıştır. Bunlardan biri Gleason skoru 6 ve 6'dan düşük olan grup, diğeri ise Gleason skoru 6'dan yüksek olan gruptur. Her iki grup ile SNP'lerin ilişkisi araştırıldığında rs1571801 ve rs7611694'ün Gleason skoru ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu belirlenmiştir.

rs1571801 genotiplerinin Gleason skoru gruplarındaki dağılımlarını gösteren çapraz tablo incelendiğinde 19 hastanın Gleason skorunun 6'dan yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 3.12). Bunlardan 11 (%57,9) tanesinin AA veya CA, 8 (%42,1) tanesinin ise CC genotipine sahip olduğu belirlenmiştir (p=0,05) (Çizelge 3.12).

rs7611694 genotiplerinin Gleason skoru gruplarındaki çapraz tablosu incelendiğinde ise Gleason skoru 6'dan yüksek olan 19 hastanın 16'sında (%84,2) CA veya CC genotiplerinin bulunduğu 3'ünde (%15,8) ise AA genotipinin bulunduğu görülmektedir (p=0,024) (Çizelge 3.13).

2011 yılında, Avrupa toplumunda 10,501 prostat kanseri hastası ve 10,831 kontrolden oluşan çalışma grubunda bazı SNP'lerin Gleason skoru ile ilişkisi araştırılmıştır ve rs266849 ve rs2735839 polimorfizmlerinin, 8-10 arasında olan Gleason skoru ile belirgin bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (p değerleri sırasıyla 0,0004 ve 0,0001'dir) [141]. Bu tez çalışmasında da rs2735839 polimorfizminin Gleason skoru ile ilişkisi araştırılmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir.

2011 yılında, Koreli 240 hasta ve 223 kontrolden oluşan bir başka çalışma grubunda, rs4430796 ve rs2074429 polimorfizmlerinin Gleason skoru ≥ 7 olan bireylerde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (p değerleri her iki SNP için 0,03'tür) [142]. Bu tez çalışmasında ise rs4430796 polimorfizmi ile Gleason skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki elde edilmemiştir.

Çizelge 3. 12 Gleason skoru gruplarının rs1571801 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs1571801		Toplam	P değeri
			AA+CA	CC		
Gleason Skoru	6 ve düşük	Hasta sayısı	20	41	61	0,05
		Bu gruptaki yüzdesi	32,8%	67,2%	100,0%	
	6'dan yüksek	Hasta sayısı	11	8	19	
		Bu gruptaki yüzdesi	57,9%	42,1%	100,0%	
Toplam	Hasta sayısı		31	49	80	
	Toplamın yüzdesi		38,8%	61,3%	100,0%	

Çizelge 3. 13 Gleason skoru gruplarının rs7611694 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs7611694		Toplam	P değeri
			CA+CC	AA		
Gleason Skoru	6 ve düşük	Hasta sayısı	35	28	63	0,024
		Bu gruptaki yüzdesi	55.6%	44.4%	100.0%	
	6'dan yüksek	Hasta sayısı	16	3	19	
		Bu gruptaki yüzdesi	84.2%	15.8%	100.0%	
Toplam		Hasta sayısı	51	31	82	
		Toplamın yüzdesi	62.2%	37.8%	100.0%	

3.5.3.5 Sigara Kullanımı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışmamıza katılan prostat kanseri hastalarının sigara kullanma durumları ile SNP'ler arasındaki ilişki araştırıldığında rs9623117, rs10896449 ve rs1270884 polimorfizmleri ile sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır.

Çizelge 3.14'teki rs9623117 genotiplerinin hastaların sigara kullanım durumlarındaki dağılımlarını gösteren çapraz tablo incelendiğinde TC veya CC genotipine sahip 38 (%45,2) hastanın 18'sinin (%62,1) sigara kullandığı; TT genotipine sahip 46 (%54,8) hastanın ise 11'inin (%37,9) sigara kullandığı belirlenmiştir ($p=0,024$).

rs10896449 genotiplerinin hastaların sigara kullanım durumlarındaki dağılımlarını gösteren çapraz tablo incelendiğinde sigara kullanan 29 hastadan 19 (%65,5) tanesinin AG veya GG genotipine, 10 (%34,5) tanesinin ise AA genotipine, sahip olduğu belirlenmiştir ($p=0,047$) (Çizelge 3.15).

rs1270884 için hazırlanan Çizelge 3.16'da görüldüğü gibi sigara kullanan 30 hastanın 24 (%80) tanesinin CC veya TC genotipine, 6 (%20) hastanın ise TT genotipine sahip olduğu belirlenmiştir ($p=0,043$).

2012 yılında Yunan toplumundan 74 prostat kanseri hastasından oluşan çalışma grubunda, rs6983267 polimorfizminin sigara kullanımına bağlı olarak prostat kanseri riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ($p<0,001$) [10]. Bu tez çalışmasında da rs6983267 polimorfizminin sigara kullanımı ile ilişkisi araştırılmış olup istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki elde edilmemiştir.

Çizelge 3. 14 Sigara kullanımının rs9623117 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs9623117		Toplam	P değeri
			TC+CC	TT		
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	20	35	55	0,024
		Sigara kullanmayan gruptaki yüzdesi	36,4%	63,6%	100,0%	
	Var	Hasta sayısı	18	11	29	
		Sigara kullanan gruptaki yüzdesi	62,1%	37,9%	100,0%	
Toplam		Hasta sayısı	38	46	84	
		Toplamın yüzdesi	45,2%	54,8%	100,0%	

Çizelge 3. 15 Sigara kullanımının rs10896449 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs10896449		Toplam	P değeri
			AG+GG	AA		
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	44	8	52	0,047
		Sigara kullanmayan gruptaki yüzdesi	84.6%	15,4%	100.0%	
	Var	Hasta sayısı	19	10	29	
		Sigara kullanan gruptaki yüzdesi	65.5%	34,5%	100.0%	
Toplam		Hasta sayısı	63	18	81	
		Toplamın yüzdesi	77.8%	22,2%	100.0%	

Çizelge 3. 16 Sigara kullanımının rs1270884 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs1270884			
			CC+TC	TT	Toplam	P değeri
Sigara kullanımı	Yok	Hasta sayısı	32	23	55	0,043
		Sigara kullanmayan gruptaki yüzdesi	58.2%	41.8%	100.0%	
	Var	Hasta sayısı	24	6	30	
		Sigara kullanan gruptaki yüzdesi	80.0%	20.0%	100.0%	
Toplam		Hasta sayısı	56	29	85	
		Toplamın yüzdesi	65.9 %	34.1%	100.0%	

3.5.3.6 Alkol Kullanımı ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışmamıza katılan hastaların alkol kullanımı ile SNP'lerin ilişkisi araştırıldığında rs1270884 polimorfizminin alkol kullanımı ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır. Alkol kullandığını belirten 9 (%100.0) hastanın tamamının TC veya CC genotiplerine sahip olduğu belirlenmiştir ($p=0,025$) (Çizelge 3.17).

2011 yılında, Avrupa toplumunda 10,501 prostat kanseri hastası ve 10,831 kontrolden oluşan çalışma grubunda bazı SNP'lerin prostat kanseri hastalarındaki alkol kullanımı ile ilişkisi araştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir [141].

Çizelge 3. 17 Alkol kullanımının rs1270884 polimorfizmi için çapraz tablosu

			rs1270884		Toplam	P değeri
			TC+CC	TT		
Alkol kullanımı	Yok	Hasta sayısı	47	29	76	0,025
		Alkol kullanmayan gruptaki yüzdesi	61.8%	38.2%	100.0%	
	Var	Hasta sayısı	9	0	9	
		Alkol kullanan gruptaki yüzdesi	100.0%	,0%	100.0%	
Toplam	Hasta sayısı		56	29	85	
	Toplamın yüzdesi		65.9%	34.1%	100.0%	

3.5.3.7 Serumdaki PSA Düzeyleri ile SNP'lerin İlişkilendirilmesi

Çalışmamıza katılan prostat kanseri hastalarında serumdaki PSA düzeyleri ile SNP'ler arasındaki ilişki araştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki elde edilememiştir. 2012 yılında Danimarkalı 648 hasta ve 526 kontrolden oluşan çalışma popülasyonunda bazı SNP'lerin serumdaki PSA düzeyi ile ilişkisi de araştırılmıştır. Yapılan çalışmada rs2735839 ve rs10896449 polimorfizmlerinin serumdaki yüksek PSA düzeyi (>10 ng/ml) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ($p=0,04$).

SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Yapılan çalışma ile toplumumuzda ilk defa çoklu örnekte, çoklu SNP yüksek bir doğruluk ile standart bir sistem kullanılarak analiz edilmiştir.

Gerçekleştirilmiş olan çalışma ile toplumumuzda ilk defa çok sayıda SNP prostat kanseri ile ilişkilendirilmiş olup elde edilen sonuçların prostat kanseri genetik riskinin tanımlanmasında kullanılabilecek muhtemel biyomarkır çalışmalarının önünü açacağı düşünülmektedir.

Genotiplemesi tamamlanan 67 SNP'den rs11135910, rs11902236, rs445114, rs721048, rs6497287 ve rs6983267 polimorfizmlerinin Hardy Weinberg dengesinden sapma gösterdiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). rs1016343, rs3771570, rs7141529, rs684232, rs1456315 ve rs10896449 polimorfizmlerinin allelleri prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Bunlardan rs1016343, rs7141529 ve rs684232 polimorfizmlerinin genotipleri prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir. SNP genotipleri ile hastaların bazı kliniko-patolojik değişkenlerle ilişkisi araştırıldığında; prostat kanseri tanısının konulduğu dönemdeki yaş ile rs1218582 ve rs3850699; ailede kanser öyküsü ile rs5945572; ailede prostat kanseri öyküsü ile rs5945572 ve rs7931342; Gleason skoru ile rs1571801 ve rs7611694; sigara kullanımı ile rs9623117, rs10896449, rs1270884; alkol kullanımı ile rs1270884 genotiplerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ilişkili

olduğu saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Analiz edilen parametreler ile ilişkilendirilen SNP'lerin dağılımı Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 1 Analiz edilen parametreler ile ilişkilendirilen SNP'lerin dağılımı
(P.K.=Prostat kanseri)

SNP'ler	SNP Allelleri ve P.K.	SNP Genotipleri ve P.K	Yaş	Ailede Kanser Öyküsü	Ailede P.K. Öyküsü	Gleason Skoru	Sigara Kullanımı	Alkol Kullanımı
rs1016343	X	X						
rs3771570	X							
rs7141529	X	X						
rs684232	X	X						
rs1456315	X							
rs10896449	X						X	
rs1218582			X					
rs3850699			X					
rs5945572				X	X			
rs7931342					X			
rs1571801						X		
rs7611694						X		
rs9623117							X	
rs1270884							X	X

Toplumumuzda prostat kanseri ile ilişkilendirilen rs1016343; daha önce Avrupa [83], [86], Çin [118], [131], Danimarka [132] ve Kafkas [139] toplumlarında prostat kanseri ile ilişkilendirilirken, Afrikalı Amerikalı bireylerde prostat kanseri ile ilişkilendirilmemiştir [133]. rs3771570, rs7141529 ve rs684232 Avrupa [81] toplumunda, rs1456315 ise Japon [82] ve Çin [122] toplumlarında prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir. rs10896449 Avrupa [85] ve Danimarka [132] toplumlarında prostat kanseri ile ilişkilendirilirken, Afrikalı Amerikalı [136] bireylerde prostat kanseri ile ilişkilendirilmemiştir. Prostat kanseri ile ilişkilendirilen SNP'lerin toplumsal dağılımı Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4. 2 Prostat kanseri ile ilişkilendirilen SNP'lerin toplumsal dağılımı

SNP'ler	Avrupa	Çin	Danimarka	Afrika Amerika	Japon	Kafkas
rs1016343	✓	✓	✓	X		✓
rs1456315		✓			✓	
rs10896449	✓		✓	X		
rs3771570	✓					
rs7141529	✓					
rs684232	✓					

4.2 Öneriler

Bu tez çalışmasında elde edilen veriler kullanılarak;

1. Hasta ve kontrol sayıları artırılarak daha büyük topluluklarda SNP'lerin prostat kanseri ile ilişkisinin araştırılması,
2. Çalışma popülasyonunda daha fazla SNP'nin genotiplenerek prostat kanseri ile ilişkisinin belirlenmesi,
3. Prostat kanseri ile ilişkili olduğu belirlenen SNP'lerin algoritmalarının tanımlanması,
4. Anlamlı olduğu tespit edilen SNP'lerin bulunduğu genlerin prostat kanseri ile fonksiyonel ilişkisinin incelenmesi,
5. Elde edilen sonuçların hekime yardımcı olabilecek şekilde prostat kanseri risk tahmin panelinde biyomarkır olarak kullanım potansiyelinin çalışılması ve risk grubunda olduğu tespit edilen bireylerin düzenli kontrollere, yaşam düzenindeki değişikliklere yönlendirilmesi,

önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] American Cancer Society, Prostate Cancer, <http://documents.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003134-pdf.pdf>, 30 Mart 2013.
- [2] İzmirli, M., (2010). Prostat Kanserinin ELAC2 ve SRD5A2 Genlerindeki Polimorfizmler ile İlişkinin Araştırılması, Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [3] Akça, O., (2008). Trus Biyopsideki Perinöral İnvazyonun Tümör Pozitif Korlar ve Bu Korlardaki Tümör Yüzdesi ile İlişkinin Araştırılması, Uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Üroloji Kliniği, İstanbul.
- [4] Pektaş, F. Dilek, F.H. Ateş, M. Karalar, M. Yıldırım, B. Erdoğan, A. ve Tüzel, E., (2010). "Prostat Kanserinin Bilateral Testis Metastazı: Olgu Sunumu", Kocatepe Tıp Dergisi, 11: 21-22.
- [5] Higano, C.S., (2004). "Understanding Treatments for Bone Loss and Bone Metastases in Patients with Prostate Cancer: A Practical Review And Guide For The Clinician", Urologic Clinics of North America, 31: 331-352.
- [6] Coleman, R., (2001). "Metastatic Bone Disease: Clinical Features, Pathophysiology and Treatment Strategies", Cancer treatment reviews, 27: 165-176.
- [7] Mungan, M.U. ve Köseoğlu, H., (2010). "Prostat Kanserinde Kemik Metastazlarına Yaklaşım Algoritması Ne Olmalıdır?", Üroonkoloji Bülteni, 2: 57-63.
- [8] Kirby, R. ve Madhavan, S.G., (2010). "Prostate Cancer", Surgery, Renal and Urology II, 28: 594-598.
- [9] Rizos, C., Papassava, M. Goliaş, C. ve Charalabopoulos, K., (2010). "Alcohol Consumption and Prostate Cancer: A Mini Review", Exp Oncol, 32: 66-70.
- [10] Papanikolopoulou, A. Landt, O. Reczko, M. Ntoumas, K. ve Bolomitis, S., (2012). "The Effect of Smoke Combined with the Multicancer Marker, rs6983267, Located at Region 3 of Chromosome 8q24 in Prostate Cancer Patients", Metabolomics, 2: 2153-0769.1000106.

- [11] Çelen, İ. Şenol, F. ve Müezzinoğlu, T., (2011). "Prostat Kanseri Eser Elementlerin Rolü", Üroonkoloji Bülteni, 2: 27-32.
- [12] Stephenson, R.A. Smart, C.R. Mineau, G.P. James, B.C. Janerich, D.T. ve Dibble, R.L., (1996). "The Fall in Incidence of Prostate Carcinoma: On The Down Side of A Prostate Specific Antigen Induced Peak in Incidence-Data From The Utah Cancer Registry", Cancer, 77: 1342-1348.
- [13] Korur, M., (2006). Prostat Kanseri Şüphesi Olan PSA'sı Yüksek Hastalarda Serum Androjen Düzeylerinin Longitudinal İncelenmesi ve Prostat Kanseri Riski, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Kartal Dr.Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Üroloji Kliniği, İstanbul.
- [14] Carter, B. Bova, G. Beaty, T. Steinberg, G. Childs, B. Isaacs, W. ve Walsh, P., (1993). "Hereditary Prostate Cancer:Epidemiologic and Clinical Features", The Journal of urology, 150: 797-802.
- [15] Türk Üroloji Derneği Tıpta Uzmanlık Öğrencileri Sınava Hazırlık Kursu Ders Notları Kitabı, (2009). Ankara.
- [16] Güneş, S. Bağcı, H. ve Sarıkaya, Ş., (2003). "Prostat Kanseri Genetiği", O.M.Ü. Tıp Dergisi, 20: 152-158.
- [17] Walsh, P. Retik, A. Wein, A. Vaughan, E.D. ve Saunders, W.B., (1997). Campbell's Urology, Seventh Edition, W.B. Saunders Company, USA.
- [18] Chan, J.M. Giovannucci, E. Andersson, S.-O. Yuen, J. Adami, H.-O. ve Wolk, A., (1998). "Dairy Products, Calcium, Phosphorous, Vitamin D, and Risk of Prostate Cancer (Sweden)", Cancer Causes & Control, 9: 559-566.
- [19] Hoffman, R.M. Gilliland, F.D. Eley, J.W. Harlan, L.C. Stephenson, R.A. Stanford, J.L. Albertson, P.C. Hamilton, A.S. Hunt, W.C. ve Potosky, A.L., (2001). "Racial and Ethnic Differences in Advanced-Stage Prostate Cancer: The Prostate Cancer Outcomes Study", Journal of the National Cancer Institute, 93: 388-395.
- [20] Ross, R. Bernstein, L. Pike, M. Henderson, B. Lobo, R. Stanczyk, F. ve Shimizu, H., (1992). "5-Alpha-Reductase Activity and Risk of Prostate Cancer Among Japanese and Us White And Black Males", The Lancet, 339: 887-889.
- [21] Stewart, W.B. ve Wild, C.P., (2014). World Cancer Report 2014: IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
- [22] Çapık, C. ve Gözümlü, S., (2011). "Prostat Kanseri Taramaları Bilgi Testinin Türk Diline Adaptasyonu", Turkish Journal of Geriatrics/Türk Geriatri Dergisi, 14.
- [23] Gültekin, M. ve Boztaş, G., Türkiye Kanseri İstatistikleri, http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2009kanseraporu.pdf, 10 Mart 2014.
- [24] You, J. Cozzi, P. Walsh, B. Willcox, M. Kearsley, J. Russell, P. ve Li, Y., (2010). "Innovative Biomarkers for Prostate Cancer Early Diagnosis and Progression", Critical reviews in oncology/hematology, 73: 10-22.

- [25] Heidenreich, A. Bolla, M. Joniau, S. Mason, M.D. Matveev, V. Schmid, H.P. ve Zattoni, F., EAU Guidelines on Prostate Cancer, http://www.uroweb.org/gls/pdf/08_Prostate_Cancer.pdf, 20 Nisan 2013.
- [26] Sahillioğlu, B., Erden, G., Erdoğan, S. ve Yıldırımkaaya, M.M., (2008). "Türk Erkeklerinde Prostat Kanseri Tanısında Serbest/Total Prostat Spesifik Antijen Oranının Tanısal Yeterlilik Bakımından Değerlendirilmesi ve Uygun Cut Off Değerinin Araştırılması", Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 65: 121-125.
- [27] Choyke, P., (1995). "Imaging of Prostate Cancer", Abdominal imaging, 20: 505-515.
- [28] Ünsal, A. Taşkın, F. Meteoglu, İ. Uz, B. ve Karaman, C.Z., (2006). "Prostat Kanseri Tanısında Transrektal Ultrasonografi Bulgularının Gözden Geçirilmesi: Radyolojik ve Patolojik Bulguların Karşılaştırılması", ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 7: 31-35.
- [29] Whitmore Jr, W.F., (1956). "Hormone Therapy in Prostatic Cancer", The American journal of medicine, 21: 697-713.
- [30] Jacob, E., (2012). Medifocus Guidebook On: Prostate Cancer: Medifocus.com Inc.
- [31] Edge, S.B. ve Compton, C.C., (2010). "The American Joint Committee on Cancer: The 7th Edition of The AJCC Cancer Staging Manual and the Future of TNM", Annals of Surgical Oncology, 17: 1471-1474.
- [32] Resim, S. Sevin, G. Çaşkurulu, T. Çek, M. Taşçı, A. Okuducu, Y. Gürbüz, G. ve Fazlıoğlu, A., (1994). "Prostat Kanserinde Histoloji Grade ile PSA İlişkisi", Türk Üroloji Dergisi, 20: 273-275.
- [33] Mwakyoma, D. ve Mabandi, J.L., (2010). "Correlation of Gleason's Score and Pretreatment Prostate Specific Antigen in Patients", Professional Med J Jun, 17: 235-240.
- [34] Pethe, V.V. ve Bapat, B., (2008). "Molecular Genetic Etiology of Prostate Cancer", The Open Genomics J, 1: 13-21.
- [35] Crawford, E.D., (2003). "Epidemiology of Prostate Cancer", Urology, 62: 3-12.
- [36] Bratt, O., (2000). "Hereditary Prostate Cancer", BJU international, 85: 588-598.
- [37] Carter, B.S. Beaty, T.H. Steinberg, G.D. Childs, B. ve Walsh, P.C., (1992). "Mendelian Inheritance of Familial Prostate Cancer", Proceedings of the National Academy of Sciences, 89: 3367-3371.
- [38] Monroe, K.R. Mimi, C.Y. Kolonel, L.N. Coetzee, G.A. Wilkens, L.R. Ross, R.K. ve Henderson, B.E., (1995). "Evidence of an X-Linked or Recessive Genetic Component to Prostate Cancer Risk", Nature medicine, 1: 827-829.
- [39] Hughes, C. Murphy, A. Martin, C. Sheils, O. ve O'Leary, J., (2005). "Molecular Pathology of Prostate Cancer", Journal of clinical pathology, 58: 673-684.

- [40] Alberti, C., (2010). "Hereditary/Familial Versus Sporadic Prostate Cancer: Few Indisputable Genetic Differences and Many Similar Clinicopathological Features", *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 14: 31-41.
- [41] Smith, J.R. Freije, D. Carpten, J.D. Grönberg, H. Xu, J. Isaacs, S.D. Brownstein, M.J. Bova, G.S. Guo, H. ve Bujnovszky, P., (1996). "Major Susceptibility Locus for Prostate Cancer on Chromosome 1 Suggested By A Genome-Wide Search", *Science*, 274: 1371-1374.
- [42] Li, P.E. ve Nelson, P.S., (2001). "Prostate Cancer Genomics", *Current urology reports*, 2: 70-78.
- [43] Carpten, J. Nupponen, N. Isaacs, S. Sood, R. Robbins, C. Xu, J. Faruque, M. Moses, T. Ewing, C. ve Gillanders, E., (2002). "Germline Mutations in The Ribonuclease L Gene in Families Showing Linkage with HPC1", *Nature genetics*, 30: 181-184.
- [44] Xu, J. Sun, J. ve Zheng, S.L., (2013). "Prostate Cancer Risk-Associated Genetic Markers and Their Potential Clinical Utility", *Asian journal of andrology*, 15: 314-322.
- [45] Berthon, P. Valeri, A. Cohen-Akenine, A. Drelon, E. Paiss, T. Wöhr, G. Latil, A. Millasseau, P. Mellah, I. ve Cohen, N., (1998). "Predisposing Gene for Early-Onset Prostate Cancer, Localized on Chromosome 1q42. 2-43", *The American Journal of Human Genetics*, 62: 1416-1424.
- [46] Xu, J. Meyers, D. Freije, D. Isaacs, S. Wiley, K. Nusskern, D. Ewing, C. Wilkens, E. Bujnovszky, P. ve Bova, G.S., (1998). "Evidence for a Prostate Cancer Susceptibility Locus On The X Chromosome", *Nature genetics*, 20: 175-179.
- [47] Gibbs, M. Stanford, J.L. McIndoe, R.A. Jarvik, G.P. Kolb, S. Goode, E.L. Chakrabarti, L. Schuster, E.F. Buckley, V.A. ve Miller, E.L., (1999). "Evidence for a Rare Prostate Cancer–Susceptibility Locus at Chromosome 1p36", *The American Journal of Human Genetics*, 64: 776-787.
- [48] Berry, R. Schroeder, J.J. French, A.J. McDonnell, S.K. Peterson, B.J. Cunningham, J.M. Thibodeau, S.N. ve Schaid, D.J., (2000). "Evidence for a Prostate Cancer–Susceptibility Locus on Chromosome 20", *The American Journal of Human Genetics*, 67: 82-91.
- [49] Rebbeck, T.R. Walker, A.H. Zeigler-Johnson, C. Weisburg, S. Martin, A.M. Nathanson, K.L. Wein, A.J. ve Malkowicz, S.B., (2000). "Association of HPC2/ELAC2 Genotypes and Prostate Cancer", *The American Journal of Human Genetics*, 67: 1014-1019.
- [50] Suarez, B.K. Lin, J. Burmester, J.K. Broman, K.W. Weber, J.L. Banerjee, T.K. Goddard, K.A. Witte, J.S. Elston, R.C. ve Catalona, W.J., (2000). "A genome Screen of Multiplex Sibships with Prostate Cancer", *The American Journal of Human Genetics*, 66: 933-944.
- [51] Chang, B.I. Zheng, S.L. Hawkins, G.A. Isaacs, S.D. Wiley, K.E. Turner, A. Carpten, J.D. Bleecker, E.R. Walsh, P.C. ve Trent, J.M., (2002). "Joint Effect

of HSD3B1 and HSD3B2 Genes is Associated with Hereditary and Sporadic Prostate Cancer Susceptibility", *Cancer research*, 62: 1784-1789.

- [52] Xu, J. Zheng, S.L. Komiya, A. Mychaleckyj, J.C. Isaacs, S.D. Hu, J.J. Sterling, D. Lange, E.M. Hawkins, G.A. ve Turner, A., (2002). "Germline Mutations and Sequence Variants of the Macrophage Scavenger Receptor 1 Gene are Associated with Prostate Cancer Risk", *Nature genetics*, 32: 321-325.
- [53] Demuth, I. Frappart, P.-O. Hildebrand, G. Melchers, A. Lobitz, S. Stöckl, L. Varon, R. Herceg, Z. Sperling, K. ve Wang, Z.-Q., (2004). "An Inducible Null Mutant Murine Model of Nijmegen Breakage Syndrome Proves The Essential Function of Nbs1 in Chromosomal Stability and Cell Viability", *Human molecular genetics*, 13: 2385-2397.
- [54] Dong, X. Wang, L. Taniguchi, K. Wang, X. Cunningham, J. McDonnell, S. Qian, C. Marks, A. Slager, S. ve Peterson, B., (2003). "Mutations in CHEK2 Associated with Prostate Cancer Risk", *American journal of human genetics*, 72: 270-280.
- [55] Mazaris, E. ve Tsiotras, A., (2013). "Molecular Pathways in Prostate Cancer", *Nephro-urology monthly*, 5: 792.
- [56] Bookstein, R. MacGrogan, D. Hilsenbeck, S.G. Sharkey, F. ve Allred, D.C., (1993). "p53 is Mutated in a Subset of Advanced-Stage Prostate Cancers", *Cancer research*, 53: 3369-3373.
- [57] Ateş Sönmezoğlu, Ö. Yıldırım, A. ve Eserkaya Güleç, T., (2010). "Tek Nükleotid Farklılıkları (SNP) ve Buğdayda Kullanımı", *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3: 55-66.
- [58] Ekmekçi, A. Konaç, E. ve Önen, H.İ., (2008). "Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık", *Marmara Medical Journal*, 21: 282-295.
- [59] Emir, F. ve Özden, A., (2006). "Genetik Polimorfizm ve Polimorfizm Çalışmaları", *Güncel Gastroenteroloji*, 10: 24-28.
- [60] Passarge, E., (2007). *Color Atlas of Genetics*: Thieme.
- [61] Smouse, P. ve Chevillon, C., (1998). "Analytical Aspects of Population-Specific DNA Fingerprinting for Individuals", *Journal of Heredity*, 89: 143-150.
- [62] Yağar, S. ve Dönmez, A., (2012). "Sepsis ve Genetik Polimorfizmler", *Yoğun Bakım Dergisi*, 10: 9-18.
- [63] Miranda, D.M. Romano-Silva, M.A. ve De Marco, L., (2008). "Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) and the Search for Obesity-Related Genes", *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 52: 577-578.
- [64] Wang, D.G. Fan, J.-B. Siao, C.-J. Berno, A. Young, P. Sapolsky, R. Ghandour, G. Perkins, N. Winchester, E. ve Spencer, J., (1998). "Large-scale Identification, Mapping, and Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms in The Human Genome", *Science*, 280: 1077-1082.
- [65] Bush, W.S. ve Moore, J.H., (2012). "Genome-wide Association Studies", *PLoS computational biology*, 8: e1002822.

- [66] Transisyon ve Transversiyonlar, <http://rosalind.info/glossary/transitiontransversion-ratio/>, 30 Nisan 2013.
- [67] Xu, Y., (2010). Molecular Plant Breeding: CABl, International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), Mexico
- [68] Tural, Ş. Kara, N. ve Alaylı, G., (2012). "Osteoporoz Genetiği", Türk Osteoporoz Dergisi, 17: 100-109.
- [69] Chasman, D. ve Adams, R.M., (2001). "Predicting the Functional Consequences of Non-Synonymous Single Nucleotide Polymorphisms: Structure-Based Assessment of Amino Acid Variation", Journal of molecular biology, 307: 683-706.
- [70] Lander, E.S., (1996). "The New Genomics: Global Views of Biology", Science, 274: 536-539.
- [71] Stitzel, N.O. Tseng, Y.Y. Pervouchine, D. Goddeau, D. Kasif, S. ve Liang, J., (2003). "Structural Location of Disease-Associated Single-Nucleotide Polymorphisms", Journal of molecular biology, 327: 1021-1030.
- [72] Schork, N.J. Fallin, D. ve Lanchbury, J.S., (2000). "Single Nucleotide Polymorphisms and the Future of Genetic Epidemiology", Clinical genetics, 58: 250-264.
- [73] Tebbutt, S.J. James, A. ve Paré, P.D., (2007). "Single-Nucleotide Polymorphisms and Lung Disease: Clinical Implications", CHEST Journal, 131: 1216-1223.
- [74] Angaji, S.A. Akashi, K. Darvishani, S. ve Azad, M.S., (2011). "SNP and its Applications in Treating Human Diseases", Australian Journal of Basic & Applied Sciences, 5.
- [75] Harley, I. ve Narod, S., (2009). "Single Nucleotide Polymorphisms–Variation on a Theme", BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 116: 1556-1557.
- [76] Pang, G.S. Wang, J. Wang, Z. ve Lee, C.G., (2009). "Predicting Potentially Functional SNPs in Drug-Response Genes".
- [77] Battaloğlu, E. ve Başak, A.N., (2010) "Kompleks Hastalık Genetiği: Güncel Kavramlar ve Nörolojik Hastalıkların Tanısında Kullanılan Genomik Yöntemler", Klinik Gelişim, Nöroloji, Cilt: 23 / No:1.
- [78] Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları Kataloğu, <http://www.genome.gov/gwastudies/>, 10 Mart2014.
- [79] Gudmundsson, J. Sulem, P. Rafnar, T. Bergthorsson, J.T. Manolescu, A. Gudbjartsson, D. Agnarsson, B.A. Sigurdsson, A. Benediktsdottir, K.R. ve Blondal, T., (2008). "Common Sequence Variants on 2p15 and Xp11. 22 confer Susceptibility to Prostate Cancer", Nature genetics, 40: 281-283.
- [80] Gudmundsson, J. Sulem, P. Gudbjartsson, D.F. Blondal, T. Gylfason, A. Agnarsson, B.A. Benediktsdottir, K.R. Magnusdottir, D.N. Orlygsdottir, G. ve Jakobsdottir, M., (2009). "Genome-wide Association and Replication Studies

Identify Four Variants Associated with Prostate Cancer Susceptibility", *Nature genetics*, 41: 1122-1126.

- [81] Eeles, R.A. Al Olama, A.A. Benlloch, S. Saunders, E.J. Leongamornlert, D.A. Tymrakiewicz, M. Ghoussaini, M. Luccarini, C. Dennis, J. ve Jugurnauth-Little, S., (2013). "Identification of 23 New Prostate Cancer Susceptibility Loci Using The Icogs Custom Genotyping Array", *Nature genetics*, 45: 385-391.
- [82] Takata, R. Akamatsu, S. Kubo, M. Takahashi, A. Hosono, N. Kawaguchi, T. Tsunoda, T. Inazawa, J. Kamatani, N. ve Ogawa, O., (2010). "Genome-wide Association Study Identifies Five New Susceptibility Loci for Prostate Cancer in the Japanese Population", *Nature genetics*, 42: 751-754.
- [83] Eeles, R.A. Kote-Jarai, Z. Giles, G.G. Al Olama, A.A. Guy, M. Jugurnauth, S.K. Mulholland, S. Leongamornlert, D.A. Edwards, S.M. ve Morrison, J., (2008). "Multiple Newly Identified Loci Associated with Prostate Cancer Susceptibility", *Nature genetics*, 40: 316-321.
- [84] Eeles, R.A. Kote-Jarai, Z. Al Olama, A.A. Giles, G.G. Guy, M. Severi, G. Muir, K. Hopper, J.L. Henderson, B.E. ve Haiman, C.A., (2009). "Identification of Seven New Prostate Cancer Susceptibility Loci Through A Genome-Wide Association Study", *Nature genetics*, 41: 1116-1121.
- [85] Thomas, G. Jacobs, K.B. Yeager, M. Kraft, P. Wacholder, S. Orr, N. Yu, K. Chatterjee, N. Welch, R. ve Hutchinson, A., (2008). "Multiple Loci Identified in a Genome-Wide Association Study of Prostate Cancer", *Nature genetics*, 40: 310-315.
- [86] Schumacher, F.R. Berndt, S.I. Siddiq, A. Jacobs, K.B. Wang, Z. Lindstrom, S. Stevens, V.L. Chen, C. Mondul, A.M. ve Travis, R.C., (2011). "Genome-wide Association Study Identifies New Prostate Cancer Susceptibility Loci", *Human molecular genetics*, 20: 3867-3875.
- [87] Haiman, C.A. Chen, G.K. Blot, W.J. Strom, S.S. Berndt, S.I. Kittles, R.A. Rybicki, B.A. Isaacs, W.B. Ingles, S.A. ve Stanford, J.L., (2011). "Genome-wide Association Study of Prostate Cancer in Men of African Ancestry Identifies a Susceptibility Locus at 17q21", *Nature genetics*, 43: 570-573.
- [88] Sun, J. Zheng, S.L. Wiklund, F. Isaacs, S.D. Li, G. Wiley, K.E. Kim, S.-T. Zhu, Y. Zhang, Z. ve Hsu, F.-C., (2009). "Sequence Variants at 22q13 are Associated with Prostate Cancer Risk", *Cancer research*, 69: 10-15.
- [89] Yeager, M. Orr, N. Hayes, R.B. Jacobs, K.B. Kraft, P. Wacholder, S. Minichiello, M.J. Fearnhead, P. Yu, K. ve Chatterjee, N., (2007). "Genome-wide Association Study of Prostate Cancer Identifies a Second Risk Locus at 8q24", *Nature genetics*, 39: 645-649.
- [90] Gudmundsson, J. Sulem, P. Manolescu, A. Amundadottir, L.T. Gudbjartsson, D. Helgason, A. Rafnar, T. Bergthorsson, J.T. Agnarsson, B.A. ve Baker, A., (2007). "Genome-wide Association Study Identifies A Second Prostate Cancer Susceptibility Variant at 8q24", *Nature genetics*, 39: 631-637.

- [91] Nam, R.K. Zhang, W. Siminovitch, K. Shlien, A. Kattan, M.W. Klotz, L.H. Trachtenberg, J. Lu, Y. Zhang, J. ve Yu, C., (2011). "New Variants at 10q26 and 15q21 Are Associated with Aggressive Prostate Cancer in A Genome-Wide Association Study From A Prostate Biopsy Screening Cohort", *Cancer Biol Ther*, 12: 997-1004.
- [92] Onen, I.H. Ekmekci, A. Eroglu, M. Konac, E. Yesil, S. ve Biri, H., (2008). "Association of Genetic Polymorphisms in Vitamin D Receptor Gene and Susceptibility to Sporadic Prostate Cancer", *Experimental Biology and Medicine*, 233: 1608-1614.
- [93] Kosova, B. Bozok Çetintaş, V. Çal, A.Ç. Tetik, A. Özel, R. ve Aktan, Ç., (2010). "N-acetyltransferase 2 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Prostate Cancer: A Pilot Study in the Turkish Population", *Turk J Med Sci*, 40: 629-636.
- [94] Pinarbasi, E. Gunes, E.G. Pinarbasi, H. Donmez, G. ve Silig, Y., (2011). "AXIN2 Polymorphism and its Association with Prostate Cancer in a Turkish Population", *Medical Oncology*, 28: 1373-1378.
- [95] Yaykaşlı, K.O. Kayıkçı, M.A. Yamak, N. Soğuktaş, H. Düzenli, S. Arslan, A.O. Metin, A. Kaya, E. ve Hatipoğlu, Ö.F., (2012). "Polymorphisms in MMP-2 and TIMP-2 in Turkish Patients with Prostate Cancer".
- [96] Syvänen, A.-C., (2001). "Assessing Genetic Variation: Genotyping Single Nucleotide Polymorphisms", *Nature Reviews Genetics*, 2: 930-942.
- [97] Kim, S. ve Misra, A., (2007). "SNP Genotyping: Technologies and Biomedical Applications", *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 9: 289-320.
- [98] Kwok, P.-Y., (2001). "Methods for Genotyping Single Nucleotide Polymorphisms", *Annual review of genomics and human genetics*, 2: 235-258.
- [99] Ragoussis, J., (2006). "Genotyping Technologies for All", *Drug Discovery Today: Technologies*, 3: 115-122.
- [100] Pastinen, T. Raitio, M. Lindroos, K. Tainola, P. Peltonen, L. ve Syvänen, A.-C., (2000). "A System for Specific, High-Throughput Genotyping by Allele-Specific Primer Extension on Microarrays", *Genome Research*, 10: 1031-1042.
- [101] Kwok, P.-Y. ve Chen, X., (2003). "Detection of Single Nucleotide Polymorphisms", *Current issues in molecular biology*, 5: 43-60.
- [102] Gabriel, S. Ziaugra, L. ve Tabbaa, D., (2009). "SNP Genotyping Using The Sequenom Massarray iPLEX Platform", *Current protocols in human genetics*: 2.12. 11-12.12. 16.
- [103] Twyman, R.M., (2005). "Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Techniques—An Overview", *Encyclopedia of Diagnostic Genomics and Proteomics*: 1202-1207.
- [104] Tost, J. ve Gut, I.G., (2005). "Genotyping Single Nucleotide Polymorphisms By MALDI Mass Spectrometry in Clinical Applications", *Clinical biochemistry*, 38: 335-350.

- [105] Kim, S. Ruparel, H.D. Gilliam, T.C. ve Ju, J., (2003). "Digital Genotyping Using Molecular Affinity and Mass Spectrometry", *Nature Reviews Genetics*, 4: 1001-1008.
- [106] Sequenom, (2009). iPLEX Gold Application Guide.
- [107] Sequenom, (2009). iPLEX® Gold SNP Genotyping Training Protocol.
- [108] Sequenom, <https://www.mysequenom.com/Home>, 20 Nisan 2012.
- [109] Sambrook, J. Fritsch, E.F. ve Maniatis, T., (1989). *Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press New York*.
- [110] Tüylü, B.A. Sivas, H. İncesu, Z. ve Ergene, E., (2009). *Genetik: Anadolu Üniversitesi*.
- [111] Dudek, R.W., (2010). *Genetics: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins*.
- [112] Hardy, G.H., (1908). "Mendelian Proportions in a Mixed Population", *Science*, 28: 49-50.
- [113] Weinberg, W., (1908). *Über Den Nachweis Der Vererbung Beim Menschen*.
- [114] Wang, W.Y. Barratt, B.J. Clayton, D.G. ve Todd, J.A., (2005). "Genome-wide Association Studies: Theoretical and Practical Concerns", *Nature Reviews Genetics*, 6: 109-118.
- [115] Lewis, C.M., (2002). "Genetic Association Studies: Design, Analysis and Interpretation", *Briefings in bioinformatics*, 3: 146-153.
- [116] Lachance, J., (2010). "Disease-associated Alleles in Genome-Wide Association Studies are Enriched for Derived Low Frequency Alleles Relative to Hapmap and Neutral Expectations", *BMC medical genomics*, 3: 57.
- [117] Mittal, R.D. Mittal, T. Singh, A.K. ve Mandal, R.K., (2012). "Association of caspases with an increased prostate cancer risk in North Indian population", *DNA and cell biology*, 31: 67-73.
- [118] Hui, J. Xu, Y. Yang, K. Liu, M. Wei, D. Zhang, Y. Shi, X.H. Yang, F. Wang, N. ve Zhang, Y., (2014). "Study of Genetic Variants of 8q21 and 8q24 Associated with Prostate Cancer in Jing-Jin Residents in Northern China", *Clin. Lab*, 5: 1.
- [119] Lewis, C.M. ve Knight, J., (2012). "Introduction to Genetic Association Studies", *Cold Spring Harbor Protocols*, 2012: pdb. top068163.
- [120] Plaskon, L.A. Penson, D.F. Vaughan, T.L. ve Stanford, J.L., (2003). "Cigarette Smoking and Risk of Prostate Cancer in Middle-Aged Men", *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 12: 604-609.
- [121] SNP veri tabanı, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>, 10 Mart 2014.
- [122] Xu, J. Mo, Z. Ye, D. Wang, M. Liu, F. Jin, G. Xu, C. Wang, X. Shao, Q. ve Chen, Z., (2012). "Genome-wide Association Study in Chinese Men Identifies Two New Prostate Cancer Risk Loci at 9q31. 2 and 19q13. 4", *Nature genetics*, 44: 1231-1235.

- [123] Cheng, I. Chen, G.K. Nakagawa, H. He, J. Wan, P. Laurie, C.C. Shen, J. Sheng, X. Pooler, L.C. ve Crenshaw, A.T., (2012). "Evaluating Genetic Risk for Prostate Cancer Among Japanese and Latinos", *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 21: 2048-2058.
- [124] Gudmundsson, J. Sulem, P. Steinthorsdottir, V. Bergthorsson, J.T. Thorleifsson, G. Manolescu, A. Rafnar, T. Gudbjartsson, D. Agnarsson, B.A. ve Baker, A., (2007). "Two Variants on Chromosome 17 Confer Prostate Cancer Risk, and the One in TCF2 Protects Against Type 2 Diabetes", *Nature genetics*, 39: 977-983.
- [125] FitzGerald, L.M. Kwon, E.M. Conomos, M.P. Kolb, S. Holt, S.K. Levine, D. Feng, Z. Ostrander, E.A. ve Stanford, J.L., (2011). "Genome-wide Association Study Identifies A Genetic Variant Associated with Risk for More Aggressive Prostate Cancer", *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 20: 1196-1203.
- [126] Duggan, D. Zheng, S.L. Knowlton, M. Benitez, D. Dimitrov, L. Wiklund, F. Robbins, C. Isaacs, S.D. Cheng, Y. ve Li, G., (2007). "Two Genome-Wide Association Studies of Aggressive Prostate Cancer Implicate Putative Prostate Tumor Suppressor Gene DAB2IP", *Journal of the National Cancer Institute*, 99: 1836-1844.
- [127] Lose, F. Batra, J. O'Mara, T. Fahey, P. Marquart, L. Eeles, R. Easton, D. Olama, A.A.A. Kote-Jarai, Z. ve Guy, M., (2011). "Common Variation in Kallikrein Genes KLK5, KLK6, KLK12, and KLK13 and Risk of Prostate Cancer and Tumor Aggressiveness": Elsevier Inc.
- [128] Murabito, J.M. Rosenberg, C.L. Finger, D. Kreger, B.E. Levy, D. Splansky, G.L. Antman, K. ve Hwang, S.-J., (2007). "A Genome-wide Association Study of Breast and Prostate Cancer in the NHLBI's Framingham Heart Study", *BMC medical genetics*, 8: S6.
- [129] Lunetta, K.L., (2008). "Genetic Association Studies", *Circulation*, 118: 96-101.
- [130] Lee, S. Kasif, S. Weng, Z. ve Cantor, C.R., (2008). "Quantitative Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms within Copy Number Variation", *PLoS One*, 3: e3906.
- [131] Zheng, S.L. Hsing, A.W. Sun, J. Chu, L.W. Yu, K. Li, G. Gao, Z. Kim, S.T. Isaacs, W.B. ve Shen, M.C., (2010). "Association of 17 Prostate Cancer Susceptibility Loci with Prostate Cancer Risk in Chinese Men", *The Prostate*, 70: 425-432.
- [132] Bentzon, D.N. Nyegaard, M. Børghlum, A. Ørntoft, T. Borre, M. ve Sørensen, K.D., (2012). "Replication of Prostate Cancer Risk Variants in a Danish Case-Control Association Study", *Open Journal of Urology*, 2: 45.
- [133] Xu, J. Kibel, A.S. Hu, J.J. Turner, A.R. Pruett, K. Zheng, S.L. Sun, J. Isaacs, S.D. Wiley, K.E. ve Kim, S.-T., (2009). "Prostate Cancer Risk Associated Loci in African Americans", *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 18: 2145-2149.

- [134] Cropp, C.D. Simpson, C.L. Wahlfors, T. Ha, N. George, A. Jones, M.S. Harper, U. Ponciano-Jackson, D. Green, T.A. ve Tammela, T.L., (2011). "Genome-wide Linkage Scan for Prostate Cancer Susceptibility in Finland: Evidence for a Novel Locus on 2q37.3 and Confirmation of Signal on 17q21-q22", *International Journal of Cancer*, 129: 2400-2407.
- [135] Kote-Jarai, Z. Al Olama, A.A. Giles, G.G. Severi, G. Schleutker, J. Weischer, M. Campa, D. Riboli, E. Key, T. ve Gronberg, H., (2011). "Seven Prostate Cancer Susceptibility Loci Identified by a Multi-Stage Genome-Wide Association Study", *Nature genetics*, 43: 785-791.
- [136] Wang, Y. Ray, A.M. Johnson, E.K. Zuhlke, K.A. Cooney, K.A. ve Lange, E.M., (2011). "Evidence for an Association Between Prostate Cancer and Chromosome 8q24 and 10q11 Genetic Variants in African American Men: the Flint Men's Health Study", *The Prostate*, 71: 225-231.
- [137] Specht, K. Haralambieva, E. Bink, K. Kremer, M. Mandl-Weber, S. Koch, I. Tomer, R. Hofler, H. Schuurin, E. ve Kluin, P.M., (2004). "Different Mechanisms of Cyclin D1 Overexpression in Multiple Myeloma Revealed by Fluorescence in Situ Hybridization and Quantitative Analysis of mRNA Levels", *Blood*, 104: 1120-1126.
- [138] Hooker, S. Hernandez, W. Chen, H. Robbins, C. Torres, J.B. Ahaghotu, C. Carpten, J. ve Kittles, R.A., (2010). "Replication of Prostate Cancer Risk Loci on 8q24, 11q13, 17q12, 19q33, and Xp11 in African Americans", *The Prostate*, 70: 270-275.
- [139] Salinas, C.A. Kwon, E. Carlson, C.S. Koopmeiners, J.S. Feng, Z. Karyadi, D.M. Ostrander, E.A. ve Stanford, J.L., (2008). "Multiple Independent Genetic Variants in the 8q24 Region are Associated with Prostate Cancer Risk", *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 17: 1203-1213.
- [140] Pomerantz, M.M. Werner, L. Xie, W. Regan, M.M. Lee, G.-S.M. Sun, T. Evan, C. Petrozziello, G. Nakabayashi, M. ve Oh, W.K., (2011). "Association of Prostate Cancer Risk Loci with Disease Aggressiveness and Prostate Cancer-Specific Mortality", *Cancer Prevention Research*, 4: 719-728.
- [141] Lindstrom, S. Schumacher, F. Siddiq, A. Travis, R.C. Campa, D. Berndt, S.I. Diver, W.R. Severi, G. Allen, N. ve Andriole, G., (2011). "Characterizing Associations and SNP-Environment Interactions for GWAS-Identified Prostate Cancer Risk Markers—Results from BPC3", *PLoS One*, 6: e17142.
- [142] Kim, H.J. Bae, J.S. Lee, J. Chang, I.H. Kim, K.D. Shin, H.D. Han, J.H. Lee, S.Y. Kim, W. ve Myung, S.C., (2011). "HNF1B Polymorphism Associated with Development of Prostate Cancer in Korean Patients", *Urology*, 78: 969. e961-969. e966.

EK-A

ETİK KURUL ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prostat kanseri ile ilişkili olduğu düşünülen bazı gen polimorfizmlerinin Türk hastalarda incelenmesi.		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	2012-97		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Dilek Turgut Balık, Prof.Dr. Ali İhsan Taşçı, Dr.Ebru Özkan,Ast.Dr.Buğra Doğukan Törer		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Noküler Biyoloji ve Genetik, Genetik Mühendisliği, Biyokimya		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü		
	DESTEKLEYİCİ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Diğer ise belirtiniz: Prospektif		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLAR ARASI ☐

DEĞERLENDİRİLE N BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	17.08.2012	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	17.08.2012	1	Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	17.08.2012	1	Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒ 15.000TL(ONBEŞBİNTÜRLİRESİ)
	DİĞER:	☐ Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2012/13/10	Tarih: 24.09.2012
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

BEAH KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Uz. Dr. Gülsüm Oya HERGÜNSSEL

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Uz. Dr. Gülsüm Oya HERGÜNSSEL	Anesteziyoloji	BEAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Uz. Dr. Sadık Sami HATİPOĞLU	Çocuk Hastalıkları	BEAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Ayşe KAVAK	Dermatoloji	BEAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Fatma Tülin KAYHAN	K.B.B.	BEAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Doç.Dr. Özlem KAPTANOĞULLARI	İç Hastalıkları	BEAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr. Osman KARAKAYA	Kardiyoloji	BEAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Uzm. Dr. Asuman GEDİKBAŞI	Biyokimya	BEAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr. Ufuk EMEKLİ	Plastik Ve Estetik Cerrahi	I.Ü.İst. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. Gülsüm Nurhan İNCE	Halk Sağlığı	I.Ü.İst. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Doç.Dr. Ayşe PALANDÜZ	Çocuk Hastalıkları	I.Ü.İst. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Uz. Dr. Gülay ÖZGÖN	Farmakolog	I.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Can ÇELİK	Biyomedikal	Dijimed Bil.Çöz.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Hüseyin Hilmi ÖZTÜRK	Elek.Ve Elektr. Müh.	BEAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Rana KONYALIOĞLU	Biyostatistik	ARK İst. Danış.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Avukat Özkan TUM	Hukuk	İst. Sağ. Müd.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı / Protokol Numarası: Prostat kanseri ile ilişkili olduğu düşünülen bazı gen polimorfizmlerinin Türk hastalarda incelenmesi.

Araştırmanın Konusu: Bu araştırmanın konusu tek nükleotid polimorfizminin prostat kanseri oluşumundaki rolünün tanımlanmasıdır.

Araştırmanın Amacı: Bu araştırmanın temel amacı; tek nükleotid polimorfizmleri ve prostat kanserinin ilişkilendirilmesi ve kolay uygulanabilir bir kan testi ile toplumumuzda prostat kanserine yatkınlığı olan kişilerin belirlenerek hastanın erken tanıya yönlendirilmesi ve hastalığın seyrinin nasıl olabileceğinin tahmin edilmesidir.

Araştırmanın Süresi: 24 ay

Araştırmaya Katılan Gönüllü Sayısı: 175

Araştırmada İzlenecek Yöntem: Çalışmaya başlayabilmek için yöntemin ilk basamağında hasta ve kontrol bireylerinden periferik kan alınması ihtiyacı duyulmaktadır. DeneySEL basamaklar; Kan örneklerinin alınması, Genomik DNA izolasyonu, Multiplex PCR, Genotip Analizi, İstatistik Analiz şeklindedir. İzole edilecek olan DNA örnekleri deneySEL çalışma tamamlanıp önerilen çalışma ile ilgili bütün bilimsel veriler yayınlanıncaya kadar muhafaza edilecektir.

Alternatif Tedavi veya Girişimler: -

Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek Riskler: Hastadan rutin kontroller için alınan kan örnekleri kullanılacaktır. Kan alımı sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz ve kolda morarma olabilir. Düşük bir olasılık da olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, veya enfeksiyon riski vardır.

Araştırma İlacının Olası Yan Etkileri: Araştırmada hastaya ilaç uygulaması yapılmayacaktır.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilecek Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Prof. Dr. Dilek Turgut-Balık, 05332312831

Alınan örnekler sadece önerilen çalışmada kullanılacaktır. Hasta veya temsilcisinin araştırmaya katılmayı kabul etmedikleri durumda hastanın tetkik ve tedavisinde hiçbir aksama yaşanmayacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekiyorsa Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

HASTA BİLGİ FORMU

HASTA BİLGİ FORMU

İşlem esnasında ve sonrasında gerekli olabileceği düşünülen bilgileri içeren aşağıdaki soruları lütfen dikkatlice okuyarak cevaplayınız

Adı Soyadı :

Bölüm :

Protokol No :

Tarih :

Doğum Tarihi :

Doğum Yeri:

Tanı Yöntemi :

Daha önceki kanser vakası	Evet ☐	Hayır ☐	Felç	Evet ☐	Hayır ☐
Yüksek tansiyon	Evet ☐	Hayır ☐	Amfizem / KOAH	Evet ☐	Hayır ☐
Kalp krizi	Evet ☐	Hayır ☐	Diyabet/Şeker	Evet ☐	Hayır ☐
Kalp pili	Evet ☐	Hayır ☐	Divertikülit	Evet ☐	Hayır ☐
Crohn hastalığı veya ülserli kolit	Evet ☐	Hayır ☐	Lupus/Skleroderma/Koll ojen damar hastalığı	Evet ☐	Hayır ☐
Böbrek kaybı, fonksiyon bozukluğu veya anormalitesi	Evet ☐	Hayır ☐	Psoriatik/Romatoid artrit	Evet ☐	Hayır ☐
Bilinen başka bir rahatsızlığınız var mı?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise türü ve tarihi:		

Daha önce cerrahi girişim veya ameliyat geçirdiniz mi?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise türü ve tarihi:
Işın tedavisi ya da kemoterapi gördünüz mü?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise; Ne zaman ve kaç seans:
Daha önce prostat ameliyatı geçirdiniz mi?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise tarihi:
Kolonoskopi geçirdiniz mi?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise tarihi:
Ailenizde (anne, baba, kardeş) veya yakın akrabalarınızda kanser vakası var mı?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise; kanserin tipi ve tarihi ve kimde görüldüğü:
Ailenizde prostat kanseri vakası var mı?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise yakınlık derecesi:
Sigara kullanıyor musunuz?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise; Sıklığı (Adet/gün): Süresi (Yıl):
Alkol kullanıyor musunuz?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise; Sıklığı: Süresi (Yıl):
İlaç veya madde bağımlılığınız var mı?	Evet ☐	Hayır ☐	Cevabınız evet ise; Sıklığı: Süresi (Yıl):

Ev tel:

Cep tel.:

Adres:

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ebru ÖZKAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 21/06/1984-Eminönü
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ebruozkan84@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyoloji	Trakya Üniversitesi	2010
Lisans	Biyoloji	Trakya Üniversitesi	2007
Lise	Fen	Beylikdüzü 75. Yıl Cum.	2002

YAYINLARI

Makale

1. Bolat Z.B., Cayir E., **Ozkan E.**, Erdemir A., Mutlu O., Ata O., Balık H.H., Turgut-Balık D., 2013. "Cloning, expression, purification and characterization of the gene encoding D-lactate dehydrogenase enzyme from *Bacteroides fragilis* that promotes colon tumorigenesis." (Under review).
2. Cayir E., Erdemir A., **Ozkan E.**, Topuzogullari M., Bolat Z.B., Akat A., Turgut-Balık D., Cloning of intron-removed enolase gene and expression, purification, kinetic characterization of the enzyme from *Theileria annulata*, Molecular Biotechnology, DOI: 10.1007/s12033-014-9747-z, (2014).

3. Cicek M., Mutlu Ö., Erdemir A., **Ozkan E.**, Sariçay Y., Turgut-Balık D. "Single mutation in shine-dalgarno like sequence present in the amino terminal of lactate dehydrogenase of Plasmodium effects the production of an eukaryotic protein expressed in a prokaryotic system". Molecular Biotechnology, 54:602–608, (2013).
4. **Ozkan E.** and Ertan F., Production and Determination of Some Biochemical Properties of Protease Enzyme by *Trichothecium roseum* Under Solid State Fermentation, Romanian Biotechnological Letters, Vol. 17, No. 1, (2012).

Bildiri

1. **Ozkan E.**, Erdemir A., Torer B.D., Tasci A.I., Baskin Y., Ellidokuz H., Turgut-Balik D. "Association of Single Nucleotide Polymorphism rs10896449 on Prostate Cancer in Turkish Population", The FEBS EMBO 2014 Conference, Paris, France, 30 Aug-04 September 2014 (Submitted).
2. **Ozkan E.**, Erdemir A., Turgut-Balik D. "Evaluation of SNPs prior to genotyping studies" III. International Congress of Molecular Biology and Biotechnology, Sarajevo, Bosnia Herzegovina, 02-06 June 2014 (Accepted).
3. Erdemir A., **Ozkan E.**, Turgut-Balik D. "Multiple SNP genotyping of intracranial aneurysm patients by MassARRAY iPLEX platform to be used for risk assessment of the disease" III. International Congress of Molecular Biology and Biotechnology, Sarajevo, Bosnia Herzegovina, 02-06 June 2014 (Accepted).
4. Cayir E., Erdemir A., **Ozkan E.**, Topuzoğulları M., Bolat Z.B., Akat A., Turgut-Balik D. "Expression and purification of enolase enzyme from *Theileria annulata*" II. International BAU Drug Design Congress, Istanbul, Turkey, 01-19 April 2014.
5. Bolat Z.B., Cayir E., **Ozkan E.**, Erdemir A., Turgut-Balik D. "Sequence Analysis of D-Lactate Dehydrogenase from Nontoxigenic and Enterotoxigenic strains of *Bacteroides fragilis*." 2nd International Congress of Molecular Biology Association of Turkey, Istanbul, Turkey, 22-23 Nov. 2013.
6. Sarıyer E., Erdemir A., Milward M.R., Cooper P.R., **Özkan E.**, Turgut-Balık D. "Expression of Lactate Dehydrogenase Gene From *Fusobacterium nucleatum*." 38th Federation of European Biochemical Societies Congress. Saint Petersburg, Russia. 6-11 July 2013.
7. Bolat Z.B., Çayır E., **Özkan E.**, Sears C., Erdemir A., Turgut-Balik D. "Amplification and Cloning of the Gene Encoding Lactate Dehydrogenase Enzyme from *Bacteroides fragilis* that is Known to be Localized in Colon Cancer Tissues." 1st International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, Istanbul, Turkey. 23-24 November 2012.
8. Sarıyer E., Erdemir A., Milward M.R., Cooper P.R., **Özkan E.**, Turgut-Balik D. "Fusobacterium nucleatum Laktat Dehidrogenaz Enzimini Kodlayan Genin Klonlanması", II. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, 15-18 Kasım 2012.

9. Çayır E., Akat A., Erdemir A., **Özkan E.**, Turgut-Balık D. "Removal of an intron from *Theileria annulata* enolase gene by PCR site directed mutagenesis", II. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya, 15-18 Kasım 2012.

Kitap

1. Turgut-Balık D, **Özkan E.** 2012. "DNA tamiri ve rekombinasyon". Moleküler Biyoloji, Editör: Prof. Dr. Mehmet Karataş. 1. Basım. Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayınları, ISBN: 9786058801271. Sayfa: 119-135. Ankara, 2012.

2. Turgut-Balık D, Erdemir A., **Ozkan E**, Akbulut E, Schaum's Outlines Biology Third Edition, Chapter 7, The Nature of the Gene, Nobel Akademik Yayıncılık, Editör: Mehmet Karataş (Çeviri Editör'e gönderildi).

Proje

1. Prostat kanseri ile ilişkili olduğu düşünülen bazı gen polimorfizmlerinin Türk hastalarda incelenmesi, Yıldız Teknik Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) Projesi, Proje No: 2012-07-04-DOP02, **Araştırmacı** (2012-).

2. *Theileria annulata*'nın Enolaz Enzimini Kodlayan Genin İntrondan Arındırılarak İzole Edilmesi, İfadesinin Yapılması ve Yönlendirilmiş Mutagenез ile Analiz Edilmesi, Yıldız Teknik Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) Projesi, Proje No: 2011-07-04-KAP03, **Araştırmacı** (2011-2014).