DİDEM KAFADAR

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2009

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak . ↓

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;

Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYİN TÜMÖRLÜ HASTALARDA SURVİVİN GEN POLİMORFİZMİ VE SERUM SURVİVİN DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

(DOKTORA TEZİ)

DİDEM KAFADAR

DANIŞMAN
DOÇ. DR. İLHAN YAYLIM ERALTAN

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI /
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

16 / 11 /2009

Prof.Dr.Tamer DEMİRALP
Enstitü Müdürü (Vekili)

Kurum	: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı	: MOLEKÜLER TIP
Programın seviyesi	: Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒
Anabilim Dalı	: MOLEKÜLER TIP AD
Tez Sahibi	: DİDEM KAFADAR
Tez Başlığı	: BEYİN TÜMÖRLÜ HASTALARDA SURVİVİN GEN POLİMORFİZMİ VE SERUM SURVİVİN DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ
Sınav Yeri	: MOLEKÜLER TIP AD
Sınav Tarihi	: 11 / 11 / 2009

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1.PROF.DR.TURGAY İSBİR, İ.Ü. DETAE MOLEKÜLER TIP AD

2.PROF.DR.NESRİN EMEKLİ, M.Ü. DİŞ HEKİMLİĞİ FAK. BİYOKİMYA AD

3.DOÇ.DR. İLHAN YAYLIM ERALTAN, İ.Ü. DETAE MOLEKÜLER TIP AD

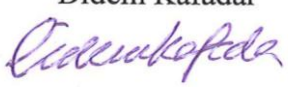
4.DOÇ.DR. ARZU ERGEN, İ.Ü. DETAE MOLEKÜLER TIP AD

5.DOÇ.DR. BEDİA AĞAÇHAN, İ.Ü. DETAE MOLEKÜLER TIP AD

BEYAN

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

Didem Kafadar



İTHAF

“Bu tezi, kanseri yaşayan ve onunla mücadele eden tüm insanlara iyileşmelerini dileyerek ve özellikle hastaların şifa bulması için çalışan tüm araştırmacılara ithaf ediyorum…”

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince deneysel çalışmalarımı yapabilmem için gerekli olan tüm laboratuvar olanaklarının ve tezim için gerekli her türlü desteğin sağlanmasındaki katkılarından dolayı, her konuda gerçek anlamda yol gösteren,bilimsel kimliği kadar insani vasıfları da ödüllendirilmeye layık olan çok değerli hocam

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Müdürü ve Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Doktora eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen ve benden desteğini, iyi niyetini hiçbir zaman esirgemeyen çok kıymetli hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. İlhan Yaylım Eraltan ile hocalarım Doç.Dr.Bedia Ağaçhan, Doç.Dr.Hülya Yılmaz Aydoğan, Doç.Dr.Oğuz Öztürk, Doç.Dr. Arzu Ergen, Doç.Dr.Ümit Zeybek ve tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve çalışanlarına,

Tezim için gerekli hastaların seçimi, örneklerin sağlanması ile klinik değerlendirmelerindeki destek ve katkılarından dolayı İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD Başkanı Prof.Dr. Mehmet Yaşar Kaynar'a ve Doç. Dr. Ali Metin Kafadar'a,

Deneysel çalışmaların yapılabilmesi için gerekli finansal desteği sağlayarak araştırmaların gerçekleşmesine olanak veren İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen, bana her konuda yardımcı olan aileme yürekten teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 867

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ii
BEYAN iii
İTHAF iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ, ... ix
ŞEKİLLER LİSTESİ xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ xiii
ÖZET xiv
ABSTRACT xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
1.1. Beyin Tümörlü Hastalarda Survivin Gen Polimorfizmi Ve Serum Sürvivin Düzeylerinin İncelenmesi 1
2. GENEL BİLGİLER 5
2.1. Beyin Tümörleri Etyopatogenezi 5
2.1.1. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması 6
2.2. Beyin Tümörleri Ve Etyopatogenezinde Yer Alan Moleküler Mekanizmalar 8
2.2.1. Meningiomlar 8
2.2.2. Nöroepitelyal (Glial) Tümörler 11
2.3. Apoptoz 14
2.3.1. Malign Gliomlarda Anti-Apoptotik Mekanizmalar 15
2.4. Apoptotoz İnhibitörü Proteinler Ailesi (IAP) 17
2.5. Survivinin Yapısı, Özellikleri, Önemi 18
2.5.1. Survivinin Yapısı 18
2.5.2. Survivinin Fonksiyonu 18
2.6. Sürvivin Ve Diğer Anti-Apoptotik Moleküller 19
2.6.1. Tümörlerde Survivin ile İlgili Yapılan Çalışmalar 19
2.6.1.1. Survivin Regülasyonu 19
2.7. Survivinin Prognostik Ve Diagnostik Önemi 20
2.8. Survivin Gen Yapisi Ve Promotor Bölge Polimorfizmi 21
2.9. Survivin Gen Ekspresyonunun Regülasyonu 22

2.9.1. İnsan Malignitelerinde Survivin 23
2.9.2. Antikanser İlaçlar Tarafından Survivinin Modulasyonu 23
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı 25
3.2. Kullanilan Kimyasal Maddeler 25
3.3. Kullanılan Gereçler 26
3.4. Çözeltiler 26
3.4.1. DNA İzolasyonunda Kullanilan Çözeltiler 26
3.4.1.1. Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer) 26
3.4.1.2. 0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8.0) 26
3.4.1.3. 4 M Sodyum Klorür (NaCl) 27
3.4.1.4. Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL) 27
3.4.1.5.1 M Tris Tamponu (Stok) 27
3.4.1.6. 9.5 M Amonyum Asetat 27
3.4.1.7. %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) 28
3.4.1.8. Proteinaz K (20 mg/ml) 28
3.4.2. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler 28
3.4.2.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X) 28
3.4.2.2. Etidyum Bromür (10 mg/ml) 28
3.4.2.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE) 29
3.5. Kullanilan Yöntemler 29
3.5.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu 29
3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini 29
3.5.2. Survivin Promotor Gen Polimorfizminin Tesbit Edilmesi 30
3.5.2.1.Survivin Gen Polimorfizminin Tesbitinde Kullanılan Primer Dizileri 30
3.5.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR)'da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PCR'ın Hazırlanışı 30
3.5.2.3. PCR Karışımının Hazırlanışı 31
3.5.2.4. PCR Koşulları 32
3.5.2.5.Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanilan Kimyasal Maddeler Ve Gereçler 32
3.5.2.6 PCR Ürünlerinin Kontrolü 33
3.5.2.7.Survivin Gen Promotor Polimorfizminde Enzim Kesimi 34

3.5.2.7.1.Survivin Gen Polimorfizminin Tesbitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler 34
3.5.2.8 Survivin Gen Promotor Polimorfizminin Değerlendirilmesi ve Kontrolü 35
3.5.3.Serum Survivininin EIA Yöntemi İle Tayini 36
3.6.Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler 36
4. BULGULAR.....37
4.1. PCR Ürünlerinin Kontrolüne Ait Bulgular.....37
4.1.1.Survivin Geni Promotor Bölge PCR Ürünlerine Ait Bulgular 37
4.2. Kesim Ürünlerinin Kontrolüne Ait Bulgular.....37
4.2.1.Survivin Geni Promotor Bölge Kesim Ürünlerine Ait Bulgular.....37
4.3. İstatistiksel Analiz Sonrasında Elde Edilen Bulgular.....38
5. TARTIŞMA.....65
KAYNAKLAR.....76
FORMLAR.....88
ETİK KURUL KARARI.....90
ÖZGEÇMİŞ.....91

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Primer beyin tümörlerinde iyi prognostik faktörler 6

Tablo 2-2: Beyin tümörlerinin histopatolojik tiplere göre evrelemesi 7

Tablo 3-1: PCR için uygun Survivin geni primerleri 30

Tablo 3-2: PCR karışımının hazırlanması 31

Tablo 3-3: Survivin promotor gen polimorfizmi PCR Koşulları 32

Tablo 3-4: Survivin geni promotor polimorfizminin tesbitinde kullanılan enzim ve kimyasal maddeler 34

Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait bilgiler 39

Tablo 4-2: Beyin tümörü taşıyan ve primer beyin tümörlü hastalar ve kontrol grubu arasında Survivin promotor -31C>G gen polimorfizmi genotip ve allel dağılımı 40

Tablo 4-3: Primer beyin tümörlü hastaları hücresel orjin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları 41

Tablo 4-4: Primer beyin tümörlü hastaları malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial)/ olmama (non-glial) durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları 42

Tablo 4-5: Primer beyin tümörlü hastaları malign ya da benign olma/olmama durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları 43

Tablo 4-6: Primer beyin tümörlü hastaların glial kaynaklı tümör taşıma / taşımama durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları 43

Tablo 4-7: Primer beyin tümörlü hastalardan glioblastome multiforme tümörü taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları 44

Tablo 4-8: Primer beyin tümörlü hastalardan frontal yerleşimli tümör taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları 45

Tablo 4-9: Primer beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip dağılımları 45

Tablo 4-10: Primer beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre I+II ve III+IV olarak gruplandığında Survivin promotor -31C>G G genotip ve allel taşıma durumlarının incelenmesi 46

Tablo 4-11: Nöroepitelyal kaynaklı tümör taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 47

Tablo 4-12: Meninks kaynaklı tümör taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 48

Tablo 4-13: Malign tümör taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 49

Tablo 4-14: Benign tümör taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 50

Tablo 4-15: Glial tümörleri taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 51

Tablo 4-16: Non-Glial tümörleri taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 52

Tablo 4-17: Glioblastome Multiforme tümörü taşıyan hastalarda Survivin promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki 53

Tablo 4-18: Primer beyin tümörlü hastaları hücresel orjin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin serum düzeyleri (pg/ml) 54

Tablo 4-19: Primer beyin tümörlü hastaları malign / benign ve glial kaynaklı olma (glial) / olmama (non-glial) durumuna göre serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 55

Tablo 4-20: Primer beyin tümörlü hastaları malign ya da benign olma / olmama durumuna göre sınıflandırıldığında serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 56

Tablo 4-21: Primer beyin tümörlü hastaların glial kaynaklı tümör taşıma / taşımama durumuna göre sınıflandırıldığında serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 57

Tablo 4-22: Primer beyin tümörlü hastalardan Glioblastome Multiforme tümörü taşıyan hastalarda serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 57

Tablo 4-23: Primer beyin tümörlü hastalardan frontal yerleşimli olan ve olmayan tümör taşıyan hastalarda serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 58

Tablo 4-24: Primer beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre I+II ve III+IV olarak gruplandığında serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 58

Tablo 4-25: Primer beyin tümörlü hastaları hücresel orijin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında survivin promotor -31C>G G genotip ve serum Survivin düzeyleri 59

Tablo 4-26: Primer beyin tümörlü hastaları malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial) / olmama (non-glial) durumuna göre Survivin promotor -31C>G genotip ve serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 60

Tablo 4-27: Primer beyin tümörlü hastaları malign ya da benign olma / olmama durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip ve serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 61

Tablo 4-28: Primer beyin tümörlü hastaların glial kaynaklı tümör taşıma / taşımama (non-glial) durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin promotor -31C>G genotip ve serum Survivin düzeyleri (pg/ml) 62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1:Apoptotik yolaklar ve düzenleyicileri 15

Şekil 2-2:Survivin geni ve çeşitli izoformlarının şematik gösterimi 21

Şekil 3-1:Survivin gen promotor polimorfizminin şematik jel görüntüsü 35

Şekil 4-1:Survivin promotor bölge PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü 37

Şekil 4-2:EcoO109I enzim kesimi sonucu 38

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

IAP : Apoptoz inhibitörü proteinler

GBM: Glioblastoma Multiforme

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

CDE/CHR : Cell cycle dependent element/cell cycle gene homology region

SMAC/DIABLO : Second mitochondria-derived activator of caspases/direct inhibitor of apoptoz-binding protein with a low isoelectric point

PTEN : Fosfotidilinositol 3 kinaz/ Akt/fosfotidilinozitol fosfat 3'-fosfotaz

MAPK : Mitogen-ativated protein kinase

OR : Risk katsayısı

CI : Güvenilirlik aralığı

3'UTR : 3'kodlanmayan bölge

5'UTR : 5' kodlanmayan bölge

CDKN : Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör

CDK : Siklin Bağımlı Kinaz

MERLIN : Moesin-ezrin-radixin-like protein

MDM2 : Murin double minute 2 protein

RB : Retinoblastoma

TGF : Tümör Büyüme Faktörü

DR : Death receptor

TNF : Tümör nekroz faktörü

TRAIL : TNF-ilişkili apoptoz-indükleyici ligand

BIR : Baculovirus inhibitor-of-apoptoz repeat

PCR : Polymerase Chain Reaction

ÖZET

Kafadar D. (2009). Beyin Tümörlü Hastalarda Survivin Gen Polimorfizmi ve Serum Survivin Düzeylerinin İncelenmesi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, DETAE,Moleküler Tıp AD, Moleküler Tıp Programı, Doktora Tezi, İstanbul.

Hücre döngü kontrolü kaybı sonucu hücre proliferasyonunun bozulması normal hücrelerden çok, bu olaya daha duyarlı olan kanser hücrelerinde oluşur. Güncel olarak survivin ekpresyonu insan gliomlarında bildirilmiş olup,survivin ekspresyonunun artmış düzeylerinin gliomlu hastalarda sağkalım sürelerinin azalması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.Survivin geni promotorunda CDE/CHR represör bağlama bölgesinde(ATG başlangıç kodonuna -31 uzaklıkta) yer alan promotor -31 C>G polimorfizminin survivinin hem mRNA hem de protein seviyesinin aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğu ve bir kısım kanser hücre soyunda CDE/CHR e bağlanmanın fonksiyonel olarak bozulması ile hücre döngü bağımlı transkripsiyonunun değiştiği gösterilmiştir.Çalışmamızda, benign ve malign beyin tümörlü hastalarda survivin gen polimorfizmini ve tümör varlığında bu polimorfizmin serum survivin seviyelerine olan etkisini inceledik.Bu amaçla survivin promotor -31C>G polimorfizmini tümör risk ya da progresyona ilişkin bir parametre olarak araştırdık. Çalışmaya 82 primer beyin tümörlü ve 65 sağlıklı kontrol dahil edildi. Çalışmamızın sonuçlarına göre, malign tümörlü hastalarda serum survivin düzeyleri, benign tümörlü hastalardakine oranla istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Survivin promotor -31 C>G polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları primer beyin tümörlü hastalar ve kontrol grubu arasında farklı değildi. Survivin promotor -31 GG genotipi taşıyan malign glial tümörlü hastalarda serum survivin seviyesinin kontrollerdekine ($p=0.05$) ve benign tümörlerdekine oranla istatistiksel anlamlı yüksek olduğu ($p=0.04$) bulunmuştur.Eğer daha geniş hasta gruplarında doğrulanırsa bu çalışmada elde edilen verilerin, beyin tümörlerinde genetik riski ve tümör ilerleyişini değerlendirmede yardımcı bir klinik değeri olabileceği ve primer beyin tümörleri altında yatan mekanizmalara yeni bakış açıları kazandırabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: apoptoz, beyin tümörleri, genler, polimorfizm, survivin.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir . Proje No: 867

ABSTRACT

Kafadar D. (2009). Investigation of Survivin Gene Polymorphism and Serum Survivin Levels in Patients with Brain Tumors , Istanbul University, Institute of Health Sciences,DETAE,Department of Molecular Medicine,PhD Programme Thesis, İstanbul.

Cancer cells which have lost control over the checkpoints have more sensitivity to the deregulation of proliferation than the normal cells. Recently survivin expression was reported in gliomas in humans and increasing levels of survivin expression were significantly correlated with a reduction in the overall survival times in all patients harboring gliomas. Polymorphisms were identified within the promoter region of the survivin gene, one of which is located at the CDE/CHR repressor binding site (–31 to the first nucleotide of the ATG start codon). This polymorphism (G/C) seemed to be associated with over-expression of survivin at both mRNA and protein levels, and changed cell cycle-dependent transcription by the functional disruption of binding at the CDE/CHR in a number of cancer cell lines. In our study, we investigated survivin gene polymorphism in patients with benign and malign brain tumors and whether this polymorphism affects survivin serum levels when tumor is present. We have examined Survivin Promotor -31C>G polymorphism as a marker of tumour risk and progression in primary brain tumors. 82 patients with primary brain tumors and 65 healthy controls were enrolled in this study. According to our results, serum survivin levels in patients with malign tumours were significantly higher than those in patients with benign tumors ($p<0.001$). There were no differences in the distribution of survivin promotor -31C>G genotypes and alleles between patients with primary brain tumours and controls .Serum survivin levels in patients with malign glial tumors who have survivin promotor -31GG genotype were significantly higher than those in controls ($p= 0.05$) and benign tumors ($p=0.04$).These findings if confirmed in larger patient groups may have clinical value in assessment of the genetic risk and tumour progression in brain tumours thus opening new perspectives for the study of molecular factors underlying the mechanisms of primary brain tumours.

Key Words:apoptosis,brain tumors,genes, polymorphism, survivin.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 867

1.GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Beyin Tümörlü Hastalarda Survivin Gen Polimorfizmi Ve Serum Survivin Düzeylerinin İncelenmesi

Apoptoz, embriyonel gelişim sırasında ve doku homeostazının sağlanmasında önemli bir fizyolojik role sahiptir. Apoptozun bozulması, transforme edici mutasyonların toplanmasını kolaylaştırarak anormal olarak uzayan hücre yaşam süresine sebep olan karsinogenez mekanizmalarından biri olarak belirtilmektedir(1). Apoptotik hücre ölümüne yol açan yolaklar evolüsyonda yüksek derecede korunmuş olup, ya pro-apoptotik ya da anti-apoptotik proteinler tarafından kontrol edilir.Apoptoz inhibitörü proteinler (IAP) ailesi, başlangıçta bakulovirüslerde, daha güncel olarak metazoonlarda olmak üzere 5 yıldan fazla zamandır gündemdedir. Apoptoz inhibitörü proteinlerin apoptozu, bcl-2'yi içeren diğer apoptotik inhibitör ailesinden daha fazla baskıladığı bilinmektedir. Bu proteinlerin doğrudan onkogenik rollerinin henüz tam olarak açıklığa kavuşmamasına rağmen, onkogenezde rol aldıkları kanıtlanmıştır. Kanser oluşumunda bu proteinlerin yer aldığına dair en güçlü bulgu survivin proteininin varlığıdır. Survivinin kaspazların inhibisyonu üzerinden etki gösterdiği ve aynı zamanda da hücre kontrolüne karıştığı öne sürülmektedir(2) .Proliferasyon regülasyonu bozulmuş ve kontrol noktalarındaki denetimi kaybeden kanser hücrelerinin apoptotik baskılanmaya hassasiyetleri normal hücrelerden daha fazladır(3).Survivinin gelişmekte olan fetal dokularda ve birçok tümörde ekprese edildiği ancak farklılaşmış olgun dokularda ise oldukça nadir olarak bulunduğu bildirilmiştir. Survivinin akciğer, mide, kolon, meme, prostat, non-Hodgkin lenfoma gibi pek çok yaygın kanser türünde eksprese olduğu gözlenmiştir (4).

Bu bulgulara dayanarak kanser hücrelerinin hücre yaşam sürelerini uzatmak için fetal yaşamdaki survivin ekpresyonu paternine geri döndükleri, hatta bu sayede kemoterapötik ilaçların sitotoksik etkilerinin üstesinden de gelebildikleri öne sürülmektedir. Nöroblastoma ve kolorektal kanserlerde yapılan immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda survivin ekspresyonunun potansiyel bir prognostik faktör olarak değerlendirebileceği ileri sürülmüştür (5,6). Beyin tümörlerinde çok farklı histolojik tanılar söz konusudur. En sık rastlanan iki büyük grup glial tümörler ve meningiomlardır. Glial tümörlere Nöroepitelyal tümörler de denir ve genellikle malign karakterlidir. Meningiomlar ise adını beyni kaplayan zarlar olan meninkslerden alır, genellikle benign

karakterlidir. Tümör büyümesi ve progresyonu birçok kanserde hücre döngüsü regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir.Meningiom progresyonunda hücre regülasyonunun bozulmasının önemli rolü olduğuna dair kanıtlar mevcuttur .Hücre siklüsünün bozulması ile DNA hasarının kontrol mekanizmaları içiçe geçmiş durumdadır.Nörofibromatoz 2 (NF2) genindeki mutasyon meningiomların yarıdan fazlasının oluşumunda rol oynar. NF2 mutasyonu olmadan gelişen meningiomların altındaki mekanizmalar henüz tanımlanmamıştır. Steroid hormonların, büyüme faktörlerinin ve reseptörlerinin düzensiz ekspresyonu ve düzensiz sinyal iletimi meningiom oluşumuna zemin hazırlar. Hücre siklüsünün regülasyonunun bozulması ve telomeraz aktivasyonu da meningiom progresyonunda önemli adımlardır. Meningiomun malign progresyonunda kromozom 1p,9p,10q ve 14q üzerindeki tümör süpresör genlerin inaktivasyonu, hücre siklüsünün bozulması, DNA hasarının kontrol mekanizmalarındaki aksamalar göze çarpmaktadır.Genomik integrasyonu sağlayan genlerin araştırılmasıyla meningiom progresyonu daha iyi anlaşılacaktır(7).

Gliomlar düşük evreli glial tümör ve glioblastoma multiforme (GBM) olarak ayrılabilir. GBM düşük evreli gliomdan kaynaklandığı zaman sekonder, daha az malign prekürsör bir lezyon olmadan- de novo olarak ortaya çıkarsa primer olarak adlandırılır. Sekonder GBM, daha yavaş olarak düşük evreli gliom veya anaplastik astrositomadan kaynaklanırken de novo GBM daha hızlı seyreder. GBM oluşumunda moleküler mekanizmalar değişebilmektedir. Son on yılda yapılan çalışmalarda primer ve sekonder GBM'nin genetik gelişimlerinin farklı olabileceği önerilmiştir. Survivinin sitoplazmik pozitifliği primer GBM lerde anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Bu ve benzeri çalışmalarda survivinin GBM patogenezinde rolü olabileceği önerilmiştir (8).

Beyin tümörleri ile ilgili moleküler çalışmaların patogenez hakkında fikir vermiş olmalarına karşın tedaviye cevap ve klinik seyri tahmin etmedeki önemleri henüz belirsizdir. Beyin tümörlerinde terapötik yaklaşımları belirleyen prognostik değişkenlerden elde edilen bilgileri irdeleyebilmek için apoptotik belirteçlerin ekspresyonu ve apoptozun kantitatif belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır ve bcl-2, bax, fas/fasL, survivin ve p53 gibi apoptotik belirteçlerin ekspresyonu ve prognozla ilgili apoptoz çalışılmıştır. Apoptozun artması ve p53ün genetik değişiklikleri çeşitli santral sinir sistemi tümörlerinde kötü prognozla ilişkili, bcl-2 ise prognozla ilişkisiz bulunmuştur (9).

Güncel olarak gliomlarda survivin ekspresyonu bildirilmiş olup, artmış survivin ekspresyonunun tüm hastalarda sağkalım süresinin azalması ile anlamlı bir şekilde korele olduğu bildirilmiştir(10). Normal fetal beyindeki survivin mRNA ekspresyonu ile karşılaştırıldığında, normal erişkin beyninde çok düşük seviyede survivin mRNA sı tespit edilmiştir (11). Survivinin meningiom ve gliomları içeren kanserlerde sıklıkla eksprese olduğu, beyin tümörlü hastaların zayıf prognozu ve tümör ilerleyişi ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir (12).

Survivin 16.5 kDa olan bir protein olup IAP ailesine mensuptur. Survivini kodlayan gen 17q25 de lokalizedir ve doğadaki formu 4 ekzon, 3 intron içermektedir (4,13). Survivin geninin promotoru bir hücre döngü bağımlı element (CDE) ve hücre döngü protein homolog bölgelere (CHR) sahiptir. Bu bölgeler tipik olarak siklin A ve siklin B gibi hücre döngüsünün G2/M fazında ekseprese olan genlerde mevcuttur. Survivin ekspresyonu G2/M fazında G2 veya S fazındakinden 10 kat daha yüksektir(14). Survivin genindeki, tek nükleotid polimorfizmlerinden biri CDE/CHR represör bağlama bölgesinde (ATG başlangıç kodonunun ilk nükleotide -31 uzaklıkta) lokalize, genin promotor bölgesi içinde yer almaktadır. Bu polimorfizmin (G/C) survivinin hem mRNA hem de protein seviyesinin aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu polimorfizmin ayrıca bir kısım kanser hücre soyunda CDE/CHR represör motiflerinde bağlanmanın fonksiyonel olarak bozulması ile hücre döngü bağımlı transkripsiyonu değiştirmekte olduğu da gösterilmiştir (15).

Kanser hastalarının yaşam sürelerinin uzamasına özellikle katkıda bulunan erken teşhis, günümüzde pek çok kanser tipinde olduğu kadar beyin tümörlerinde de oldukça önem taşımaktadır. Kanserde risk belirleme parametrelerinden biri olabileceği ileri sürülen gen polimorfizm çalışmaları, beyin tümörlerinde de özellikle artmış hücre proliferasyonu ve bozulmuş apoptozla ilgili çok çeşitli genler üzerinde yürütülmektedir. Karsinogenezde hücre proliferasyonu ile hücre apoptozisi arasında dengesizlik vardır. Survivin özellikle son yıllarda gündemde olan hem mitoz düzenlenmesi hem de apoptoz baskılanması ile ilgili çok önemli bir proteindir. Survivinin gliomlarda yüksek oranda eksprese edildiği ve tümör oluşumu, progresyonu ve gliomların kötü prognozu ile ilgisi gösterilmiştir(16). Ancak bu konuda özellikle beyin tümörlerinde olan polimorfizm çalışmaları gerek ülkemizde gerekse yurt dışında da sınırlı sayıdadır.

Sonuç olarak beyin tümörlerinin etyopatogenezinde rol oynayan, prognozda etkili olduğu düşünülen survivin proteininin çeşitli benign ve malign beyin tümörlü hastalardaki serum düzeylerinin incelenmesi ve bu düzeylerin survivin geninin promotor bölgesindeki polimorfizm ile ilişkisi olup olmadığını, tüm bu parametrelerin hastaların klinik bulguları ile birlikte değerlendirilmesiyle hastalık ile ilişkili bir risk faktör olarak değerlendirilip değerlendirilmeyeceğinin araştırılması hedeflenmektedir. Çalışmamızın beyin tümörlerinin patogenezinde survivinin önemini araştıracak çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

2.GENEL BİLGİLER

Beyin tümörleri beyin dokusunu ve zarlarını oluşturan birçok farklı hücreden kaynaklanır.Beyin dokusu meninks adı verilen bağ dokudan oluşan sırasıyla duramater, araknoid, pia mater membranları ile çevrilidir. Nöronlar ve glia (nöroglia) hücreleri sinir dokusunu oluşturur.Glia hücreleri, nöronları koruyan, destekleyen, nöron beslenmesi ve merkezi sinir sisteminin savunmasını sağlayan hücrelerdir. Glial hücreler astrositler, oligodendrositler, ependimal hücreler ve mikroglialardan oluşur (17). İntrakranial tümörlerin rölatif olarak adolesan ve genç erişkinlerde nadir olup 3. ve 4. dekatta difüz astrositom insidansının artmaya başladığı 50 yaşın üzerinde insidansın giderek arttığı ve yaşlı grupta en sık glioblastom, metastatik karsinom, meningiom ve schwannom görüldüğü bildirilmiştir (18).

2.1. Beyin Tümörleri Etyopatogenezi

Beyin tümörlerinde etyolojisinde herediter predispozisyonun yanısıra çevresel faktörler araştırılmıştır. Kanıtlanmış tek çevresel faktör terapötik de olsa iyonize radyasyon olup iyonize radyasyona maruz kalmanın meningiom riskini arttırdığı çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda saptanmıştır(19).Alkol kullanımı, kimyasal ajanlar, elektromanyetik alanlar,kafa travması, enfeksiyonlar,tütün kullanımı da kanıtlanmamış ancak olası risk faktörleri olarak tanımlanmışlardır.Li-Fraumeni sendromu (p53 mutasyonu), Multipl endokrin neoplazi tip 1, Neurofibromatoz 1 ve 2, Nevoid bazal hücreli karsinom sendromu,Tuberoz skleroz,Turcot sendromu,Von Hippel-Lindau hastalığı gibi bazı seyrek genetik durumlar beyin tümörleriyle ilişkilidir (20).

Primer beyin tümörlü hastalarda hastanın şikayetleri fokal veya jeneralize olabilir. Hastalığın ilk zamanlarında fokal olan semptomlar, tümör kitlesi büyüdükçe başağrısı,epilepsi nöbetleri ve mental fonksiyon değişiklikleri gibi jeneralize semptomlara dönüşür(21).Tanı beyin görüntüleme yöntemleri ve biyopsi veya operasyon materyalinde histopatolojik inceleme ile konur. Tanıya ve hastanın klinik durumuna göre tedavi planlanır. Total rezeke edilebilirse tümör çıkarılır, malignitede radyoterapi ve kemoterapi tedavileri planlanır. Yapılan çalışmalarda malign gliomlarda tümör evresi, hasta yaşı, fonksiyonel durumu, total rezeksiyon prognostik faktörler olarak saptanmıştır(22,23,24).Tablo 2-1 de prognoza olumlu etki eden faktörler görülmektedir(25).

Tablo 2-1:Primer beyin tümörlerinde iyi prognostik faktörler (25 den değiştirilerek)

60 yaşın altında olmak
Nöbet ile başvuran hastalar
Frontal lob tümörleri
Düşük evreli tümör
Nekroz bulunmaması
Tümör hücrelerinin düşük proliferatif aktivitesi
Karnofsky performans skorunun 70 üzerinde olması (hastanın kendi bakımını yapabilmesi)
Total veya totale yakın rezeksiyon

2.1.1. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması

Beyin tümörleri histolojik olarak kaynaklandıkları dokulara göre sınıflanır. Sınıflama ve evreleme tümörlerin histopatolojik karakterleri yanında malign davranışları da gözönüne alınarak yapılır. Yeni bulguların ışığında WHO sınıflaması sık sık değişmektedir. Beyin tümörlerinin evrelemesi tedavi seçimini de etkilemektedir ve hastanın yaşı, performans durumu, tümörün yeri, radyolojik bulgular, cerrahi rezeksiyonun genişliği, proliferasyon indeksleri ve genetik değişiklikler gibi klinik bulguların yanında prognozu belirleyen kriterlerden biridir. Histolojik tipleri rekürrans riski ile ilişkilidir. Rekürrans ve/veya agresif büyüme gösterme olasılığı daha az olan tümörler Evre I, rekürrans ve/veya agresif davranış gösterme olasılığı daha fazla olanlar ise Evre II veya Evre IIIe dahildir(26,27).

Evre I tümörler düşük proliferatif potansiyale sahip ve cerrahi rezeksiyon sonrası şifa olanağı bulunan lezyonları kapsar. Evre II tümörler infiltrasyona yatkın olup düşük proliferatif potansiyallerine rağmen tekrarlayabilen ve bir kısmı daha yüksek malignite seviyelerine ilerleyebilen lezyonlardır. Nükleer atipi ve mitotik aktiviteli histolojik olarak malign kabul edilen lezyonlar Evre III kabul edilir ve adjuvan radyoterapi ve/veya kemoterapi tedavisi görürler. Evre IV te ise sitolojik olarak malign, aktif mitozlu, nekroz görülen, çevre dokulara infiltre olup yayılabilen, hızlı ilerleyen hastalık ile birlikte

bulunabilen neoplazmlardan bahsedilir.En son histopatolojik tiplere göre evreleme Tablo 2-2 de ana hatları ile bulunmaktadır (27).

Tablo 2-2:Beyin tümörlerinin histopatolojik tiplere göre evrelemesi (27 den değiştirilerek)

NÖROEPİTELYAL TÜMÖRLER	
Astrositik tümörler	
Subependimal dev hücreli astrositom (evre I)	Pilositik astrositom (evre I)
Pilomiksoid astrositom (evre II)	Diffuse astrocytoma (evre II)
Pleomorphic xanthoastrocytoma (evre II)	Anaplastic astrocytoma (evre III)
Glioblastoma (evre IV)	Dev hücreli glioblastoma(evre IV)
Gliosarkom(evre IV)	
Oligoedendroglial tümörler	
Oligodendrogliom (evre II)	Anaplastik oligodendrogliom (evre III)
Oligoastrositik tümörler	
Oligoastrositom (evre II)	Anaplastik oligoastrositom (evre III)
Ependimal tümörler (evre I to III)	
Koroid pleksus tümörleri (evre I to III)	
Diğer nöroepitelyal tümörler(evre I-II)	
Nöronal ve miks nöronal-glial tümörler(evre I - III)	
Pineal bölge tümörleri(evre I - IV)	
Embriyonel tümörler (evre IV)	
KRANYAL VE PARASPİNAL SİNİR TÜMÖRLERİ (evre I –IV)	
MENİNKS TÜMÖRLERİ	
Meningoepitelyal tümörler	
Meningiom (evre I)	
Atypical meningiom (evre II)	
Anaplastik(malign) meningiom (evre III)	
Mezenkimal tümörler	
Hemanjioperisitom(evre I-II)	
Primer melanositik lezyonlar	
Meninkslerle ilişkili diğer neoplazmlar	
Hemanjioblastom(evre I)	
SELLAR BÖLGE TÜMÖRLERİ (evre I)	
LENFOMALAR VE HEMATOPOİETİK NEOPLAZMLAR	
GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER	
METASTATİK TÜMÖRLER	

Çalışmamıza dahil olan beyin tümörlerinin çoğunluğu nöroepitelyal(glial) ve meningotelyal hücrelerden kaynaklanan tümörlerdir. Bu tümörler kendi aralarında malign ve benign özelliklerine göre ayrılmışlardır. Evre I tümörler benign, Evre II-III-IV olan tümörler malign olarak 2007 WHO evrelemesi doğrultusunda değerlendirilmişlerdir (27)

2.2.Beyin Tümörleri Ve Etyopatogenezinde Yer Alan Moleküler Mekanizmalar

2.2.1.Meningiomlar

Meningotelyal hücrelerden kaynaklanan meningiomların; araknoid materin ve araknoid villinin dış katmanında olan ve meningiom hücrelerine sitolojik olarak aşırı benzerlik gösteren araknoidal hücrelerden derive olduğu düşünülür. Primer intrakranyal tümörlerin %30 kadarı meningiomlardan oluşur ve insidansları yılda 100.000 de 4.5 olarak bildirilmiştir. Hayatın yedinci dekadında pik yapan bu tümörlerin çoğu yavaş büyüyen benign lezyonlardır ve kademeli artan intrakranyal basınç semptomları ile ilişkilidir.Tümörün büyüklüğüne ve lokalizasyonuna göre semptomlar değişmekle birlikte başağrıları ve epilepsi nöbetleri sık görülür (26).

Meningiomlar SSS ‘nin sık görülen tümörleri olup en çok orta yaşlı ve yaşlı hastalar tanı alır. Kadın hastalar erkek hastaların 1.4 ila 2.8 katı olarak bildirilmiş ancak benign olmayan tümörlerde ve pediatrik populasyonda kadınların dominansı izlenmemiştir (28).

Büyüme faktörleri, hormonlar ve reseptörleri hücre büyümesini hem fizyolojik hem de patofizyolojik durumlarda kontrol ederler. Kadınlarda meninjiyomların insidansının fazla olması ve gebelik esnasında büyümelerinin artmasında gonadal steroid hormonların önemli bir rolü olabileceği ,%30 dan fazla meningiomun östrojen reseptörü ekspres edebileceği ve benign meninjiyomların üçte ikisinde progesteron reseptörleri bulunduğu bildirilmiştir (29,30).

Malignansi derecelerine göre benign, atipik ve anaplastik olarak 3 evre meningiom bulunmaktadır. Burada mitoz sayısı, nekroz, beynin invazyonu, malign sitolojik karakter histolojik olarak incelenir. Meningiomların %80 i benign lezyonlar olup Evre I dir. Bazı varyantlar agresif biyolojik davranışları, rekürrans riski ve kısa surviv süreleri ile Evre II ve Evre III olup meningiomların sırasıyla % 5-20 ve % 1-2sini oluştururlar (7). Evre II ve III tümörler malign özellikli beyin tümörü olarak ele alınır. Atipik veya anaplastik (malign) olarak veya kordoid, berrak hücreli, rabdoid ve papiller

alt tipleri sınıflamanın prognostik önemi vardır. Benign meningiomlar histolojik olarak berrak hücreli, korkoid, papiller veya rabdoid dışında olanlardır ve atipik veya anaplastik meningiom özelliklerini taşımazlar. Yavaş büyürler ve rekürrans riskleri azdır. Büyük total rezeksiyon sonrası 5 yıllık rekürrans % 5'tir. Total rezeke edilmiş atipik meningiomların 5 yıllık rekürransı % 40'tır ve izleme zamanı uzarsa rekürrans oranı artmakta olup bu tanıyı alan hastaların ameliyat sonrası sık takibi gerektiği bildirilmiştir(26,31).Evre III meningiomlar malign neoplazmlara benzer klinik özellikler taşırlar ve bu komşu dokulara infiltrasyon ile metastaz yapabilirler. Rezeksiyon sonrası % 50-80 rekürrans oranı olup ortalama surviv 2 yıldan azdır. Evre I e dahil olan meningiomlar beyin invazyonu yapabilirler ve bu da rezeksiyonlarını çok zor kılar ancak atipik veya malign kabul edilmezler. Beyin invazyonu olursa rekürrans ve mortalite oranları atipik meningiomlara benzer (31).

Meningiom formasyonu, büyümesi, gelişmesi ve malign transformasyonunda rol oynayan moleküler mekanizmaları anlamaya yönelik çalışmalarda yakın zamanda önemli ilerleme kaydedilmiştir. Genetik analizler sonucu meningiomlarda tümör süpresörü MERLİN(schwannomin)'i kodlayan kromozom 22q12 üzerindeki Nörofibromatozis tip 2 (NF2) geninin kaybı saptanmıştır. NF2 gen ürünü hücre iskeletine integral membran proteinlerini bağlayan yapısal proteinlerin 4.1 ailesine aittir. MERLİN protein 4.1 ailesi molekülleri ile ilişkili olup hücre yüzeyindeki glikoprotein sinyalinin hücre içi sinyal yolaklarıyla bağlantısını sağlayarak hücre büyümesinin regülasyonunda görevlidir (26,19).Tümör süpresör gen NF2 nin inaktivasyonu meningiomların yarıdan fazlasının inisiyasyonundan sorumludur. NF2 mutasyonlarının sebebi, NF2 mutasyonları olmadan meningiom inisiyasyonundan ve büyümesinden sorumlu genetik değişikliklerin neler olduğu henüz bilinmemektedir (7).

Meningiomlarda malign progresyon histolojik ve genetik düzeyde araştırmaların yoğun olarak devam ettiği bir konu olup özellikle farklı tümör evreleriyle ilişkili bulunan genetik değişikliklerin sayısı artmaktadır (32). Benignden atipik ve anaplastiğe progresyonu sağlayan birçok moleküler değişimler ve genetik yolaklar tanımlanmıştır.

Atipik meningiomlarda kromozom 1p, 6q, 10, 14q ve 18q üzerinde genomik kayıplar ile 1q, 9q, 12q, 15q, 17q ve 20q kromozomlarında kazançlara sık rastlandığı, anaplastik meningiomlarda ise 6q, 10 ve 14q, 9p de kayıplar ile 17q da amplifikasyonlar bildirilmiştir (26).

Yapılan çalışmalarda anaplastik ve atipik meningiomların çoğunluğunda telomerik DNAnın replikasyonundan sorumlu bir ribonükleoprotein enzim olan telomeraz aktivitesi saptanmış ancak benign tümörlerde seyrek saptanmış ve meningiomların malign progresyonunun telomeraz aktivitesi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (7,19).

Atipik ve anaplastik meningiomların daha kompleks genetik değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Hücre siklüsü G1-S fazının kontrol noktalarını düzenleyen CDKN2A ve CDKN2B ve kromozom 9p üzerinde p14ARF kayıpları ile daha agresif bir fenotip görülür (33). Meninjiyom progresyonu da birçok kanserde olduğu gibi hücre döngüsü regülasyonu ile ilişkilidir. Malign progresyon esnasında siklüs inhibitör ailesinden INK4A / INK 4B gen ürünleri olan p16, p15 ve p14ARF'nin kayıpları proliferasyon kontrolünün hatalı olmasına yol açar. Fizyolojik olarak siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinden p16 ve p15 CDK4ü inhibe ederek retinoblastoma gen ürünü RBnin hipofosforilasyonuna sebep olur ve siklüs durur (7).

Meningiom tümörigenezindeki sinyal yolakları hakkında bilgi henüz sınırlı olmakla beraber yüksek dereceli meninjiyomlarda sıklıkla ve p16INK4a ve p15INK4b ve p14ARF disregülasyonu sonucu retinoblastoma proteinine (pRB) ve p53 e bağlı yolaklarda değişiklikler oluşur. G1 den S fazına geçişin regülasyonunda pRB yolağının merkezi bir rolü vardır. Mitojenik uyaranlarla siklin D ekspresyonu "upregüle" olur ve CDK4 veya CDK6 ya bağlanarak, pRB yı fosforiller, E2F transkripsiyon faktörleri salınır. Anaplastik meningiomlarda CDK4/ siklin D kompleksinin inhibisyonunun CDKN2A ve CDKN2B genlerindeki değişikliklerle bozulduğu bildirilmiştir (26,33). pRB yolağı p53 hücre siklüsü regülatuar yolağına p14ARF ile bağlanır (34). Fizyolojik olarak pRBnin fosforillenmesinden sonra E2F transkripsiyon faktörlerinin salınması p14ARFın transkripsiyonunu indükleyerek MDM2 nin aracılık ettiği p53 yıkılımını inhibe eder. Böylece p53 yolağı anormal pRB yolaği aktivasyonu olduğunda siklüsü durdurur. Anaplastik meningiomlarda ise p14ARFın homozigot delesyonlarının sık olması ile bu regülatuar mekanizma dağılır, bu da hücre siklüsü kontrol noktasının inaktive olmasının malignansi lehine olduğunun göstergesidir (33). p53 ün aşırı ekspresyonunun malignansi derecesi ile korele olduğu öne sürülmektedir.TP53 mutasyonları seyrek olarak anaplastik meningiomlarda bulunmuştur (35).

Meninjiyom hücrelerinin EGFR ve onun agresif büyüme ile ilişkili TGF-α ve EGF gibi ligandlarını otokrin ekspres edebildikleri ve dış uyaran olmadan otokrin büyüme

faktörü sekresyonu ve otokrin luplarla meninjiyomların büyüyebildiği saptanmıştır (7,26).

2.2.2.Nöroepitelyal (Glial) Tümörler

Histopatolojik görünümlerine göre difüz infiltran gliomlar astrositik, oligodendroglial, ve miks oligoastrositik olarak ayrılabilirler. Klinik özellikleri ve varolan genetik değişiklikler benzerdir. Anaplastik özellikler eklenirse evre III e dahil olurlar (36). Gliomlar; astrositomlar, oligodendrogliomlar, ependimomlar, ve koroid pleksus tümörleri dahil birçok tümör tipini kapsarlar. Beyin tümörlerinin en büyük ve en sık görülen grubunu astrositik tümörler oluşturur. Astrositomlar sellülarite derecesi, nükleer, ve sellüler pleomorfizm, mitoz, endotelyal proliferasyon ve nekroza dayalı olarak evrelendirilirler. Astrositik tümörler benign ve düşük dereceli veya diffüz (evre1 ve 2),anaplastik astrositomlar (evre 3), ve glioblastoma multiforme (GBM; evre 4) olarak ayrılırlar (27).

Astrositomalar, anaplastik asrositomalar ve GBM den oluşan bu grupta, düşük evreli astrositomaların malign fenotipe progresyonu görülebilir. Glial tümörler düşük evreli glial tümör ve glioblastoma multiforme (GBM) olarak ayrılabilir. Anaplastik astrositomalar ve GBM malign, yüksek evreli astrositom ve bunların dışında kalanlar düşük evreli astrositom olarak bilinirler.

Difüz astrositomlar tüm astrositik tümörlerin % 10-15 ini oluşturur.30-40 yaşlarında pik insidans bulunur. Erkek kadın oranı 1.18:1 dir. Yavaş büyürler ve komşu yapılara infiltrasyon yaparlar. Difüz astrositomlarda kalıtsal p53 germline mutasyonu/ Li-Fraumeni sendromu olan hastalarda görülebilir. % 60 TP53 mutasyonu bulunur. Tanı sırasında genç yaş, düşük evreli astrositomlarda daha iyi prognoz lehine, tümör büyüklüğü ise negatif prognostik faktör olarak bulunmuştur (36).

Astrositomlarda maligniteye progresyon karyotipik yapı ve ploidide karışıklığın artışı ile birliktedir. En sık rastlanan kazanım +7. ve +19. kromozomda, kayıp ise -9,-10, ve -22 nolu kromozomdadır (37). Astrositomlardan daha az agresif olan oligodendrogliomlarda kromozom 1p ve 19q delesyonu ile birlikte iyi prognoz ve radyoterapi ve kemoterapiye cevap olduğu saptanmıştır (38). Nörofibromatoz tip 1 de optik gliom ve astrositomda artmış risk ile ilişkilidir (39).

Glioblastoma en sık rastlanan ve en malign primer beyin tümörü olup dominan olarak astrositik diferansiyasyon, nükleer atipi, pleomorfizm, mitotik aktivite, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz içeren evre IV tümördür. Tüm astrositik tümörlerin %60-75 idir. Serebral hemisferlerde lokalizedir. 987 hastada yapılan bir çalışmada sırasıyla en sık temporal, parietal, frontal ve oksipital loblarda lokalize olduğu bildirilmiştir. İnvaziv özelliklerinden dolayı tamamen rezeksiyon yapılamayabilir, radyoterapi ve kemoterapiye rağmen hastaların yarısından azı bir yıldan fazla sağ kalabilir. Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde insidansı yılda 3-4 /100.000 dir. GBM özellikle erişkinlerde görülür, 45-75 yaşlarda pik yapar. Erkek kadın oranı 1.26 olarak bildirilmiştir (36). Total rezeksiyon yapılmış hastalar, epilepsi nöbeti ile başvuran hastalar muhtemelen erken tanı aldıkları için, frontal lob tümörlü hastalar ve düşük evreli tümörü(düşük proliferatif aktiviteli) olan hastalar daha iyi prognoza sahiptir (22,25).

Hasta yaşı artışı kötü prognostik faktördür, Evre III ve IV gliomlarda 60 yaş altı olmak ve Karnofsky performans skalasında 70 skoru uzamış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (22,25).

Epidemiyolojik bir çalışmada %80 hasta 50 yaşın üstünde bulunmuştur. Hastane bazlı çalışmalarda 50 yaş altı GBM hastaları yaşlı hastalardan daha iyi bir prognoza sahiptir (40,41). Epidemiyolojik çalışmalarda düşük evreli ve anaplastik gliomlar sekonder GBM den 2-3 kat daha fazla bulunmuştur, primer GBM ye kıyasla sekonder GBM daha seyrek görülür (41).

GBM daha yavaş olarak düşük evreli gliom veya anaplastik astrositomadan kaynaklandığı zaman sekonder, daha az malign prekürsör bir lezyon olmadan de novo olarak ortaya çıkarsa primer olarak adlandırılır, klinik gidişat çok hızlıdır (37). GBM alt tipleri hastaları farklı yaşlarda ve farklı genetik yolaklar yoluyla etkilerler. Onkogenler (EGFR, PDGF ve reseptörleri) ile tümör süpresör genler (p16INK4a, p14ARF, PTEN, RB1, ve TP53) GBM evriminde yer alır(41).1p, 10p, 10q, 19q ve 22q de LOH (heterozigosite kaybı) da görülür (41,42).

De novo GBM, EGFR amplifikasyonu ve sekonder GBM ise TP53 mutasyonunu ile ilişkili bulunmuştur (43). EGFR amplifikasyonu primer GBMde % 40 görülmüştür (41). Orta yaştan genç GBM hastalarında EGFR nin fazla ekspresyonu sağ kalım süresinin azlığı ile ilişkili bulunmuştur (44).

Hücre siklüsü kontrol proteinlerinden p53ün mutasyonunun sekonder glioblastomlarda % 65 bulunduğu ve bu mutasyonun GBM'nin geliştiği daha az malign prekürsör lezyonda da %90 bulunduğu bildirilmiştir (40). Buna karşın primer glioblastomların sadece %10 unda p53 mutasyonu görülmüştür (9). P53 mutasyonlarının iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (41,45). Astrositik tümörlerde p 53 durumunun tedavi cevabı ile ilgili olabileceği bildirilmiştir. Birner ve ark. P53 protein ekspresyonu tesbit edilebilen hastalarda adjuvan tedaviye sensitivitelerinin artması sonucu daha iyi bir sağkalım olduğunu göstermiştir (46). p16INK4a delesyonunun GBM de bulunduğu ve yaşlı hastalarda sağkalım süresininin azlığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (41).

10. kromozomda LOH GBM de % 60-80 bulunur. LOH 10p primer GBM de daha sıktır ve LOH 10q her iki formda aynı oranda bulunur (36) ve kısa sağkalım ile ilişkilidir. PTEN mutasyonlarının da %15-40 GBM de bulunduğu ve primerde daha fazla olmak üzere sekonder GBM de de saptandığı bildirilmiştir (41,45).

Apoptotik indeksin (AI) düşük evreli astrositom ve anaplastik astrositoma kıyasla glioblastomada arttığı ve tüm gliomlarda proliferatif aktiviteyle korele olduğu ancak prognozla ilişkisinin henüz kesin olmadığı bildirilmiştir (47,48,49). AI; evre II oligodendrogliomlarda veya oligoastrositomalarda evre II astrositomlardan daha yüksek bulunmuş ancak oligodendrogliomlarda gidişat ile ilişkili bulunmamıştır (48). Apoptoz ve hücre ölümü/hücre sağ kalımı arasındaki oranın hasta sağkalımı ile ilişkili olduğu ve GBM hastalarının progresyonunda veya tedavi değerlendirmesinde klinik olarak yararlı olabileceği önerilmiştir (50).

Glioblastomada yüksek apoptoz indeksinin yüksek proliferatif aktiviteye ve daha belirgin tümör hipoksisine bağlı olabileceği ve malign gliomlarda apoptoz varlığının tümör hücrelerinin spontan veya radyoterapi ve kemoterapi ile indüklenen apoptoza direnç geliştirmesinin işareti olabileceği önerilmiştir (9). Astrositik tümörlerde prognoza etki eden tümör belirteci henüz tanımlanmamış, tümör evresi, hasta yaşı ve performans durumu klinikte kullanılmaktadır.

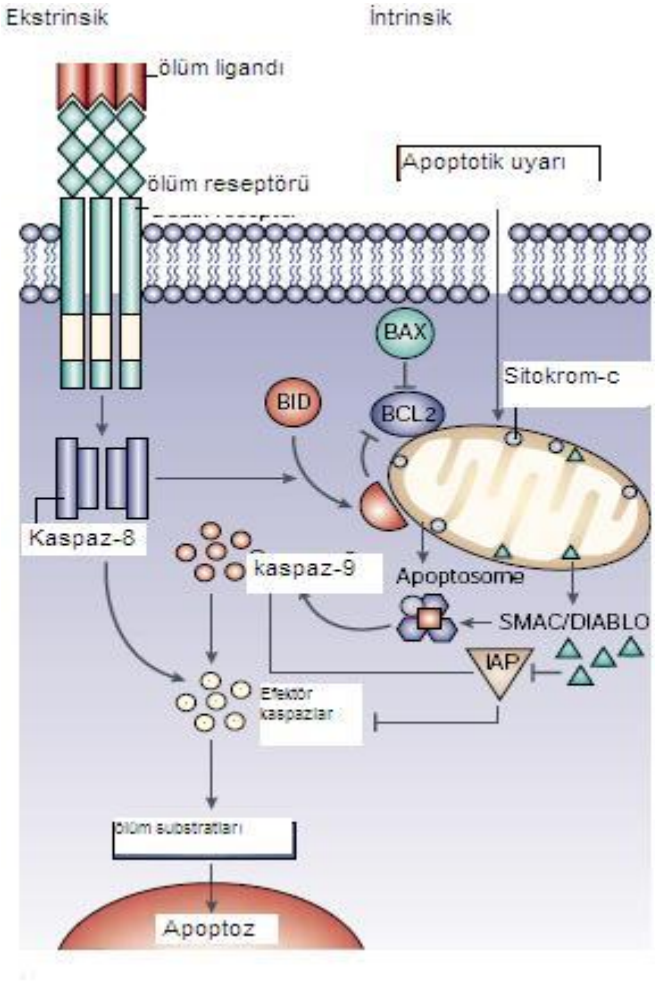
Beyin tümörlerinde onkogen fonksiyon kazanımı ve tümör süpresör gen kayıpları, apoptoz mekanizmasının bozulması başta olmak üzere çeşitli genetik ve epigenetik mekanizmalar rol oynar. PCR ile LOH, tek baz çifti mutasyonu, gen amplifikasyonu, hipermetilasyon gibi çeşitli anormallikler tesbit edilebilir.Dokuda PCR uygulamak için

minimum % 70-80 tümör saflığına gerek olduğu ve gliom gibi yüksek derecede infiltran tümörlerde bunu elde etmenin oldukça zor olduğu bildirilmiştir(38).

2.3.Apoptoz

Apoptozun sinyal yolaklarındaki defektler tümörigenezde rol oynarlar çünkü hasarlı DNAya sahip veya bozulmuş hücre siklüsü olan hücreler malignansi potansiyali artan hücreler olup apoptoz ile elimine olurlar. Bozulmuş apoptoz tümör progresyonunu arttırır ve metastaz oluşumunu da tümör hücrelerinin dolaşımı arttığı için kolaylaşır. Apoptoz eşiği yükselmesi kanser hücrelerinin terapiye rezistansını arttırır. Apoptozu inhibe ederek tümörigenezi organize eden proteinler ve özellikle apoptoza giden sinyal yolaklarında fonksiyon görenler Bcl-2 protein ailesinin antiapoptotik üyeleri, ısı şoku proteinleri Hsp70 ve Hsp27 ve survivin araştırılmıştır (51).

Apoptoz antikanser ajanlarla, radyasyonla, hücre yüzey ölüm reseptörleri aktivasyonu, büyüme faktörü eksikliğine bağlı olarak başlatılabilir (51,52). Sinyal kaskadları ortak bir apoptotik yolağa gider ve sistein proteaz ailesi olan kaspazlar aktive olur. Reseptör kompleksinde başlatıcı olan kaspaz-8 in ligand ile başlayan aktivasyonu ile tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörü ailesinin ölüm reseptörleri kaspaz kaskatlarını doğrudan aktive eder (53,54). Başka uyaranlarla kaspaz aktivasyonu ile mitokondriden sitokrom c sitozole salınır ve Apaf-1 ve prokaspaz-9 ile beraber sitozolik protein kompleksi oluşur (55,56). Bu kompleksin dATP ye bağımlı aktive olması kaspaz-9' un aktive olmasına yol açar ve kaspaz-3 ü de içeren efektör kaspazlar aktive olur. Aktive efektör kaspazlar hücresel proteinleri parçalar ve 'membran blebbing', nükleer kondesyon, hücre büzüşmesi ve hücre dağılması gibi apoptotik morfolojik değişiklikler oluşur(52). Şekil 2-1de apoptotik yolaklar ve düzenleyicileri görülmektedir.



Şekil 2-1: Apoptotik Yolaklar ve Düzenleyicileri (13)

Tümör hücreleri apoptoza rezistan kılacak proteinleri ekspres ederler. Kanserle ilişkili apoptoz sinyal yolağında fonksiyon gören Bcl-2 protein ailesinin üyeleri, IAP ,

ısı şoku proteinleri Hsp 70 ve Hsp 27 gibi koruyucu proteinlerin artmış aktivitesi ile terapiye dirençli agresif tümörler oluşabilir (51).

2.3.1.Malign Gliomlarda Anti-Apoptotik Mekanizmalar

Tüm insan hücrelerinde endojen apoptotik yolak bulunur. Embriyogenezde interdijital bölgelerdeki hücreler apoptoza giderek parmakların oluşmasını sağlarlar. Apoptoz viral olarak enfekte veya hasarlı hücrelerin elimine olması için immun sistem tarafından da başlatılır. Anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonu fizyolojik olarak hücresel yokolmayı önlemekte ancak gliomlar dahil birçok malignanside patolojik rol oynamaktadırlar. Apoptotik yolak aktivasyonu sitotoksik ilaçların ve radyasyonun tümör hücrelerini öldürmesinde anahtar mekanizmadır (57,58). Kanser hücrelerinde

antiapoptotik moleküllerin yüksek seviyeleri radyoterapi ve kemoterapi direncine sebep olur ve kanserin progresyonuna katkı sağlar (59). Apoptotik yolağı hedef alan ajanların birçok malignanside kansere karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Tedavi cevaplarını ve hastadaki sonuçlarını geliştirmek için gliomlardaki apoptotik yolağı hedefleyen tedavi stratejileri geliştirmeye odaklanılmıştır. Genelde hücreler apoptoza girmek üzere ektrinsik ve intrinsik yolaklarla uyarılır. Ektrinsik yolak immun sistemin sağlıksız hücreleri imha etmek için kullandığı yolaktır. Ekstrasellüler ligand ölüm reseptörleri (DR) olarak bilinen hücre yüzeyine bağlanınca tetiklenir (60). Bu süreçteki ligandlar arasında (TNF), Fas ve (TRAIL) vardır. Bu sinyali iletebilen CD95/Fas/Apo1, TNF reseptor 1 (TNFR1), TNF reseptor 2 (TNFR2) ve DR3-6 gibi birçok reseptör vardır (61). DR ne bağlanma gerçekleştiğinde ölüm başlatan sinyal kompleksinin (DISC) toplanmasıyla intrasellüler olarak sinyal iletilir. Ardından inisiyatör kaspaz 8 ve 10 un parçalanması efektör kaspaz 3 ve 7nin parçalanmasına sebep olur (62). Bu kaspazların tetiklenmesiyle irreversibl hücre ölümü gerçekleşir. İntrinsik yolak hücre hasarına sebep olan iyonize radyasyon, sitotoksik ajanlar, hipoksi, DNA hasarı ve büyüme faktörü çekilmesini de içeren birçok uyaranla tetiklenir. P53 hücre hasarını tanıyınca sinyali ileterek apoptozu tetikler. Apoptotik kaskaddaki en önemli adım mitokondrial dış membran permeabilitesinin artmasıdır (MOMP) (63).Dolayısıyla apoptoz Bcl-2 molekülü ile ilintili protein ailesi tarafından regüle edilir. Bu proteinler Bcl-2 homolog domenlerine sahip olup bu protein ailesinin üyeleri pro- veya anti-apoptotik fonksiyonlara sahiptirler. Aralarındaki dengeye göre MOMP oluşur (64).

MOMP ile mitokondriden sitoplazmaya apoptotik proteaz aktive edici faktör (APAF-1) ile bağlanan sitokrom c ve apoptozomu oluşturmak için kaspaz 9 gibi çok miktarda aktif substrat salınır (58). Apoptozom efektör kaspaz 3 ve 7 yi parçalar ve irreversibl hücre ölümüne sebep olur. IAP ler hücreyi apoptozdan koruyan son kapıdır ve kaspaz aktivitesini inhibe ederek intrinsik ve ekstrinsik yolakları bloke eder (61). Başlıca görevleri kaspazların aktivitesini engelllemek üzere kaspazları bağlamak olan IAP ailesinin 8 üyesi vardır. MOMP esnasında (mitokondriden derive kaspaz aktivatörü) SMAC / DIABLO (düşük pI ya sahip apoptoz bağlayıcı proteinin direk inhibitörü) mitokondriden salınarak IAP lerin kaspazlara bağlanmasını önleyerek kaskadın ilerlemesini sağlarlar.

İntrinsik ve ektrinsik yolaklardaki birçok basamak malign gliomlarda oldukça bozulmuştur. Bu yolakları hedef alan yeni tedavilerin, tedaviye yanıtı ve sonuçlarını geliştirmekte umut verici olduğu bildirilmiştir(57).

2.4.Apoptoz İnhibitörü Proteinler (IAP) Ailesi

Apoptoz benzersiz morfolojik özellikleri olan bir hücre ölümü fenotipidir.Yapılan çalışmalarda özelleşmiş mikromekanizmaların, sinyal yolaklarının, gen aileleri kaskadlarının içerildiği genetik bir program olduğu anlaşılmıştır. Embriyonik ve fetal büyüme sırasında gereksiz ve kullanımı olmayan bölümlerin ortadan kaldırılması ve özelleşmiş doku bölümlerinin plastisitesinin sağlanmasında rolü vardır. Merkezi sinir sistemi gibi gelişen organizmayı şekillendirmek için gereklidir. Erişkin organizmada hücre proliferasyonu ile hücre ölümü arasındaki dengeyi regüle ederek farklılaşmış dokulardaki homeostazı sağlar (13).Tümör gelişimi ve progresyonu hücre döngüsü regülasyonu ile ilişkilidir. Apoptoz sınırlı proteolizle aktive olan; DNA onarımı, hücre iskeleti organizasyonu, nükleer bütünlük ve hücrenin sağ kalmasında görevli hücresel substratları ayrıştıran intrasellüler sistein proteaz ailesi olan kaspazlarla düzenlenir (65).

Birçok malignite apoptoz sinyalinde defektlerle karakterizedir. Hücre ölümünü düzenleyen diğer bir aile de inhibitör apoptotik protein (IAP) ailesidir (66). IAP gen ailesinin üyeleri endojen kaspaz inhibitörleri olarak fonksiyon görürler. İnsanlarda IAP gen ailesinin 8 üyesi belirlenmiş olup, survivin bunlardan biridir.8 tane IAP üyesi tanımlanmıştır: c-IAP1, c-IAP2, XIAP, NAIP, survivin, apollon, MLIAP/livin, ve ILP-2 (13,57) IAP'ler 70 amino asidlik çinko parmak katlantılarının 1 ila 3 kopyasını içerir bu da bakulovirus IAP tekrarlarında vardır. Bir diğer yapısal özellik ise, kaspaz yeniden oluşum domeni (CARD) ve karboksi terminalli halka parmak içermesidir (66).

Apoptotik hücre ölümüne götüren yolaklar evolüsyon boyunca korunmuştur. Apoptozun regülatörleri Bcl-2 ailesi ve IAP ailesinin proteinlerindendir. İlk olarak baküloviral genler denen IAP'lerin ökaryotlarda birçok homoloğu bulunmuştur hepsinde 2 veya 3 BIR (baculovirus inhibitor-of-apoptoz repeat), bir COOH terminal halka parmak domen, ve bir kaspaz oluşturucu domen vardır (67). Memelilerdeki IAP ler apoptozu değişik yollarla baskılar. Kimisi intrasellüler sistein proteazlara (kaspaz) bağlanıp inhibe eder.

2.5.Survivinin Yapısı, Özellikleri, Önemi

2.5.1.Survivinin Yapısı

Survivin 142 amino asidden oluşan 16.5 kD olan bir proteindir. Memelilerdeki IAP ailesinin en küçük üyesidir, yapısında tek bir BIR, uzatılmış karboksi terminal alfa helikal sarmallaşmış sarmal yapıda olup, halka parmak veya başka tanınan bir domen taşımamaktadır (4). Güncel çalışmalar survivinin mitotik mekikte lokalize olduğunu ve apoptozdan hücreleri korumak üzere kaspaslara bağlanabildiğini ortaya çıkarmıştır (68,69). Survivin kinetokorlarda, hücre bölünmesi çizgisi hattında da bulunabilen kromozomal yolcu proteinlerdendir (70,71).

Survivin mitozda belirgin bir hücre siklüsü bağımlı ekspresyon gösterir. Bu transkripsiyonel düzeyde proksimal survivin promotorunda bulunan CDE/CHR kutuları tarafından kontrol edilmektedir (72,73).

Mitozda eksprese olan survivin ayrıca sentrozomlar,metafaz mikrotubulleri, anafaz mekiği ve mitotik apparatın kalıntıları gibi mitoz komponentlerinde de lokalizedir (68,70,74).

2.5.2. Survivinin Fonksiyonu

Kendine has özellikleri survivinin memelilerdeki diğer IAPler gibi, ya hücre korunmasında ya da mayadaki ve *C.Elegans'*taki BIR içeren IAP'ler gibi hücre bölünmesinin regülasyonunda fonksiyon gördüğü sorgulanmış, güncel olarak apoptozdaki rolüne kısmen açıklık getirilmiştir (13). Survivinin prokaspaz 3 ve prokaspaz 7'nin ilerlemesini inhibe edip her iki kaspaza in vitro bağlandığı gösterilmiştir (75). Kaspaz 3 apoptoz sinyalini başlatmada anahtar roldedir. Kaspaz 3 poly(ADPriboz)polimerazın, PAK2, lamin, gelsolin, ve fodrinin koparılmasından sorumlu olup DNA tamirinin inhibisyonuna, apoptotik cisimciklerin oluşumuna, nükleer membran yıkımına, sitoplazmik büzüşmeye sebep olmaktadır (76).

Mitozun başında survivinin, mikrotubül dinamiklerini regüle ettiği spesifik bir reaksiyonla mitoz mekiğinin mikrotubullerine katıldığı öne sürülmektedir. Survivin mikrotubul etkileşiminin bozulmasıyla survivinin antiapoptotik fonksiyonu kaybolur ve kaspaz 3 aktivitesi artar. Kaspaz 3, Fas-bağımlı hücre ölümünde çok önemli olup aktivasyonu p21 ile mitokondrideki etkileşimi sonucu başlamaktadır. Survivinin nukleusa translokasyonu da Fas stimülasyonu ve hücre proliferasyonu ile gerçekleşir. Survivinin

hücre döngüsü regülatörü CDK4 ile etkileşmesini takiben, CDK2/Siklin E aktivasyonu ve RB fosforilasyonu olur. Survivin ve CDK4 birleşince, p21 serbestleşir ve mitokondrial prokaspazla etkileşir. Kanserde survivinin aşırı ekspresyonu, apoptotik kontrol noktasını aşabilmekte ve böylelikle transforme olmuş hücrelerin progresyonu devam edebilmektedir (13,68).

Apoptozisin eksternal uyaranları CD95/fas reseptörlerinin ligasyonu ve kaspaz 8'in aktivasyonuyla etki ederken, intrinsik faktörler, DNA hasarı gibi intrasellüler uyarılar sonucu mitokondrial yolak aracılığıyla sitokrom-c ve SMAC/DIABLO salınması ve kaspaz 9 aktivasyonu ile etki etmektedir. Memeli IAP leri kaspaz 9 veya terminal efektör kaspazların inhibisyonuyla apoptozda yer alırlar. Survivinin mitokondriye yerleşmesi ve mitokondri sonrası olaylarla kaspaz 9 ve SMAC/DIABLO ile etkileşmesi, apoptozun intrinsik yolağını inhibe edebileceğini gösterir (75,77,78). Genom muhafızı p53 proteini ve hücre döngüsü regülatörü p21 proteini antikanser ilaçların yaptığı DNA hasarına karşı survivin ile birlikte çalışmaktadırlar. Survivinin, Fas/CD95, radyasyon, taxol ve staurosporin gibi kemoterapötik ilaçlar gibi uyaranlarla başlatılan apoptozu, kaspaz3 ve kaspaz7 ye bağlanarak onların aktivasyonlarını inhibe ettiği düşünülmektedir (78).

Survivinin ekspresyonu normal dokulardan ziyade tümör dokusunda eksprese edilmesi survivinin oldukça önemli bir özelliğidir. Hemen hemen tüm insan kanserlerinde eksprese olduğu bilinir**.**

2.6 .Sürvivin Ve Diğer Anti-Apoptotik Moleküller

2.6.1.Tümörlerde Survivin ile İlgili Yapılan Çalışmalar

2.6.1.1.Survivin Regülasyonu

Survivinin kanserdeki aşırı ekspresyonunun mekanizması kısmen anlaşılmıştır, ama kanserde yaygın ekspresyonu çoklu yolakların işe karıştığı ipucunu verir. Normal overlerde survivin exon 1 metilasyonuyla baskılanmış, ama over kanserinde demetile olmuş ve transkripsiyonel olarak aktiftir (79). P53 proteininin, apoptotik genleri regüle ederek apoptozu indükleyen transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir. P53ün down regülasyonu için survivin bir hedeftir. P53, survivinin antiapoptotik aktivitesini antagonize ederek apoptozu başlatabilir. Ancak survivinin, p53 aktivitesini MDM2 ve proteozom regülasyonunu etkileyerek gerçekleştirdiği bilinmektedir (80).Son zamanlarda, bazı kanser hücre dizilerinde p53 gibi transkripsiyonel faktörlerin survivin

ekspresyonu regülasyonları araştırılmıştır (81). Gastrik, pankreatik, prostat, akciğer, epidermoid karsinom gibi birçok kanserde p53 birikimi ile survivin ekspresyonu arasında korelasyon gösterilmiştir (82,83).

2.7.Survivinin Prognostik Ve Diagnostik Önemi

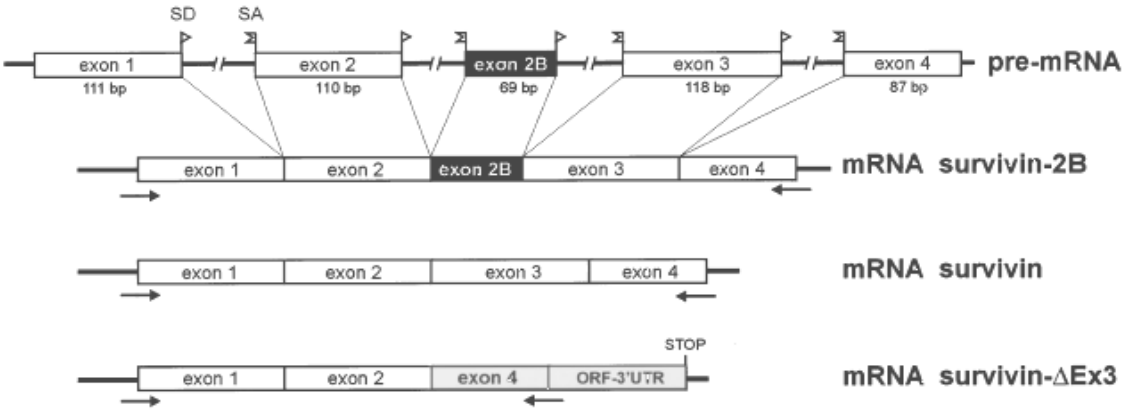
Survivinin antiapoptotik özelliğiyle hücre proliferasyonunu fetal gelişim esnasında teşvik ettiği düşünülmüştür. Fetal gelişim sonrası survivin transkripsiyonu durur ve erişkinlerdeki dokularda tesbit edilemez kadar azalır (4,14). Tümör hücrelerinin de survivinin bu antiapoptotik özelliğinden faydalanıyor olabileceği düşünülür. Kanserde survivinin aşırı ekspresyonu, mitozla transforme olmuş hücrelerin anormal progresyonunu kolaylaştırmak için hücre siklüsü kontrol noktalarını aşabilir. Apoptoz çalışmaları kanseri tedavi etmek için yeni ilaçlar geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Birçok ilaç apoptozu uyararak tümör hücrelerini öldürürken bazı tümörler bu ilaçlara karşı rezistans gösterebilmektedir. Birçok çalışmada survivin eksprese eden tümörlerin apoptozu uyaran kanser ilaçlarına karşı rezistansı gösterilmiştir (84). Survivin sinyal yolağının kullanılabilmesi kanser tanı ve tedavisi için ipuçları verecektir (79,85).

Survivinin insanlarda akciğer, mide, kolon, meme, prostat, Hodgkin lenfoma gibi sık görülen kanserlerde eksprese edildiği bildirilmiştir (4). Survivinin tümör hücrelerinde normal dokuya nazaran farklı ekspresyonu olan birkaç proteinden biridir. Survivinin tümörlerde aşırı ekspresyonu kısalmış sağkalım, kemoterapi ve radyoterapiye rezistan tümör rekürransları ile ilgilidir (86). Survivinin mitoz ve apoptozdaki çifte fonksiyonu tümörün büyüme ile ilgili hücrelerinde ekspres edildiğini ve tümör oluşması ile büyümesinde tümör hücrelerine avantaj sağladığını gösterir. Bu bulgular kanser hücrelerinin hücrenin canlılığını arttırmak ve kemoterapötik ilaçların sitotoksik etkilerini aşmak için fetal survivin ekspresyon paternine döndüklerini göstermektedir. Potansiyel bir kanser marker olan survivin biyolojik sıvılarda tesbit edilebilir. Örneğin, mesane kanserinde hastaların idrarında tesbit edilmiş ve bunun spesifik ve sensitif bir diagnostik gösterge olduğu saptanmıştır (79). Nöroblastomalarda ve kolorektal karsinomalardaki immunohistokimyasal çalışmalar survivin ekspresyonu ve hastalığın kötü klinik gidişatı arasında korelasyon olduğunu dolayısıyla survivinin potensiyel bir prognostik faktör olduğu düşündürür(5,87). Survivinin artması tümörlü hastalar için negatif bir prognostik faktördür.

2.8.Survivin Gen Yapısı Ve Promotor Bölge Polimorfizmi

Survivini kodlayan gen kromozom 17q25 de lokalizedir. Varyantları survivin 2B ve survivin Ex3 de aynı lokusta tanımlanmıştır. Survivin 2B'nin 2. ve 3.exonu arasında 2. intronun 69 baz çifti bulunur (exon2B). Survivin Ex3 ün 3. exonunun 118 baz çifti eksiktir (Şekil 2-2). Her iki dizi değişimi ile ilgili proteinlerin yapısında (örneğin BİR domeninde) değişikliklere sebep olur. Survivinin izoformları arasında regülatuar bir denge vardır ve bu, dokularda ve kanserlerde proapoptotik uyarıya cevabı kararlaştırabilir (88).

Malign beyin tümörlerinde ve gliomlarda Survivin-ΔEx3 mRNA ekspresyonu benign tümörlere nazaran anlamlı olarak artarken survivin-2B mRNA ekspresyonu malign ve benign tümörler ile gliom ve gliom dışı tümörler arasında anlamlı bir istatistiki farklılık göstermemiştir. Ancak survivin-2B survivin oranı benign tümörlerde ve gliom dışı tümörlerde nispeten yüksek bulunmuştur (89).



Şekil 2.2.Survivin geni ve çeşitli izoformlarının şematik gösterimi (88)

Survivin-2B ve survivin oranının renal hücreli karsinomun ileri evrelerinde anlamlı olarak azaldığı bildirilmiş ancak Survivin-ΔEx3 ve survivin arası oranda ise tümör evrelerine göre değişim olmadığı gözlenmiştir (90). Malign tümörlerde Survivin-ΔEx3 için ekspresyon paterninin dominan olduğu ve benign tümörlerde ise Survivin-2B'nin dominan olduğu bildirilmiştir (89). Gliomlar ve gliom dışı tümörler için yapılan çalışmalarda Survivin-ΔEx3 ün antiapoptotik özelliklerin korunması ve Survivin-2B nin de antiapoptotik potansiyelin azalmasında rolü olabileceği belirtilmiştir (88).

Survivin genindeki, tek nükleotid polimorfizmlerinden biri CDE/CHR represör bağlama bölgesinde (ATG) başlangıç kodonunun ilk nükleotide -31 uzaklıkta) lokalize, genin promotor bölgesi içinde yer almaktadır. Bu polimorfizmin (G/C) survivinin hem mRNA hem de protein seviyesinin aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu polimorfizmin ayrıca bir kısım kanser hücre soyunda CDE/CHR represör motiflerinde bağlanmanın fonksiyonel olarak bozulması ile hücre döngü bağımlı transkripsiyonu değiştirmekte olduğu da gösterilmiştir. Survivin promoter -31 C>G gen polimorfizmi ile literatürde çeşitli kanser tiplerinde yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (15) .

2.9. Survivin Gen Ekspresyonunun Regülasyonu

Survivin mitozda hücre siklüsüne bağlı olarak eksprese edilir. Survivin geninin promotoru bir hücre döngü bağımlı element (CDE) ve hücre döngü protein homolog bölgelere (CHR) sahiptir. Bu bölgeler tipik olarak siklin A ve siklin B gibi hücre döngüsünün G2/M fazında eksprese olan genlerde mevcuttur. Survivin ekspresyonu G2/M fazında G2 veya S fazındakinden 10 kat daha yüksektir (14). Birçok normal diferansiye olmuş hücrelerde ekpresyonu tesbit edilemezken, CD34C kemik iliğinden derive kök hücreler, bazal epitelyal hücreler, timositler, normal uterin serviksinin epitelyal hücreleri gibi hızlı bölünen normal hücrelerde yavaş ekspres olduğu bildirilmiştir(13,91,92).

Survivin ekspresyonunun kolon, akciğer, meme, beyin ve melanoma gibi birçok kanserde çok yüksek olduğu bilinmektedir.Glioblastomanın da dahil olduğu çeşitli hücre dizilerinde yapılan bir çalışmada, beyin tümör örneklerinde ve normal kalıplardan kantitatif RT-PCR ile survivin mRNA ve ilk defa survivin varyantlarının mRNA ekspresyon seviyesini her iki varyant için spesifik primer çiftleri kullanarak ölçmüşlerdir. Survivin ekspresyonu ve beyin tümörlerinin histolojik malignitesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Böylece, malign beyin tümörlerinin survivin mRNA yı

benignlerden anlamlı olarak fazla ekspres ettiği ve gliomların özellikle glioblastoma örneklerinin survivin mRNAyı gliom olmayanlardan daha çok ekspres ettiği rapor edilmiştir.(10,88)

2.9.1. İnsan Malignitelerinde Survivin

Erişkin hücrelerde saptanamayan survivin, embriyonik ve fetal dokularda ekspres olur (4,13). Ancak hemen hemen bütün kanserlerde akciğer, meme,mide, özofagus, karaciğer, over, beyin kanserleri ve hematolojik maligniteler survivinin fazla ekspresyonu bildirilmiştir (4,93). Kanser hücreleri survivinin sitoprotektif özelliğini sürekli proliferasyon amacıyla kullanırlar. Kolorektal karsinogenezde survivin ekspresyonu sırasıyla adenom,düşük dereceli displazi (%2.3), yüksek dereceli displazi (%52.4) ve karsinoma (%63.3) olarak arttığı bildirlmiştir (87). Over kanserlerinde, pankreatik duktal adenokarsinomada da benzer sonuçlar bulunmuştur. Normal pankreatik kanallarda hiç ekspresyon bulunmazken, survivin ekspresyonu düşük dereceli pankreatik intraepitelyal neoplaziden yüksek dereceli lezyonlara doğru artar ve pankreatik duktal adenokarsinomada en yüksek seviyededir (94). Over kanserlerinde de benign tümörlerden (%21.2) borderline tümörlere (%47.8) ve over karsinomalara (%51.2) doğru survivin ekspresyonu artmış bulunmuştur (95). Birçok raporda azalmış apoptotik indeksin (10) bu tümör hücrelerinde survivin lehine olduğu düşünülmüştür.

Kanserlerde survivin ekspresyonu, hasta survisi ya da hastalık rekürrensi ve kemoterapi veya radyoterapiye rezistansı ile ilişkilidir. Yüksek survivin ekspresyonu kolorektal kanserde II.evrede (96), özofagus kanserinde (97), hepatosellüler karsinomada (98), akciğer kanserinde (99), gliomda (10), lösemide (100) ve diğer kanser tiplerinde hastalık rekürrensi veya istenmeyen bir survi ile korele bulunmuştur. Bulgular; tümör hücrelerinde bazal survivin ekspresyonunun azalmasının kanser terapilerine sensitiviteyi arttırabileceği yönündedir. (101-103).

2.9.2.Antikanser İlaçlar Tarafından Survivinin Modulasyonu

Klinik çalışmalara göre survivinin kanserde overekspresyonu tümör hücrelerinin sağ kalımını uzatır ve survivin eksikliği ve survivin fonksiyonunun bozulması ile hücre ölümü oluşur. Büyümede hücre sağ kalımı için gerekli bir protein olan survivin, erişkin dokularda down-regüledir ve kanserlerdeki up-regülasyonu sebebiyle spesifik bir hedef olabilir. Antikanser ilaçların çoğu farklı kanserlerde farklı regülatuar yolaklarla düzenlenmelerine rağmen survivin down regülasyonuna yol açarak apoptozis veya

mitotik katastrof oluştururlar.Bazı antikanser ilaçların yol açtığı up-regülasyon ise bazı hücrelerde hücre sağkalımını garantilemek için kompansasyon mekanizmaları olduğunu düşündürür. Yeni moleküler genetik yaklaşımlar ve kemoterapötik ilaçlar veya radyoterapi ile potansiyel bir hedef olan survivinin inhibisyonu yoluyla mevcut tedavi geliştirilebilir ancak tedavide survivin hedeflenirken hematopoetik hücreler gibi bazı yetişkin hücrelerindeki fonksiyonları da korunabilmelidir. Survivinin kanserde ve fizyolojik şartlarda kompleks hücresel dolaşımını anlamak için ileri araştırmalara gerek vardır (13,78).Survivin regülasyonunun farklı mekanizmaları araştırıldıkça kanserdeki gibi uygun olmayan apoptozun bulunduğu hastalıklara karşı uygun tedaviler geliştirilebilecektir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada iki grup kullanılmıştır. Birinci grupta 65 kişiden oluşan herhangi bir patolojik bulgusu, benign ya da selim tümörü, tercihen ailede tümör hikayesi olmayan sağlıklı bireyler kontrol grubuna alınmıştır.

İkinci grupta ise İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroşirurji AD Kliniği tarafından takip edilen radyolojik ve histopatalojik tanı ile tümör varlığı ortaya konmuş olan beyin tümörlü 82 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Projemize dahil edilmiş beyin tümörlü hastaların klinik değerlendirmeleri ve örnek alımları ilgili klinikler tarafından gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı ve beyin tümörlü bireylerden polimorfizm çalışması için EDTA'lı tüpe alınan 10 ml venöz kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış olup, düz kan örneklerinden de serum ayrılmıştır. Ayrılan serumlar analiz gününe kadar -20ºC 'de saklanmıştır. Gerekse sağlıklı gerekse de beyin tümörlü hastalarda elde edilen DNA örneklerinde survivin geni promotor polimorfizm analizleri, serum örneklerinden de ELISA ile survivin düzeyleri ölçülmüştür.

Beyin tümörlü ve normal bireylerden sağlanan kan örneklerinden DNA, amonyum asetat çöktürmesiyle elde edilmiştir.

3.2.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agaroz(Promega MBG), Amonyum asetat(Sigma A-8920), Amonyum klorür(Sigma A-5666), Amonyum sülfat, Asetik asit(MECK K-04134156), Borik asit(Sigma B-6768), Bromfenol blue(Sigma B-6896), DNA marker(Fermentas), EDTA(Merck K-90602121), Etanol(%99 Tekel), Etidyum Bromid(Sigma E-8751), Hidroklorik asit(% 37 Merck K-13190114), İzopropanol, Potasyum bikarbonat(Merck K-126223552), Potasyum hidroksit(Sigma P 1767) Primerler (Fermentas, Lithuania), Proteinaz K(Stratagene 300-141) Sodyum dodesil (lauryl) sülfat(Sigma L-5750), Sodyum hidroksit(Merck C754962), Sodyum klorür(Carlo Erba 368257), Trizma baz(Sigma T-1503), Taqpolimeraz(Promega), Xylene blue(Fermentas), EcoO109I (Fermentas, Lithuania), Survivin EIA kiti (human Total Survivin TiterZyme® EIA kit, Assay designs Catalog No. 25-0497).

3.3. Kullanılan Gereçler

Elektroforez için güç kaynağı (Titan plus Helena Laboratories), Elektroforez sistemi(LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis),Hassas terazi (Mettler) , Isıtıcılı manyetik karıştırıcı(Elektromag) , Mikrodalga fırın (Philco), Mikrosantrifüj (TDX), PCR cihazı (Bio-Er) , pHmetre (Hanna), otomatik pipet takımı (Brand), Santrifüj(Hereaus), Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag) , UV transilluminator (Stratagene UV/White light Transilluminator),Vorteks karıştırıcı (Nuve mix), ELISA mikroplate okuyucu ve yıkayıcı, Multikanallı pipet sistemi (Eppendorf).

3.4. Çözeltiler

3.4.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

3.4.1.1. Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)

8.74 gram Amonyum klorür, 1 gram Potasyum bikarbonat, 200 µl 0.5 M Etilen diaminetetraasetat (EDTA)'ın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 mililitre distile su eklendi ve çözeltinin pH'sı 1N NaOH ile 7.4'e ayarlandı. Daha sonra balon joje içine alınarak 1 litreye tamamlandı. Çözelti ısıya dayanıklı cam şişelere aktarılarak 120ºC'de 15 dakika otoklavlandı ve +4ºC'de saklandı.

3.4.1.2. 0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8.0)

186.1 gram Etilendiamintetraasetat (EDTA) tartılarak beher içine alındı ve 800 ml distile su eklendi.Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü ve pH'sı NaOH çözeltisi ile 8.0'e ayarlanarak distile su ile 1 litreye tamamlandı. 120ºC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.3. 4 M Sodyum Klorür (NaCl)

233.6 gram NaCl tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 mililitre distile su ilave edildi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120ºC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.4. Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)

25 mililitre 4 M NaCl ve 50 mililitre 0.5 M Etilendiaminasetat (EDTA) balon jojeye konularak 1 litreye tamamlandı. 120ºC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

3.4.1.5. 1 M Tris Tamponu (Stok)

121.1 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı. Üzerine 42 µl hidroklorik asit (HCl) ile yaklaşık 800 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü. Daha sonra balon jojeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. 120ºC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3.4.1.6. 9.5 M Amonyum Asetat

73.22 gram amonyum asetat tartılarak beher içine alındı. Üzerine 80 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Balon jojeye aktarıldı ve distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4ºC'de saklandı.

3.4.1.7. %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

10 gram Sodyum dodesil sülfat tartıldı. Beher içine alınarak üzerine 80 mililitre distile su eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımı ile çözündürüldü ve pH'sı 7.2'ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

3.4.1.8. Proteinaz K (20 mg/ml)

20 miligram Proteinaz K tartılarak steril bir tüp içinde steril distile su ile 1 mililitreye tamamlandı. -20 ºC'de saklandı.

3.4.2. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltiler

3.4.2.1. Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X)

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 M ,etilendiamintetraasetat, 1 mililitre 1M Tris (pH 8.0), 200 miligram Bromfenol blue, 200 miligram xylene cyanol tartılarak steril distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

3.4.2.2. Etidyum Bromür (10 mg/ml)

1 gram Etidyum bromür tartılarak steril distile su ile 10 mililitreye tamamlandı.

3.4.2.3. 5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE)

54 gram Tris baz ve 27,5 gram borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. Üzerine 20 mililitre 0.5 M EDTA (pH 8.0) ve 800 ml. distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü.Çözelti balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı ve 120ºC'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

3.5. Kullanılan Yöntemler

3.5.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

10 ml periferik kan örneği steril EDTA'lı tüplere alındıktan sonra çalışma için falkon tüpüne aktarıldı. Üzerine 1:3 oranında (30 ml) eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve +4ºC'de 15 dakika bekletildi. +4ºC'den çıkarılan örneklerin 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları atıldı ve pelletleri tamamen süspanse edilerek üzerlerine tekrar 15-20 ml. eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4ºC'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süparnatantları atılarak süspanse edildi. Süspanse olan pellet üzerine 500 µl %10'luk SDS, 75 µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9.4 ml lökosit parçalama çözeltisi (WBL) eklenerek 56 ºC su banyosunda 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her 1 ml. örnek başına 0.37 ml. olacak şekilde 9.5 M Amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü (104).

3.5.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

Elde edilen DNA örneklerinde konsantrasyon ve miktar tayini yapmadan önce her örnekten 20µl alınarak üzeri 380µl 0,5X TE tamponu ile tamamlandı ve bu şekilde 1/20 dilüsyonu sağlandı. Bu dilüsyon örneklerinin daha sonra spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında OD ölçümleri yapıldı.

Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. 50µg/ml çift iplikçikli DNA içeriğinin 260 nm dalga boyunda 1 optik densite (OD) verdiği kabul edilmektedir.260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu: OD_{260} X 50µg/ml X Sulandırma oranı

DNA örneklerinin saflığı OD_{260}/ OD_{280} oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD_{260}/ OD_{280} değeri yaklaşık 1.8'dir. Ortamda fenol veya protein mevcutsa bu oran 1.8'den küçük olacaktır. OD_{260}/ OD_{280} değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir.

3.5.2. Survivin Promotor Gen Polimorfizminin Tesbit Edilmesi

3.5.2.1.Survivin Promotor Gen Polimorfizminin Tesbitinde Kullanılan Primer Dizileri

Survivin Promotor gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi Tablo 3-1 de verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir (105).

Tablo 3-1 : PCR için uygun Survivin geni primerleri

İleri primer: 5' – GTT CTT TGA AAG CAG TCG AG - 3'
Geri primer: 5'- GCC AGT TCT TGA ATG TAG AG -3'

3.5.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction-PCR)' da Kullanılan Kimyasal Maddeler ve PCR'ın Hazırlanışı

DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (Fermentas EPO402)

PCR reaksiyonundaki son konsantrasyonu 1 unite olacak şekilde 25 µl lik PCR reaksiyonuna eklendi.

dNTP'ler (100 µmol/ml) (Fermentas R0171)

100 mM' lık dNTP' lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 10' ar µl alınıp (toplam 40 µl) 1 µl' lik tüpe kondu ve üzerine 960 µl distile su eklenerek (d_2H_2O) 1000 µl 1mM 'lık

dNTP karışımı hazırlandı ve -20 ºC derin dondurucuda saklandı. PCR reaksiyonuna bu stoktan alınan dNTP karışımı kullanıldı.

3.5.2.3 PCR Karışımının Hazırlanışı

Toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde, Tablo 3-2'deki bileşenler sırası ile 0,5 ml'lik steril tüpe konuldu. 10 örnek çalışılacak ise pozitif ve negatif kontrol için birer tane ve pipetleme hataları için de bir tane olmak üzere toplam 13 üzerinden reaksiyon karışımı hazırlandı.PCR karışımının hazırlanma işlemlerinin hepsi buz üzerinde soğukta ve steril kabin içerisinde yapıldı.

Tablo 3-2 : PCR karışımının hazırlanması

Malzemeler	**İlk konsantrasyon**	**Son konsantrasyon**	**Kullanılan hacim**	**10 + 3' lük reaksiyon**
PCR Tamponu	10 X	1X	3 µl	39µl
dNTP	1mM	200 µM	3 µl	39µl
İleri primer	100pmol/µl	20 pmol/µl	1.2µl	15.6 µl
Geri primer	100pmol/µl	20 pmol/µl	1.2 µl	15.6 µl
$MgCl_2$	25 mM	-	1,2 µl	15.6µl
Taq polimeraz	5U/ µl	1 U	0,5 µl	6.5 µl
Distile su	-	-	12.9Sµl	167.7µl
DNA	-	150-200 ng.	2 µl	-

Taq polimeraz eklendikten sonra hiç vakit kaybetmeden tüp içine konan bileşenlerin iyice karışması için pipetleme işlemi yapıldı. Örnek sayısı kadar 0,2 ml'lik tüplere 23 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı. Daha sonra her tüpe 2 µl DNA eklenerek yeniden pipetleme yapıldı ve daha önceden 95 ºC sıcaklığa çıkarılmış PCR cihazına (Bio-Er Mini Termal Cycler)örnekler yerleştirildi ve PCR işlemi başlatıldı.

3.5.2.4. PCR Koşulları

PCR koşulları Tablo 3-3 te verilmiştir.Survivin geni promotor polimorfizmini tespit etmek için kullanılan ileri ve geri primerler için annealing derecesi optimize edilerek 57.0 ºC sıcaklık kullanıldı.

Tablo 3-3 : Survivin promotor gen polimorfizmi PCR koşulları

95 ºC	**5 dakika**
95 ºC **57ºC** **72ºC**	**30 saniye** **90 saniye** **90 saniye** **35 döngü**
72ºC	**7 dakika**

3.5.2.5. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanilan Kimyasal Maddeler Ve Gereçler

5X TBE (Tris Buffer EDTA) Stok Tampon Hazırlanışı :

54gr Tris base (Sigma, T-8524) ve 27,5 gr. Borik asit (Sigma, B-6768) tartılarak 800 ml distile suda çözüldü.Üzerine 20 ml 0,5 M EDTA (pH :8,0) ilave edildikten sonra 1000 ml'ye tamamlandı.Elektoforezde stok 5X TBE tamponundan hazırlanan 1 X TBE kullanıldı.

Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X)

Yükleme tamponu (loading buffer) olarak %40 sükroz + %0,25 bromfenol mavisi karışımı kullanıldı.

%2'lik Agaroz Jel Hazırlanması:

- 4 gr. agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml. olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözündürüldü.
- Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55ºC) çözünmüş agaroz jel içine 4,5 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi.
- Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yükleme kuycuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı.
- Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

PCR Ürünlerinin %2'lik Jel'e Yüklenmesi:

- %2'lik jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygun şekilde konuldu.
- Agaroz jelin üzerini 2-3 ml gececek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendi.
- 7 µl PCR ürününe, 3 µl yükleme tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 10 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi.
- Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 250 miliamper 120 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi.

3.5.2.6. PCR Ürünlerinin Kontrolü

Survivin promotor gen bölgesi ile ilgili PCR ürünlerinin oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacıyla PCR tüplerinden alınan 7 µl örnek 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak yukarıda tanımlanan elektroforez sisteminde yürütüldü.Yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında (304 nm dalga boyunda) PCR ürünleri incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi.

3.5.2.7. Survivin Geni Promotor Polimorfizmi Enzim Kesimi

3.5.2.7.1. Survivin Geni Promotor Polimorfizmi Tesbitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

Amplifiye olan PCR ürünleri EcoO109I enzimi 37°C'de 16 saat kesilmiştir. Tablo 3-4 te görüldüğü gibi kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 9 ul distile su, 1µl 10x buffer kullanılmıştır.

Tablo 3-4 : Survivin Geni Promotor Polimorfizminin Tesbitinde Kullanılan Enzim ve Kimyasal Maddeler

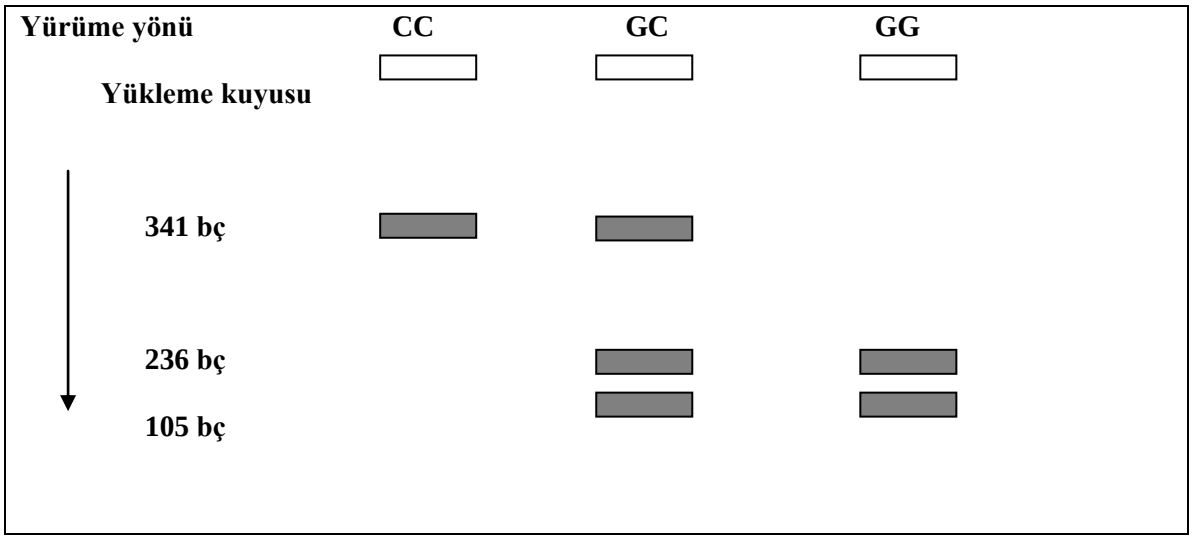
Malzemeler	**İlk konsantrasyon**	**Son konsantrasyon**	**Eklenen hacim**
PCR ürünü			10 µl
Distile su			9µl
10X Buffer R Tamponu	10 X	0,8 X	1µl
EcoO109I enzimi	10 U/µl	5 U/µl	0,5 µl

Toplam :20,5 µl

3.5.2.8. Survivin Gen Promotor Polimorfizminin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

- %2 lik agaroz jel hazırlandı.
- İlgili kesim enzimleri ile kesilen PCR ürünlerinden 8 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırılıp %2'lik agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı.
- Kesim ürünleri (Fermentas PUC 19, 50 bç marker veya 100 bç marker) DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü.
- Yürütme sonrsı jel üzerindeki bantlar, UV ışık (304 nm) altında incelendi.

Uygun koşullar altında EcoO109I enzimi ile kesilen PCR ürünlerinden survivin promotor bölgesinin CDE/CHR represör elementi içinde yer alan G/C değişimini içermeyenler (C alleli) 341 bç büyüklüğünde tek bant verirken, Homozigot CC genotipi içeren PCR ürünleri, enzim kesimi sonrası kesilmeden kalan 341 bç lik tek band, homozigot GG genotipi 236 bç ve 105 bç olmak üzere iki bant vermektedir. Heterozigot GC genotipi taşıma durumunda ise PCR ürünleri 341, 236 ve 105 bç olmak üzere her üç bandı da içermektedir(Şekil 3-1).



Şekil 3-1 : Survivin Gen Promotor Polimorfizminin Şematik Jel Görüntüsü

3.5.3.Serum Sürvivininin EIA Yöntemi İle Tayini

Çalışmada ‘’Assay Designs’’ firması tarafından geliştirilen EIA test kiti kullanılmıştır. 100ul standart, kontrol ve örnek serumları survivine karşı spesifik antikor kaplanmış kuyucuklara konulduktan sonra plate kaplanıp oda sıcaklığında çalkalamalı su banyosunda 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 400ul yıkama tamponu eklenerek 4-5 kez iyice yıkandı. İyice yıkandığından emin olunan kuyucuklara daha sonra blank hariç, 100’er ul survivine karşı tavşan poliklonal antikoru eklendi. Daha sonra, çalkalamalı su banyosunda oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon ve sonrasındaki yıkama aşamaları tekrarlandı. Kuyucuklara bunda sonra yine blank dışında 100 ul konjugat (Horseradish peroxidase konjuge anti-tavşan IgG ‘si eklendi. Oda sıcaklığında çalkalamalı su banyosunda yarım saat inkübasyon ve plate yıkama aşamaları gerçekleştirildi. Sonrasında her kuyucuğa 100 ul TMB (3,3',5,5' tetramethylbenzidine) ve hidrojen peroksid içeren substrat eklendi.30 dakika çalkalamalı su banyosunda gerçekleşen inkübasyon sonrası her kuyucuğa durdurma solusyonu (1N HCl) eklenip, derhal bekletilmeden ELISA cihazında okutuldu. Sonuçlar ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okunduktan sonra pg/ml olarak hesaplanmıştır. Kitin survivin ölçüm hassasiyeti 3.6 pg/ml olarak belirtilmiştir.

3.6.Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler

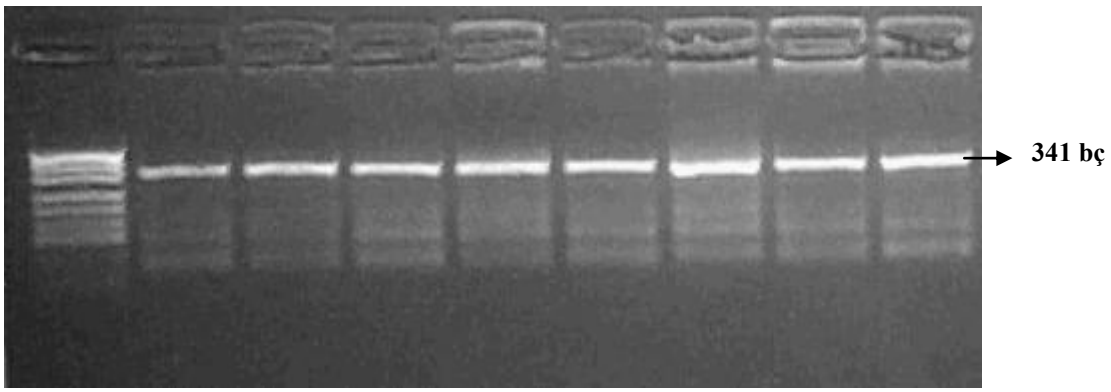
İstatistiksel analizler SSPS 7.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak alınmıştır. Survivin serum düzeylerinin gruplar arası farklılıklarınn allel frekanslarına göre incelenmeleri için Mann-Whitney U ve student-t testi, allel frekans ve genotipleme için Ki kare (χ^2) testi kullanılmıştır.

4.BULGULAR

4.1. PCR Ürünlerinin Kontrolüne Ait Bulgular

4.1.1. Survivin Geni Promotor Bölge PCR Ürünlerine Ait Bulgular

Survivin geni promotor bölgesinin polimorfizmine ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde promotor polimorfizminin tespiti için 341 bç'lik özgül PCR ürününe ait bantlar elde edildiği gözlendi (Şekil 4-1).

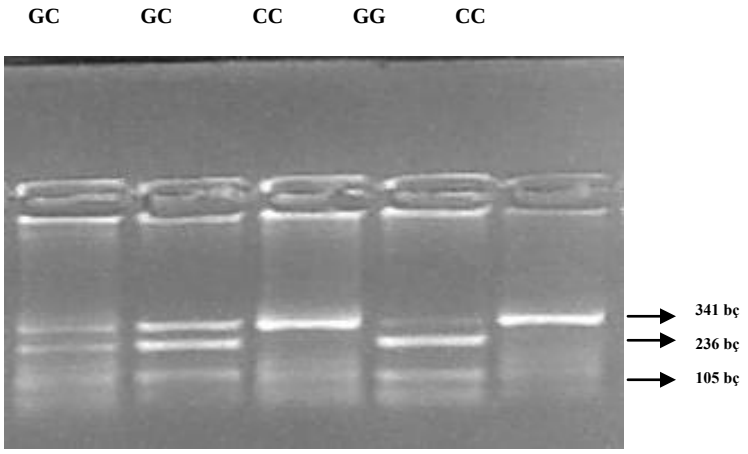


Şekil 4-1: Survivin promotor bölge PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.

4.2. Kesim Ürünlerinin Kontrolüne Ait Bulgular

4.2.1 Survivin Geni Promotor Bölge Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

Survivin Geni Promotor Bölge PCR ürünleri %2'lik agaroz jele yüklenip kontrol edildikten sonra, 341 bç'lik ürünün EcoO109I enzimi ile kesimi gerçekleştirildi Kesim sonrası elde edilen ürünler %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle yürütüldü. Survivin geni promotor bölge G/C polimorfizminde EcoO109I enzimi ile kesilmeden kalan 341bç'lik tek banda sahip örnekler (CC) homozigot olarak, EcoO109I enzim kesimi olan ve agaroz jel elektroforezde 236 bç ve 105 bç'lik iki bant veren örneklerde homozigot GG genotipi şeklinde değerlendirilirken, 341 bç, 236 bç ve 105 bç olmak üzere üç bant veren örnekler ise heterozigot GC genotipi olarak değerlendirildi (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: EcoO109I enzim kesimi sonucunda ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. (1 ve 2. kuyu: 341 bç,236 bç, 105 bç, GC-heterozigot; 3. kuyu: 341 bç, CC homozigot ;4. kuyu: 236 bç, 105 bç, GG-homozigot; 5.kuyu: 341 bç, CC homozigot).

4.3. İstatistiksel Analiz Sonrasında Elde Edilen Bulgular

Çalışmamıza dahil edilen beyin tümörlü hasta ve kontrol grubuna ait özellikler Tablo 4-1'de verilmiştir.Metastatik tümörler çalışmaya alınmamış,primer olarak intrakranyal oluşan tümörler çalışmaya dahil edilmiştir. Beyin tümörlü hastalar ile kontrol grubu arasında yaş ve cins parametreleri açısından istatistiksel anlamlılık mevcut değildi (p=0.809;0.890). Çalışmada yer alan beyin tümörlü hastaların %57.3'ü glial, % 42.7'si glial kaynaklı değildi. Ayrıca hastaların %63.2'sı malign, %36.8'i benign tümörlere sahipti. Çalışmamıza dahil edilen beyin tümörlü hastalar sigara kullanımı açısından değerlendirildiğinde hastaların %29.3'ünün sigara kullandığı belirlendi.

Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait bilgiler

	Kontrol n=65	**Beyin Tümörlü Hastalar n=82**	**P**
Cins/			
Kadın	%45.5	%44.4	0.890
Erkek	%54.5	%55.6	
Yaş Ortalamaları (yıl)	45.22±13.8	45.92±14.67	0.809
≤ 60 yaş	%90.6	%80	0.164
≥ 60 yaş	%9.4	%20	
Sigara kullanımı			
Var	%0	%29.3	0.001*
Yok	%100	%70.7	

Tablodaki değerler X±SD olarak verilmiştir. Gruplararası analiz student t testi ve Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir. * $p<0.05$

Beyin tümörlü hastaların %44.3'ü 45 yaşından küçük olup %55.7'si 45 yaşından büyüktü. 60 yaş üzeri olma kötü prognoz kriteri olarak değerlendirildiğinde hastaların %20 sinin 60 yaşından büyük olduğu görüldü. Beyin tümörlü hastaların %57.3'ünün nöroepitelyal kaynaklı, %3.4'ünün kranial ve paraspinal sinir tümörleri, %34.2'sinin meninks tümörleri, %2.6 sının lenfoma ve hematopoetik neoplazmalar ve yine %2.6 sının da sellar bölge tümörleri olduğu gözlendi. Daha ayrıntılı olarak incelendiğinde beyin tümörlerinin %12'si malign-non-glial, %51.3'ü malign-glial, %30.8'i benign non-glial, %6'sı benign glial tümörlerdi.

Beyin tümörlü hastaların %38.5'i I.derece, %16.2'si II.derece, %17.1 i III.derece, %28.2'si ise IV.derece tümörlere sahip olduğu saptanmıştır. Beyin tümörlü

hastalar tümör histolojisine göre değerlendirildiklerinde % 69.4 ünün astrositik, %17.7'sinin oligodendroglial, %12.9'unun oligoastrositik olduğu saptanmıştır. 29 hasta glioblastome multiforme agresif tümörüne sahip olduğu ve beyin tümörlü 28 hastada (%23.9) tümörün frontal yerleşimli olduğu saptanmıştır.

Survivin Promotor -31C>G Gen Polimorfizmi sonuçları değerlendirildiğinde, genotip dağılımı açısından çalışma grubumuz incelendiğinde Survivin Promotor-31C>G genotiplerinin dağılımında kontrol grubu ve beyin tümörlü hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (χ^2=3.34;p= 0,188). Survivin Promotor-31C>G allel dağılımları arasında da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (χ^2= 2.27;p= 0,131). (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Beyin Tümörü Taşıyan Hastalar ve Kontrol Grubu Arasında Survivin Promotor -31C>G Gen Polimorfizmi Genotip ve Allel Dağılımı

Genotipler ve Alleller	Beyin Tümörlü Hastalar n(%)	Kontroller n(%)	p	OR %95 Güven Aralığı (CI)
-31C>G				
CC	12 (14.6)	8 (12.3)	0.683	1.189 (0.517-2.736)
GC	43 (52.4)	26 (40)	0.133	0.793 (0.586-1.072)
GG	27 (33)	31 (47.7)	0.069	0.690 (0.463-1.030)
Tablo Kikare (χ^2) =3.343 [a] p değeri: 0.188				
C alleli	67 (40.9)	42 (32.3)	-	-
G alleli	97 (59.1)	88 (67.7)	-	-
Tablo Kikare (χ^2) =2.270 [a] p değeri: 0.131				

[a] Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının kontrol grubu ile karşılaştırılma sonrası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir. .

Beyin tümörleri hücresel orjinine ve histolojisine göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G Gen Polimorfizmi incelemesi sonrası genotip dağılımı Tablo 4-3'de verilmiştir. Beyin tümörlü hastalar hücresel orjin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları arasında kontrole göre sadece meninks tümörlü hasta grubunda allel dağılımı açısından istatistiksel anlamlı fark gözlenmişti ($p<0.05$) Buna göre meninks tümörlü hastalarda C alleli taşıma durumu (%46.8) kontrol grubuna göre (%32.3) daha yüksekti ve fark istatistiksel olarak da anlamlıydı (Tablo 4-3). Yine aynı grup hastada CC genotipi taşıma frekansı (%25.8) kontrol grubuna göre (%12.3) daha yüksekti, ancak farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı saptanmıştır ($p=0.097$;OR:2.097,%95 CI:0.868-5.064).

Tablo 4-3: Beyin tümörlü hastaları hücresel orjin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Nöroepitelyal Tümörlü Hastalar n(%)	Kranial ve paraspinal sinir tümörlü hastalar n(%)	Meninks tümörlü hastalar N(%)	Lenfoma ve hematopoetik neoplazmalı hastalar n(%)	Sellar bölge tümörleri n(%)	Kontroller n(%)
-31C>G						
CC	4 (9.3)	0 (0)	8 (25.8)	0 (0)	0 (0)	8 (12.3)
GC	24 (55.8)	2 (66.7)	13(41.9)	1 (50)	3 (100)	26 (40)
GG	15 (34.9)	1 (33.3)	10 (32.3)	1 (50)	0 (100)	31 (47.7)
C alleli	32 (37.2)	2(33.3)	29 (46.8) [a]	1 (25)	3 (50)	42 (32.3)
G alleli	54 (62.8)	4 (66.7)	33 (53.2)	3(75)	3 (50)	88 (67.7)

Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının kontrol grubu ile karşılaştırılma sonrası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

.[a] $p<0.05$; meninks tümörleri ile kontrol grubu karşılaştırması

Beyin tümörlü hastalar malign ya da benign ve glial kaynaklı olma ve olmama durumlarına göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları Tablo 4-4 'de verilmiştir. Beyin tümörlü hastalar malign ya da benign ve

glial kaynaklı olma ve olmama durumlarına göre sınıflandırıldığında malign ancak glial kaynaklı olmayan tümör taşıyan hastalarda survivin genotip dağılımı kontrole göre istatistiksel anlamlı fark göstermiyordu. Ancak hastalarda C alleli taşıma durumu (%59) kontrol grubuna göre (%32.3) daha yüksek olup, fark istatistiksel anlamlıydı (p=0.02) (Tablo 4-4). Malign non-glial tümörlü hastaların CC genotipi taşıması ise (%36.4) kontrole göre (%12.3) daha yüksek frekansa sahipti ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlılığa yakın bulundu (p=0.065;OR:2.955,%95 CI:1.070-8.161).

Tablo 4-4: Beyin tümörlü hastaları malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial)/olmama(non-glial) durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Malign Non-glial Tümörlü Hastalar n(%)	Malign Glial Tümörlü Hastalar n(%)	Benign Non-glial Tümörlü Hastalar N(%)	Benign Glial Tümörlü Hastalar n(%)	Kontroller n(%)
-31C>G					
CC	4 (36.4)	4 (10.5)	4 (14.3)	0 (0)	8 (12.3)
GC	5 (45.5)	21 (55.3)	14 (50)	3 (60)	26 (40)
GG	2 (18.2)	13 (34.2)	10 (35.7)	2 (40)	31 (47.7)
C alleli	13 (59) [a]	29 (38.2)	22 (39.3)	3 (30)	42 (32.3)
G alleli	9 (41)	47 (61.8)	34 (60.7)	7 (70)	88 (67.7)

Çalışma grupları arasında genotip dağılımlarının ve allel frekanslarının karşılaştırılması Kikare (χ^2) analizi ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p=0.02 ; malign non-glial tümörlü hastalar ile kontrol grubu karşılaştırılması

Genel olarak malign tümör taşıma veya benign tümör taşıma olarak hastalar gruplandığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları Tablo 4-5 'de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4-5: Beyin tümörlü hastaları malign ya da benign olma/olmama durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Malign Tümörlü Hastalar n(%)	Benign Tümörlü Hastalar n(%)	Kontroller n(%)
-31C>G			
CC	8 (16)	4 (12.1)	8 (12.3)
GC	26 (53)	17 (51.5)	26 (40)
GG	15 (31)	12 (36.4)	31 (47.7)
C alleli	42 (42.9)	24 (37.5)	42 (32.3)
G alleli	56 (57.1)	40 (62.5)	88 (67.7)

Çalışma grupları arasında genotip dağılımlarının ve allel frekanslarının karşılaştırılması Kikare (χ^2) analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörü taşıyan hastalar glial kaynaklı tümör taşıma veya taşımamalarına göre gruplandığında, Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları Tablo 4-6 'de verilmiştir. Buna göre gruplar arasında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir.

Tablo 4-6 : Beyin tümörlü hastaların glial kaynaklı tümör taşıma/taşımama durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Glial Tümörlü Hastalar n(%)	Non-glial Tümörlü Hastalar n(%)	Kontroller n(%)
-31C>G			
CC	4 (9.3)	8 (20.5)	8 (12.3)
GC	24 (55.8)	19 (48.7)	26 (40)
GG	15 (34.9)	12 (30.8)	31 (47.7)
C alleli	32 (37.2)	35 (44.9)	42 (32.3)
G alleli	54 (62.8)	43 (55.1)	88 (67.7)

[a] Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının kontrol grubu ile karşılaştırılma sonrası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

Agresif glial tümörlerden glioblastome multiforme taşıyan hastalar ayrı bir grupta toplanıp Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel frekansları açısından incelendiğinde kontrol grubu ile arada istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: Beyin tümörlü hastalardan glioblastome multiforme tümörü taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Gliablastome Multiforme Tümörlü Hastalar n(%)	Kontroller n(%)	p	OR %95 Güven Aralığı (CI)
-31C>G				
CC	2 (10)	8 (12.3)	0.779	0.813 (0.188-3.520)
GC	10 (50)	26 (40)	0.429	1.250 (0.736-2.123)
GG	8 (40)	31 (47.7)	0.546	0.839 (0.463-1.519)
P değeri [a]	0.73	-		
C alleli	14 (35)	42 (32.3)	-	-
G alleli	26 (65)	88 (67.7)	-	-
P değeri [a]	0.75	-		

[a] Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının kontrol grubu ile karşılaştırılma sonrası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastalarda tümörün frontal yerleşimli olup olmamasına göre survivin promotor -31C>G G genotip ve allel frekansları incelendiğinde , kontrol grubu ile arada istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak G alleli taşıma frekansı frontal yerleşimli tümörlerde (%75) frontal dışı yerleşimli tümörlerdekine (% 55.9) göre daha yüksek saptanmış olup, fark istatistiksel anlamlıdır (p=0.047) (Tablo 4-8). Frontal dışı yerleşimli tümöre sahip hastalarda GG genotipi taşıma (%27.9) frontal yerleşimli tümör taşıyan gruba göre düşük (%56.2) bulumuş olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.031;OR: 0.497,%95 CI: 0.279-0.884).

Tablo 4-8: Beyin tümörlü hastalardan frontal yerleşimli tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Frontal Yerleşimli Tümörlü Hastalar N=16	Frontal Dışı Yerleşimli Tümörlü hastalar N=68	p	OR %95 Güven Aralığı (CI)
-31C>G				
CC	1(6.3)	11 (16.2)	0.447	2.588 (0.360-18.622)
GC	6 (37.5)	38 (55.9)	0.185	1.490 (0.765-2.903)
GG	9 (56.2)	19 (27.9)	0.031*	0.497 (0.279-0.884)
Tablo P değeri [a]	0.089			
C alleli	8 (25)	60 (44.1)	-	-
G alleli	24 (75)	76 (55.9)	-	-
P değeri [a]	0.047*	-		

[a] Hasta ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının kontrol grubu ile karşılaştırılma sonrası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir. * $p<0.05$.

Beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine gore değerlendirildiklerinde, Survivin Promotor -31C>G G genotip ve allel dağılımları Tablo 4-9'da verilmiştir.

Tablo 4-9: Beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip dağılımları

Genotipler	I..derece Tümörlü Hastalar n(%)	II..derece Tümörlü Hast n(%)	III..derece Tümörlü Hastalar n(%)	IV..derece Tümörlü Hastalar n(%)
-31C>G				
CC	4 (12.1)	2 (16.7)	3 (18.8)	3 (14.3)
GC	16 (48.5)	7 (58.3)	10 (62.5)	10 (47.6)
GG	13 (32.9)	3 (25)	3 (18.8)	8 (38.1)

Tablo 4-10: Beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre I+II ve III+IV olarak gruplandığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve allel taşıma durumlarının incelenmesi

Genotipler	I..derece ve II derece Tümörlü Hastalar n(%)	III..derece ve IV derece Tümörlü Hastalar n(%)	P	OR %95 Güven Aralığı (CI)
-31C>G				
CC	6 (13.3)	6 (16.2)	0.713	1.216 (0.428-3.457)
GC	23 (51.1)	20 (54.1)	0.791	0.940 (0.593-1.488)
GG	16 (35.6)	11 (29.7)	0.576	0.836 (0.444-1.574)
Tablo P değeri=0.836				
C alleli	35 (38.9)	32 (43.2)	0.572	
G alleli	55 (61.1)	42 (56.8)		

Gruplar arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının karşılaştırılma sonrası analiz Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastalarda tümör derecelendirmesi Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi incelendiğinde, gerek genotip gerekse allel frekansları açısından istatistiksel anlamlı bir veriye ulaşılamamıştır (Tablo 4-10).

Beyin tümörleri hücresel orjinine ve histolojisine göre nöroepitelyal kaynaklı tümör taşıyan hastaların özellikleri ve klinik parametreler ile Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi arasındaki olası ilişkileri saptamak üzere yapılan analiz Tablo 4-11'de verilmiştir.

Nöroepitelyal tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmine ait CC genotipi sigara içenlerde (%76.5) içmeyenlerden (%100) istatistiksel anlamlı daha düşük bulunmuştur (p=0.021;OR: 0.765 ,%95 CI: 0.587-0.995). Nöroepitelyal tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi ile cins, yaş, sigara kullanımı, tümör derecesi, malignite durumu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Survivin Promotor -31C>G polimorfizmine ait C alleli frontal yerleşimli olmayan tümörlerde (%78.6) frontal yerleşimlilere göre (%40) istatistiksel anlamlı daha yüksek bulunmuştur (p=0.01;OR:1.964, ,%95 CI: 1.026-3.760).

Tablo 4-11 : Nöroepitelyal kaynaklı tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki

Survivin Promotor -31C>G genotipleri/hasta özellikleri	CC+CG N(%)	GG N(%)	N	P	OR %95 (CI)	GG+GC N(%)	CC N(%)	N	P	OR %95 (CI)
Cins										
Erkek	19 (73.1)	7 (26.9)	26	0.176	1.38 (0.833-2.288)	23 (88.5)	3 (11.5)	26	1.00	0.940 (0.783-1.128)
Kadın	9 (52.9)	8 (47.1)	17			16 (94.1)	1 (5.9)	17		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	13 (76.5)	4 (23.5)	17	0.266	1.275(0.842-1.929)	13 (76.5)	4 (23.5)	17	0.021	0.765 (0.587-0.995)
Sigara içmeyen	15 (60)	10 (40)	25			25 (100)	0 (0)	25		
Yas										
45 den küçük	12 (54.5)	10 (45.5)	22	0.81	0.682 (0.439-1.059)	20 (90.9)	2 (9.1)	22	1.00	1.010(0.829-1.23)
45'den büyük	16 (80)	4 (20)	20			18 (90)	2 (10)	20		
Yas										
60 dan küçük	22 (61.1)	14 (38.9)	36	0.083	0.611 (0.471-0.793)	33 (91.7)	3 (8.3)	36	0.474	1.100(0.759-1.594)
60'dan büyük	6 (100)	0 (0)	6			5 (83.3)	1 (16.7)	6		
Tumor derecsi										
III ve IV	22 (68.8)	10 (31.3)	32	0.473	1.260 (0.700-2.269)	28 (87.5)	4 (12.5)	32	0.558	0.875(0.768-.997)
I ve II	6 (54.5)	5 (45.5)	11			11 (100)	0 (0)	11		
Malign/benign										
Malign olma	25 (65.8)	13 (34.2)	38	1.00	1.096(0.517-2.325)	34 (89.5)	4 (10.59	38	1.00	0.895 (0.802-0.998)
Malign olmama	2 (40)	3 (60)	5			0 (0)	5 (100)	5		
Frontal yerleşim										
Yok	22 (78.6)	6 (21.4)	28	0.01*	1.964(1.026-3.760)	25 (89.3)	3 (10.7)	28	1.00	0.957 (0.794-1.153)
Var	6 (40)	9 (60)	15			14 (93.3)	1 (6.7)	15		

Meninks tümörlü hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi ile cins, sigara kullanımı, tümör derecesi, malignite durumu, tümörün frontal dışı yerleşimi olması parametreleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Survivin Promotor -31C>G polimorfizmine ait G alleli 45 yaşından küçük hastalarda (%44.4) büyük olanlara göre (%85.7) istatistiksel anlamlı daha düşük, CC genotipi ise 45 yaş altı hastalarda(%55.6) üstünde olanlara göre (%14.3) daha yüksek bulunmuştur (p=0.03;OR:0.519, %95 CI: 0.245-1.099) (Tablo 4-12).

Tablo 4-12: Meninks kaynaklı tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki

Survivin Promotor -31C>G **genotipleri/hasta özellikleri**	**CC+CG N(%)**	**GG N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI	**GG+GC N(%)**	**CC N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI
Cins										
Erkek	12 (85.7)	2 (14.3)	14	0.068	1.619 (0.985-2.66)	11 (78.6)	3 (21.4)	14	0.698	1.113 (0.738-1.679)
Kadın	9 (52.9)	8 (47.1)	17			12 (70.6)	5 (29.4)	17		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	7 (77.8)	2 (22.2)	9	0.677	1.222(0.763-1.957)	6 (66.7)	3 (33.3)	9	0.66	0.863 (0.516-1.443)
Sigara içmeyen	14 (63.6)	8 (36.4)	22			17 (77.3)	5 (22.7)	22		
Yas										
45 den küçük	7 (77.8)	2 (22.2)	9	0.675	1.256 (0.774-2.039)	4 (44.4)	5 (55.6)	9	0.03*	0.519 (0.245-1.099)
45'den büyük	13 (61.9)	8 (38.1)	21			18 (85.7)	3 (14.3)	21		
Yas										
60 dan küçük	15 (62.5)	9 (37.5)	24	0.633	0.750 (0.467-1.204)	18 (75)	6 (25)	24	0.645	1.125 (0.611-2.073)
60'dan büyük	5 (83.3)	1 (16.7)	6			4 (66.7)	2 (33.3)	6		
Tumor derecsi										
III ve IV	3 (100)	0	3	0.533	1.556 (1.180-2.050)	1 (33.3)	2 (66.7)	3	0.156	0.424(0.085-2.127)
I ve II	18 (64.3)	10 (35.7)	28			22 (78.6)	6 (21.4)	28		
Malign/benign										
Malign olma	8 (88.9)	1 (11.1)	9	0.205	1.504 (0.991-2.284)	5 (55.6)	4 (44.4)	9	0.185	0.679 (0.366-1.258)
Malign olmama	13 (59.1)	9 (40.9)	22			18 (81.8)	4 (18.2)	22		
Frontal yerleşim										
Yok	20 (66.7)	10 (33.3)	30	1.00	0.667 (0.518-0.859)	22 (73.3)	8 (26.7)	30	1.00	0.733 (0.591-0.910)
Var	1 (100)	0 0)	1			0 (0)	1 (100)	1		

Malign tümörlü hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi ile cins, sigara kullanımı, tümör derecesi, malignite durumu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Survivin Promotor -31C>G polimorfizmine ait C alleli frekansı frontal dışı yerleşimli tümör taşıyan hastalarda (%82.4) frontal yerleşimlilere göre (%40) istatistiksel anlamlı daha yüksek bulunmuştur (p=0.006;OR:2.059, ,%95 CI: 1.087-3.901)(Tablo 4-13).

Tablo 4-13:Malign tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki

Survivin Promotor -31C>G **genotipleri/hasta özellikleri**	**CC+CG N(%)**	**GG N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI	**GG+GC N(%)**	**CC N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI)
Cins										
Erkek	23 (74.2)	8 (25.8)	31	0.338	1.214 (0.795-1.853)	26 (83.9)	5 (16.1)	31	1.00	1.006 (0.778-1.303)
Kadın	11 (61.1)	7 (38.9)	18			15 (83.3)	3 (16.7)	18		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	15 (75)	5 (25)	20	0.479	1.145 (0.794-1.650)	15 (75)	5 (25)	20		
Sigara içmeyen	19 (65.5)	10 (34.5)	29			26 (89.7)	3 (10.3)	29	0.245	0.837 (0.631-1.109)
Yas										
45 den küçük	12 (60)	8 (40)	20	0.188	0.771(0.512-1.163)	16 (80)	4 (20)	20	0.707	0.939 (0.717-1.23)
45'den büyük	21 (77.8)	6 (22.2)	27			23 (85.2)	4 (14.8)	27		
Yas										
60 dan küçük	25 (65.8)	13 (34.2)	38	0.244	0.740(0.535-1.025)	32 (84.2)	6 (15.8)	38	0.639	1.083(0.744-1.576)
60'dan büyük	1 (11.1)	8 (88.9)	9			7 (77.8)	2 (22.2)	9		
Tumor derecsi										
III ve IV	25 (69.4)	11 (30.6)	36	1.00	1.003(0.658-1.530)	30 (83.3)	6 (16.7)	36	1.00	0.985 (0.749-1.295)
I ve II	9 (69.2)	4 (30.8)	13			11 (84.6)	2 (15.4)	13		
Frontal yerleşim										
Yok	28 (82.4)	6 (17.6)	34	0.006*	2.059 (1.087-3.901)	27 (79.4)	7 (20.6)	34	0.406	0.851 (0.684-1.058)
Var	6 (40)	9 (60)	15			14 (93.3)	1 (6.7)	15		

Benign tümörlü hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi ile cins, yaş, sigara kullanımı, tümör derecesi, malignite durumu, frontal yerleşimli olma durumu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır**.**(Tablo 4-14)

Tablo 4-14: Benign tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki

Survivin Promotor -31C>G **genotipleri/hasta özellikleri**	**CC+CG N(%)**	**GG N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI	**GG+GC N(%)**	**CC N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI)
Cins										
Erkek	11 (84.6)	2 (15.4)	13	0.067	1.692 (1.031-2.778)	12 (92.3)	1 (7.7)	13	1.00	1.086(0.853-1.383)
Kadın	10 (50)	10 (50)	20			17 (85)	3 (15)	20		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	7 (77.8)	2 (22.2)	9	0.441	1.278 (0.792-2.063)	7 (77.8)	2 (22.2)	9	0.557	0.852 (0.588-1.235)
Sigara içmeyen	14 (60.9)	9 (39.1)	23			21 (91.3)	2 (8.7)	23		
Yas										
45 den küçük	11 (73.3)	4 (26.7)	15	0.290	1.32(0.79-2.206)	12 (80)	3 (20)	15	0.308	0.847 (0.642-1.117)
45'den büyük	10 (55.6)	8 (44.4)	18			17 (94.4)	1 (5.6)	18		
Yas										
60 dan küçük	25 (89.3)	3 (10.7)	28	0.5	1.116(0.707-1.762)	25 (89.3)	3 (10.7			
60'dan büyük	1 (20)	4 (80)	5							
Tumor derecsi										
III ve IV	1 (100)	0 (0)	1	1.00	1.6(1.223-2.093)	1 (100)	0(0)	1	1.00	1.143 (1.003-1.303)
I ve II	20(62.5)	12 (37.5)	32			28 (87.5)	4 (12.5)	32		
Frontal yerleşim										
Yok	20 (62.5)	12 (37.5)	32	1.00	0:625 (0.476-0.817)	28 (87.5)	4 (12.5)	32	1.00	0.875 (0.768-0.997)
Var	1 (100)	0 (0)	1			0 (0)	1 (100)	1		

Glial tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi ile cins, yaş, tümör derecesi, malignite durumu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamış olup, CC genotipi sigara içenlerde (%23.5) içmeyenlerden (%0) istatistiksel anlamlı daha düşük bulunmuştur (p=0.021). C alleli frekansı frontal dışı yerleşimli tümör taşıyan hastalarda (%78.6) frontal yerleşimlilere göre (%40) istatistiksel anlamlı daha yüksek bulunmuştur (p=0.011;OR:1.964, ,%95 CI: 1.026-3.760). (Tablo 4-15).

Tablo 4-15:Glial tümörleri taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki

Survivin Promotor -31C>G **genotipleri/hasta özellikleri**	**CC+CG N(%)**	**GG N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI	**GG+GC N(%)**	**CC N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI)
Cins										
Erkek	19 (73.1)	7 (26.9)	26	0.176	1.380 (0.833-2.288)	23 (88.5)	3 (11.5)	26	1.00	0.940 (0.783-1.128)
Kadın	9 (52.9)	8 (47.1)	17			16 (94.1)	1 (5.9)	17		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	13 (76.5)	4 (23.5)	17	0.266	1.275(0.842-1.929)	13 (76.5)	4 (23.5)	17	0.021	0.765 (0.587-0.995)
Sigara içmeyen	15 (60)	10 (40)	25			25 (100)	0	25		
Yas										
45 den küçük	12 (54.5)	10 (45.5)	22	0.081	0.682 (0.439-1.059)	20 (90.9)	2 (9.1)	22	1.00	1.010(0.829-1.230)
45'den büyük	16 (80)	4 (20)	20			18 (90)	2 (10)	20		
Yas										
60 dan küçük	22 (61.1)	14 (38.9)	36	0.083	0.611 (0.471-0.793)	33 (91.7)	3 (8.3)	36	0.474	1.100(0.759-1.594)
60'dan büyük	6 (100)	0 (0)	6			1 (16.7)	5 (83.3)	6		
Tumor derecsi										
III ve IV	22 (68.8)	10 (31.3)	32	0.473	1.260 (0.700-2.269)	28 (87.5)	4 (12.5)	32	0.558	0.875 (0.768-0.997)
I ve II	6 (54.5)	4 (45.5)	11			11 (100)	0(0)	11		
Malign/benign										
Malign olma	25 (65.8)	13 (34.2)	38	1.00	1.096(0.517-2.325)	34 (89.5)	4 (10.5)	38	1.00	0.895 (0.802-0.998)
Malign olmama	2 (40)	3 (60)	5			5 (100)	0 (0)	5		
Frontal yerleşim										
Yok	22 (78.6)	6 (21.4)	28	0.011	1.964 (1.026-3.760)	25 (89.3)	3 (10.7)	28	1.00	0.957 (0.794-1.153)
Var	6 (40)	9 (60)	15			14 (93.3)	1 (6.7)	15		

Glial kaynaklı olmayan (non-glial) tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor-31C>G polimorfizmi ile cins, yaş, sigara kullanımı, tümör derecesi, malignite durumu, frontal yerleşimli olma durumu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. (Tablo 4-16).

Tablo 4-16:Non-Glial tümörleri taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G Allel ve Hastalık Parametreleri Arasındaki İlişki

Survivin Promotor -31C>G **genotipleri/hasta özellikleri**	**CC+CG N(%)**	**GG N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI	**GG+GC N(%)**	**CC N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI)
Cins										
Erkek	15 (83.3)	3 (16.7)	18	0.077	1.458 (0.954-2.229)	15 (83.3)	3 816.7)	18	0.702	1.094(0.797-1.5)
Kadın	12 (57.1)	9 (42.9)	21			16 (76.2)	5 (23.8)	21		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	9 (75)	3 (25)	12	0.719	1.125(0.738-1.715)	9 (75)	3 (25)	12	0..682	0.920(0.634-1.336)
Sigara içmeyen	18 (66.7)	9 (33.3)	27			22 (81.5)	5 (18.5)	27		
Yas										
45 den küçük	11 (84.6)	2 (15.4)	13	0.158	1.410 (0.950-2.094)	8 (61.5)	5 (38.5)	13	0.94	0.699 (0.444-1.101
45'den büyük	15 (60)	10 (40)	25			22 (88.0)	3 (12)	25		
Yas										
60 dan küçük	20 (66.7)	10 (33.3)	30	1.00	0.889 (0.554-1.427)	24 (80)	6 (20)	30	1.00	1.067 (0.688-1.653)
60'dan büyük	6 (75)	2 (25)	8			6 (75)	2 (25)	8		
Tumor derecsi										
III ve IV	4 (80)	1(20)	5	1.00	1.183 (0.720-1.942	3 (60)	2(40)	5	0.268	0.729 (0.350-1.515)
I ve II	23 (67.6)	11(32.4)	34			28 (82.4)	6 ((17.6)	34		
Malign/benign										
Malign olma	9 (81.8)	2 (18.2)	11	0.446	1.273(0.860-1.884)	7 (63.6)	4 (36.4)	11	0.188	0.742 (0.463-1.190)
Malign olmama	18 (64.3)	10 (35.7)	28			24 (85.7)	4 (14.3)	28		
Frontal yerleşim										
Yok	26 (68.4)	12 (31.6)	38	1.00	0.684(0.551-0.849)	30 (78.9)	8(21.1)	38	1.00	0.789 (0.670-0.930)
Var	1 (100)	0(0)	1			1 (100)	0(0)	1		

Hasta ve kontrol grubu arasında genotip ve alleller ki kare testi ile karşılaştırılmıştır.

Glioblastome multiforme tümörü taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G polimorfizmi ile cins, sigara kullanımı, tümör derecesi, malignite durumu arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Glioblastome multiformeli hastalardan 45 yaş altı

olanlarda GG genotipi frekansı (%83.3) üstü olanlara göre (%14.4) istatistiksel anlamlı daha yüksek saptanmıştır (p=0.01). Yine aynı grup tümörlerde frontal dışı yerleşimli olanlarda C alleli taşıma durumu (%85.7) frontal yerleşimli olanlardakine göre (%0) istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulunmuştur (p=0.001). (Tablo 4-17)

Tablo 4-17:Glioblastome Multiforme tümörü taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allel ve hastalık parametreleri arasındaki ilişki

Survivin Promotor -31C>G **genotipleri/hasta özellikleri**	**CC+CG N(%)**	**GG N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI	**GG+GC N(%)**	**CC N(%)**	**N**	**P**	OR %95 (CI)
Cins										
Erkek	10 (62.5)	6 (37.5)	16	1.00	1.25 (0.437-3.575)	14 (87.5)	2 (12.5)	16	1.00	0.875 (0.727-1.053)
Kadın	2 (50)	2(50)	4			4 (100)	0 (0)	4		
Sigara kullanımı										
Sigara içen	7 (70)	3 (30)	10	0.650	1.4 (0.667-2.937)	8 (80)	2 (20)	10	0.474	0.8 (0.587-1.091)
Sigara içmeyen	5 (50)	5 (50)	10			10 (100)	0(0)	10		
Yas										
45 den küçük	1 (16.7)	5 (83.3)	6	0.01	0.197(0.032-1.197)	6 (100)	0(0)	6	1.00	1.182(0.937-1.490)
45'den büyük	11 (84.6)	2 (15.4)	13			2(15.4)	11(84.6)	13		
Yas										
60 dan küçük	7 (50)	7 (50)	14	0.106	0.5 (0.296-0.844)	13 (92.99	1 (7.1)	14	0.468	1.161(0.731-1.842)
60'dan büyük	0(09	5(100)	5			4(80)	1(20)	5		
Tumor derecsi										
III ve IV	12 (60)	8 (40)	20	-	-	18 (90)	2(10)	20	-	-
I ve II	-	-	-			-	-	-		
Malign/benign										
Malign olma	12 (60)	8 (40)	20	-	-	12 (60)	8 (40)	20	-	-
Malign olmama	-	-								
Frontal yerleşim										
Yok	12 (85.7)	2 (14.3)	14	0.001	-	12 (85.7)	2 (14.3)	14	1.00	0.857(0.692-1.062)
Var	0(0)	6(100)	6			6(100)	0(0)	6		

Beyin tümörlü hastaları hücresel orjin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin Serum Düzeyleri (pg/ml) açısından gruplar arası istatistiksel anlamlı fark Kruskal-Wallis Testi ile saptanmıştır (p=0.002) .

Nöroepitelyal tümörlü hastalarda serum survivin düzeyleri (34.6± 3.5) Meninks tümörlü hastalardan ve sağlıklı kontrollerden (25.7±3.36) daha yüksek bulunmuş olup meninks tümörlü hastalara göre bu fark istatistiksel anlamlı ($p<0.001$),kontrollerle karşılaştırıldığında ise anlamlılığa yakın bulunmuştur ($p=0.057$). Meninks kaynaklı tümör taşıyan hastalarda ise (11.4±3.1) kontrollere göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir ($p=0.007$). (Tablo 4-18).

Tablo 4-18: Beyin tümörlü hastaları hücresel orijin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin Serum Düzeyleri (pg/ml)

Nöroepitelyal Tümörlü Hastalar	Kranial ve paraspinal sinir tümörlü hastalar	Meninks tümörlü hastalar	Lenfoma ve hematopoetik neoplazmalı hastalar	Sellar bölge tümörleri	Kontroller	p*
34.6± 3.5 [a, c]	31.1± 30.1	11.4±3.1 [b]	32.6±19.8	5.8	25.7±3.36	0.002

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

[a] $p<0.001$; nöroepitelyal tümörlü hastalar ile Meninks tümörlü hastaların karşılaştırılması

[b] $p=0.007$; Meninks tümörlü hastalar ile kontrollerın karşılaştırılması

[c] $p=0.057$; nöroepitelyal tümörlü hastalar ile kontrollerın karşılaştırılması

* Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Kruskal-Wallis Testi analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastaları malign / benign ve glial kaynaklı olma (glial)/ olmama(non-glial) tümör taşıma durumuna göre serum survivin düzeyleri (pg/ml) değerlendirildiğinde Kruskal-Wallis Testi ile gruplar arası istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.001$). Malign non- glial tümörlü hastalarda serum survivin düzeyleri (pg/ml) (17.14±7.18) malign-gliallerdekine göre (36.6±3.70) istatistiksel anlamlı olarak düşük ($p=0.021$) olarak saptanmıştır. Malign glial tümörlü hastalarda ise (36.6±3.70) sırasıyla benign non-gliallere (13.11±3.95), benign gliallere (13.50±7.38)

ve kontrollere göre (25.7±3.36) istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0.001, p=0.039, p=0.024).Benign non-glial tümörlü hastalardaki serum survivin değerleri de (13.11±3.95) kontrollere göre istatistiksel anlamlı düşük olarak saptanmıştır (p=0.021) (Tablo 4-19)

Tablo 4-19:Beyin tümörlü hastaları malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial)/olmama (non-glial) durumuna göre serum survivin düzeyleri (pg/ml)

Malign Non-glial Tümörlü Hastalar	Malign Glial Tümörlü Hastalar	Benign Non-glial Tümörlü Hastalar	Benign Glial Tümörlü Hastalar	Kontroller	P*
17.14±7.18 [a]	36.6±3.70 [b,c,d]	13.11±3.95 [e]	13.50±7.38	25.7±3.36	<0.001

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p=0.021; malign non- glial tümörlü hastalar ile malign-glial karşılaştırılması

[b] p<0.001; malign glial tümörlü hastalar ile benign non-glial karşılaştırılması

[c] p=0.039; malign glial tümörlü hastalar ile benign glial karşılaştırılması

[d] p=0.024; malign glial tümörlü hastalar ile kontrol karşılaştırılması

[e] p=0.021; benign non- glial tümörlü hastalar ile kontrol karşılaştırılması

* Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Kruskal-Wallis Testi analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastaları malign ya da benign olma/olmama durumuna göre sınıflandırıldığında serum survivin düzeyleri arasında Kruskal-Wallis Testi ile gruplar arası istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır (p<0.001). Malign tümör taşıyan hastaları tek grup altında topladığımızda bu grupta serum survivin düzeyleri (33.46±3.42), benign tümörlü hastalara (13.18±3.46) ve kontrollere (25.68±3.36) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0.001 ve p=0.017) (Tablo 4-20).

Tablo 4-20: Beyin tümörlü Hastaları malign ya da benign olma/olmama durumuna göre sınıflandırıldığında serum survivin düzeyleri (pg/ml)

Malign Tümörlü Hastalar	Benign Tümörlü Hastalar	Kontroller	p*
33.46±3.42 [a]	13.18±3.46 [b]	25.68±3.36	0.001

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p<0.001; malign tümörlü hastalar ile benign tümörlü hastaların karşılaştırılması

[b] p=0.017; benign tümörlü hastalar ile kontrollerin karşılaştırılması

* Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Kruskal-Wallis Testi analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastalar glial kaynaklı tümör taşıma/taşımama durumuna göre sınıflandırıldığında Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml) arasında Kruskal-Wallis Testi ile gruplar arası istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır (p<0.001). Glial tümör taşıyan hastalarda serum survivin düzeyleri (34.57±3.53) kontrollere göre istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek (p=0.057),non-glial tümörlere karşı (14.29±3.45) olan yüksekliği ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001). Non-glial hastalarda serum survivin düzeylerinin ise (14.29±3.45) kontrollere göre (25.68±3.36)istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır (p=0.021) (Tablo 4-21).

Tablo 4-21: Beyin tümörlü hastaların glial kaynaklı tümör taşıma/taşımama durumuna göre sınıflandırıldığında Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml)

Glial Tümörlü Hastalar	Non-glial Tümörlü Hastalar	Kontroller	P*
34.57±3.53 [a]	14.29±3.45 [b]	25.68±3.36	0.001

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p<0.001; glial tümörlü hastalar ile non-glial tümörlü hastaların karşılaştırılması

[b] p=0.021; non-glial tümörlü hastalar ile kontrollerin karşılaştırılması

* Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Kruskal-Wallis Testi analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastalardan Glioblastome Multiforme tümörü taşıyan hastalarda serum survivin düzeyleri (31.89±4.27) kontrollere göre (25.68±3.36) yüksek olsa da fark istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. (Tablo 4-22)

Tablo 4-22: Beyin tümörlü hastalardan glioblastome multiforme taşıyan hastalarda Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml)

Gliablastome Multiforme Tümörlü Hastalar	Kontroller	P*
31.89±4.27	25.68±3.36	0.147

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

*Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Primer beyin tümörlü hastalardan frontal yerleşimli olan ve olmayan tümör taşıyan hastalarda "Serum Survivin Düzeyleri" arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 4-23)

Tablo 4-23: Primer beyin tümörlü hastalardan frontal yerleşimli tümörü olan ve olmayan hastalarda Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml)

Frontal yerleşimli tümörlü hastalar	Frontal dışı yerleşimli tümörlü hastalar	p
34.16±6.02	24.75±2.98	0.199

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre I+II ve III+IV olarak gruplandığında III veya IV.derece tümör taşıyan hastalardaki serum survivin düzeyleri (33.92±3.91) I. veya II.derece tümör taşıyanlardakine göre (20.22±3.63) istatistiksel anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (p=0.002) (Tablo 4-24).

Tablo 4-24:Beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre I+II ve III+IV olarak gruplandığında Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml)

I..derece ve II derece Tümörlü Hastalar	III..derece ve IV derece Tümörlü Hastalar	P*
20.22±3.63	33.92±3.91	0.002

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

*Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda, beyin tümörlü hastalar hücresel orjin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G Genotip ve Serum Survivin düzeyleri arasında gruplar arası ve grup içi istatistiksel anlamlı bir farklılığa rastanmamıştır. Nöroepitelyal kaynaklı tümörlü ve GG genotipi taşıyan hastalarda serum survivin düzeylerinin (38.6±7.9) meninks tümörlü aynı genotipli hastalara göre (12.9 ±6.5) istatistiksel anlamlılığa yakın olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır

(p=0.051) (Tablo 4-25).

Tablo 4-25: Beyin tümörlü hastalar hücresel orijin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve Serum Survivin Düzeyleri

Hücresel Orjin ve Histolojiye Göre Beyin Tümörleri																		
	Nöroepitelyal Tümörlü Hastalar			**Kranial ve paraspinal sinir tümörlü hastalar**			**Meninks tümörlü hastalar**			**Lenfoma ve hematopoetik neoplazmalı hastalar**			**Sellar bölge tümörleri**			**Kontrol**		
Survivin Promotor -31C>G Genotipi	**CC**	**GC**	**GG**	**CC**	**GC**	**GG**	**CC**	**GC**	**GG**	**CC**	**GC**	**GG**	**CC**	**GC**	**GG**	**CC**	**GC**	**GG**
	21.7	26.7±5.7	38.6±7.9[a]	-	-	1	12.6±7.2	20.1±8.7	12.9 ±6.5	-	69.8	25.8	-	5.8	-	26.4±13.2	30.5±5.6	23.6±6.3

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

[a] p=0.051; nöroepitelyal tümörlü hastalar ile meninks tümörlü karşılaştırılması

*Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

CC, GC ya da GG genotipi taşıyan beyin tümörlü hastalar malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial)/olmama(non-glial) tümör taşıma durumuna göre değerlendirildiklerinde serum survivin düzeylerinde (pg/ml) grup içi istatistiksel anlamlı fark Kruskall-Wallis testi analizinde saptanmamıştır. Gruplararası analiz sonrasında ise malign glial tümörlü hastalardan GG genotipli hastalarda serum survivin düzeyi (41.6±8.1) aynı genotipli benign non-glial hastalardakine (12.9±6.5) göre

anlamlı olarak yüksek (p=0.041), kontrole göre (23.6±6.3) pg/ml ise istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek bulunmuştur (p=0.059) (Tablo 4-26).

Tablo 4-26: Beyin tümörlü hastaları malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial)/olmama (non-glial) durumuna göre Survivin Promotor -31C>G genotip ve Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml)

Primer Beyin Tümörlü Hastaları malign/ benign ve glial kaynaklı olma (glial)/olmama (non-glial)															
	Malign Non-glial Tümörlü Hastalar			Malign Glial Tümörlü Hastalar			Benign Non-glial Tümörlü Hastalar			Benign Glial Tümörlü Hastalar			Kontrol		
Survivin Promotor 31C>G Genotipi	CC	GC	GG	CC	GC	GG	CC	GC	GG	CC	GC	GG	CC	GC	GG
	18.4±11.4	35.4±34.4	13.4±12.4	21.7	28.5±6.2	41.6±8.1 [a,b]	4.1±3.1	20.8±8.4	12.9±6.5 [a]	-	10.7±9.7	5.8	26.4±13.2	30.6±5.6	23.6±6.3 [b]

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmişti

*Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p=0.041; malign-glial tümörlü hastalar ile benign non-glial tümörlü hastaların karşılaştırılması

[b] p=0.059; malign-glial tümörlü hastalar ile kontrol karşılaştırılması

Beyin tümörlü hastaların malign ya da benign olma/olmama durumuna göre Survivin promotor -31C>G genotipleri gözetilerek değerlendirildiklerinde serum survivin düzeylerinde (pg/ml) grup içi istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Gruplararası serum survivin düzeyleri genotiplere göre değerlendirildiğinde ise en yüksek serum survivin düzeyi GG genotipi taşıyan malign tümörlü hastalarda (37.2±7.5) pg/ml saptanmış olup, bu değerin gerek kontrol (23.6±6.3) gerekse de benign tümörlü (12±5.7) aynı genotipli hastalara (p=0.059) göre yüksek olup, istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı saptanmıştır (Tablo 4-27).

Tablo 4-27: Beyin tümörlü hastaları malign ya da benign olma/olmama durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve Serum Survivin Düzeyleri (pg/ml)

	Malign Tümörlü Hastalar			Benign Tümörlü Hastalar			Kontrol		
Survivin	CC	GC	GG	CC	GC	GG	CC	GC	GG
Promotor	19.2±8.1	29.2±6.1	37.2±7.5[a]	4.1±3.1	18.5±6.8	12±5.7[a]	26.4±13.2	30.6±5.6	23.6±6.3
-31C>G Genotipi									

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U ve Kruskall-Wallis analizleri ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p=0.059; malign tümörlü hastalar ile benign tümörlü karşılaştırılması

Beyin tümörlü hastaların glial olma/olmama durumuna göre Survivin promotor -31C>G genotipleri gözetilerek değerlendirildiklerinde serum survivin düzeylerinde (pg/ml) grup içi istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Gruplararası serum survivin düzeyleri genotiplere göre değerlendirildiğinde ise en yüksek serum survivin düzeyi GG genotipi taşıyan glial tümörlü hastalarda (38.6±8) pg/ml saptanmış olup, bu değerin non-glial tümörlü (13±5.4) aynı genotipli hastalara göre istatistiksel anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (p=0.035). (Tablo 4-28).

Tablo 4-28:Beyin tümörlü hastaların glial kaynaklı tümör taşıma/taşımama(non-glial) durumuna göre sınıflandırıldığında Survivin Promotor -31C>G genotip ve serum Survivin düzeyleri (pg/ml)

	Glial Tümörlü Hastalar			Non-Glial Tümörlü Hastalar			Kontrol		
Survivin	CC	GC	GG	CC	GC	GG	CC	GC	GG
Promotor	21.7	26.7±5.7	38.6±8 [a]	12.7±7.2	24±8.9	13±5.4 [a]	26.4±13.2	30.6±5.6	23.6±6.3
-31C>G Genotipi									

Tablodaki değerler X±SE (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Çalışma grupları arasında serum survivin düzeyi karşılaştırılması Mann-Whitney U ve Kruskall-Wallis analizleri ile gerçekleştirilmiştir.

[a] p=0.035; glial tümörlü hastalar ile non-glial tümörlü hastaların karşılaştırılması

Agresif glial tümörlerden glioblastome multiforme taşıyan Survivin (Promotor -31C>G) CC, GC ve GG genotipi taşıyan hastaların serum survivin düzeyleri sırasıyla (21.7; 20.9±4.7; 47.7±8.7) olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, agresif glial tümörlerden glioblastome multiforme taşıyan Survivin (Promotor -31C>G) GG genotipli hastalarda serum survivin düzeyleri (47.7±8.7) aynı genotipi taşıyan kontrollere (23.6±6.3) pg/ml istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.032).

Primer beyin tümörlü hastalarda tümörün frontal yerleşimli olup olmamasına göre survivin promotor -31C>G genotip ve survivin düzeyleri incelendiğinde , frontal yerleşimli olan ve olmayan tümör taşıyanlarda CC, GC ve GG genotiplerine göre sırasıyla serum survivin düzeyleri (-), (42.1±13.6), (38.9±12.1) ve (14.1±6.1), (23.0±4.6), (21.9±5.9) pg /ml olarak saptanmış olup, gruplar arası istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Beyin tümörlü hastalar tümör derecelerine göre I+II ve III+IV olarak gruplandığında, Survivin (Promotor -31C>G) CC, GC ve GG genotiplerine göre sırasıyla serum survivin düzeyleri I. ve II.derece tümörler için (15.6±8.5),(32±8.7), (9.26±4.3) ve III. veya IV.derece tümörlerde ise (11.35 ±10.4), (21.5±5.2), (47.8±6.7) pg/ml olarak saptanmıştır. Bu sonuçlardan, III. ve IV.derece ileri evre tümör taşıyan GG genotipli hastalarda serum survivin düzeylerinin, I. ve II . derece erken evre tümör taşıyanlara göre ileri derecede istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$).

Nöroepitelyal kaynaklı tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allellerine göre serum survivin düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet, yaş ve sigara kullanımı ile bir ilişki saptanmamıştır. Ancak, III veya IV.derece ileri evre tümörlü GG genotipli hastalarda serum survivin düzeyleri (50.2±6.9 pg/ml) yine aynı genotipli hastalarda I. veya II.derece erken evre tümörlerine göre (3.6±1.4 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.013). Frontal bölge yerleşimli tümöre sahip, C alleli taşıyan (CC+GC) hastalarda serum survivin düzeyleri (50.4±13.2 pg/ml) yine aynı genotipli frontal dışı tümör taşıyan hastalardakine göre (19±4.7 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.025). Frontal bölge tümörlü, G alleli taşıyan (GG+GC) hastalarda serum survivin düzeyleri (43.7±8.7 pg/ml) yine aynı alleli taşıyan frontal dışı tümör

taşıyan hastalardakine göre (23.6±4.8 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.054).

Meninks kaynaklı tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allellerine göre serum survivin düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet, tümör derecesi, tümör yerleşimi, malign/benign olma durumu ile bir ilişki saptanmamıştır. Ancak meninks tümörlü C alleli taşıyan hastalardan, sigara kullanmayanlarda serum survivin düzeyleri (24.2±7.4 pg/ml) kullananlara göre istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek bulunmuştur (p=0.053). C alleli taşıyan meninks tümörlü ve 60 yaş altındaki hastalarda serum survivin düzeyleri (22.3±6.8 pg/ml) 60 yaş üstünde olanlara (1±0 pg/ml)göre istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (p=0.044).

Malign tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allellerine göre serum survivin düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet ve sigara kullanımı açısından bir ilişki saptanmamıştır. C alleli taşıyan malign tümörlü ve 60 yaş altındaki hastalarda serum survivin düzeyleri (33.7±6.7 pg/ml) 60 yaş üstünde olanlara (12.4±4.8 pg/ml) göre istatistiksel anlamlılığa yakın derecede yüksek olduğu görülmüştür (p=0.069). Malign tümör taşıyan C alleline sahip hastalardan III. ve IV.derece tümöre sahip olanlarda serum survivin düzeyleri (21.5±4.9pg/ml) I. ve II.derece tümör taşıyanlara göre (45.4±13.1pg/ml) düşük bulunmuş olup, istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (p=0.076). Ancak, GG genotipli hastalardan III. ve IV.derece tümöre sahip olanlarda serum survivin düzeyleri (47.8±6.7pg/ml) I. ve II.derece tümör taşıyanlara göre (2±1pg/ml) (Mann-Whitney U testi ile)ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.011).

Frontal bölge yerleşimli tümöre sahip, C alleli taşıyan (CC+GC) malign tümörlü hastalarda serum survivin düzeyleri (50.4±13.2 pg/ml) yine aynı genotipli frontal dışı tümör taşıyan hastalardakine göre (21.5±4.9 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.027).

Benign tümör taşıyan hastalarda, Survivin Promotor -31C>G allellerine göre serum survivin düzeylerinin hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet,yaş, tümör derecesi, tümör yerleşimi, malign/benign ya da glial/ glial olmama durumu ile bir ilişki saptanmamıştır.

Glial tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allellerine göre serum survivin düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet, yaş ve sigara kullanımı ile istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Glial tümör taşıyan GG genotipli hastalardan III. ve IV.derece tümöre sahip olanlarda serum survivin düzeyleri (50.2± 6.9 pg/ml) I. ve II. derece tümör taşıyanlara göre (3.6±1.4pg/ml) (Mann-Whitney U testi ile)ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.013). Frontal bölge yerleşimli tümöre sahip, C alleli taşıyan (CC+GC) hastalarda serum survivin düzeyleri (50.3±13.2 pg/ml) yine aynı alleli taşıyan frontal dışı tümörlü hastalardakine göre (19±4.7 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.025).G alleli taşıyan (GG+GC) hastalarda ise serum survivin düzeyleri (43.7±8.7 pg/ml) yine aynı genotipli frontal dışı tümör taşıyan hastalardakine göre (23.6±4.8 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlılığa yakın yüksek bulunmuştur (p=0.054).

Glial dışı tümör taşıyan hastalarda Survivin Promotor -31C>G allellerine göre serum survivin düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet, yaş ve sigara kullanımı, tümör evresi ve frontal bölge yerleşimi ile bir ilişki saptanmamıştır. Glial dışı tümör ve C alleli (GC/CC) taşıyan sigara içen hastalarda serum survivin düzeyleri (3.2 ± 1.4 pg/ml) içmeyen hastalara gore (29.2 ±8.3) istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p=0.035). C alleli taşıyan glial dışı tümörlü ve 60 yaş altındaki hastalarda serum survivin düzeyleri (25.1±7.2 pg/ml) 60 yaş üstünde olanlara (1±0 pg/ml)göre istatistiksel anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (p=0.032).

5.TARTIŞMA

Hücre ve dokuların gelişimi ve homeostazının sağlanmasında hayati önemi olan hücre ölüm mekanizması apoptozun bozulması hücre transformasyonuna sebep olan mutasyonların toplanmasını kolaylaştırarak hücre yaşamının anormal uzamasıyla karakterize olan karsinogenezde önemli bir yer alır . Apoptoz düzenleyicileri arasında günümüze kadar bcl-2 ve IAP ailesi olarak iki önemli protein ailesi tanımlanmıştır. IAP ailesinin inhibitor üyesi olarak tanımlanan survivin yeni bir antiapoptotik proteindir.

Apoptozu baskılayan ve hücre bölünmesini düzenleyen çift fonksiyonlu bir protein olan survivinin en önemli özelliklerinden bir tanesi kanser dokularında çoğu normal doku ile karşılaştırıldığında farklı ekspresyonlarının var olmasıdır. Survivinin sadece fetal dokularda ekspres edildiği düşünülürken, son araştırmalarda erişkinlerde deri,endometrium, endotelyal hücreler,normal kan hücreleri,pankreas,dalak,kolon gibi normal dokularda düşük survivin ekspresyonu gösterilmiştir (13). İnsanlarda görülen çeşitli malignitelerde survivinin yoğun eksprese olduğu ancak normal erişkin dokularda oldukça az hatta tesbit edilebilir düzeyin altında olduğu bilinmektedir (4,13)

Survivinin hücre siklüsünün G2/M fazında eksprese olarak apoptozun düzenini bozmak, anormal hücrenin yaşamasını teşvik etmek yoluyla tümör hücrelerine anlamlı bir avantaj sağladığı düşünülür (68).Hatta G1 fazında eksprese edilip, CDK4 ü aktive ederek G1 den S fazına hücre siklüsü değişikliklerini teşvik etmek üzere ekspres edildiği öne sürülür (106). Survivinin sahip olduğu çifte fonksiyonunun tümörün oluşması ve büyümesinde avantaj sağladığı ve survivin düzeyinin artmasının tümörler için negatif bir prognostik faktör olduğu öne sürülmektedir. Böylece survivinin aşırı ekspresyonunun oldukça kısalmış sağkalım ve kemoterapi ve radyoterapiye dirençli olan tümörlerin artmış rekürrens hızı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (86,87). Survivinin biyolojik sıvılarda mesane kanserli hastaların idrarında olduğu gibi tesbit edilebildiği bildirilmiştir. Buna ek olarak kanser hastalarının kanında dolaşan anti-survivin anikorları da teşhis amacıyla kullanılabilmektedir (79). Kalorimetrik “immunoassay” ile hücre lizadları ve çeşitli biyolojik sıvılardan insan survivininin düzeyinin tesbiti için pekçok ticari kit kullanılmaktadır. DNA hasarlayan ajanlar gibi kemoterapötik ajanları içeren pek çok faktör p53 indüksiyonu aracılığı ile survivin ekspresyonunun

baskılanmasına aracılık edebileceğinden bu ajanların kullanıldığı vakalarda söz konusu kitlerin kullanımının daha az yararlı olabileceği düşünülmektedir (107).

Çalışmamızda herhangi bir kemoterapi ya da radyoterapi tedavisi almamış metastatik olmayan beyin tümörlü hastaların serum örneklerinde survivin düzeyi ve survivin promoter -31 C>G gen polimorfizmi incelenmiştir. Çalışmamız sonucunda beyin tümörlü hastalar hücresel orijin ve histolojiye göre sınıflandırıldığında serum survivin düzeyleri açısından gruplar arası istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır. Buna göre nöroepitelyal kaynaklı tümörleri olan hastalarda survivin serum düzeyleri gerek meninks kaynaklı tümörler gerekse de sağlıklı kontrollere göre yüksek; meninks kaynaklı tümör taşıyan hastalarda ise kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Yamada ve arkadaşları (89) survivin ekspresyonu ve beyin tümörlerinin histolojik malignitesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır.Çalışmalarında tümör örnekleri malign veya benign ve gliom veya gliom dışı(nongliom) olarak dört ayrı kategoriye ayrılmış ve malign beyin tümörlerinin survivin mRNA yı benignlerden anlamlı olarak fazla ekspres ettiği bildirilmiştir.Ayrıca gliomların özellikle glioblastoma örneklerinin survivin mRNAyı nongliomlardan daha çok ekspres ettiği de rapor edilmiştir. Yamada ve ark. (89) nın çalışmasında survivin mRNA normal fetal dokuda ve fetal beyin dokusuna göre çok düşük olarak da normal erişkin beyin kalıbında ekspres edilmiş, varyantlar ise tesbit edilememiştir.

Beyin tümörlü hastalarımızı malign/benign karakteri ile beraber glial kaynaklı olma/ glial kaynaklı olmama (nonglial) durumuna göre gruplandırdığımızda gruplar arası serum survivin düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir fark saptanmıştır. Malign nonglial tümörlü hastalarda serum survivin düzeyleri malign gliallerdekine göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Malign glial tümörlü hastalarda benign nonglial, benign glial ve kontrollere göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek survivin düzeyleri saptanmıştır.

Benign nonglial tümörlü hastalarda serum survivin düzeylerinin ise kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. Malign tümör taşıyan hastalar tek grup olarak toplandığında serum survivin düzeylerinin gerek benign

gerekse de kontrollere göre daha yüksek olduğu gözlenmiş ve farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamızda beyin tümörlü hastalar taşıdıkları tümörlerin glial kaynaklı olmalarına göre değerlendirildiklerinde bu gruptaki hastaların survivin düzeyleri kontrollere göre istatistiksel anlamlılığa oldukça yakın bir şekilde yüksek; nonglial tümörlere karşılaştırıldığında ise ileri derecede istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.

Nonglial hastalarda ise serum survivin düzeyleri değerlendirildiğinde kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu bulunmuştur.

Agresif beyin tümörlerinde GBM tanılı hastalarda da serum survivin düzeylerinin kontrollere göre yüksek olduğu gözlenmiş ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Primer beyin tümörlü hastalar prognostik faktörler arasında yer alan frontal yerleşim durumuna göre değerlendirildiğinde serum survivin düzeyleri ile aralarında herhangi bir bağlantı bulunmamıştır.

Chakravarti ve arkadaşlarının (10) yaptıkları çalışmada gliom hastalarında survivin ekspresyonu semikuantatif Western blot ve dansitometri ile analiz edilmiştir ve survivin ekspresyonunun artan seviyeleri gliom hastalarının genel sağkalım sürelerinde azalma ile anlamlı olarak korele bulunmuştur. Ancak histolojik durum ile survivin ekspresyonunun korelasyonu tanımlanmamıştır. Yamada ve ark. (89) glioblastomanın da dahil olduğu çeşitli hücre dizilerinde, beyin tümör örneklerinde ve normal kalıplardan kantitatif RT-PCR ile survivin mRNA ve ilk defa survivin varyantlarının mRNA ekspresyon seviyesini her iki varyant için spesifik primer çiftleri kullanarak ölçmüşlerdir. Tümör dereceleri gözönüne alındığında beyin tümörlü hastalarda 3. veya 4. derece tümör taşıyanlarda serum survivin düzeylerinin 1. veya 2. dereceli tümörlere göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Günümüze değin yapılan çalışmalarda survivin ekspresyonunun kolorektal karsinogenezde sırasıyla adenom, düşük dereceli displazi (%2.3), yüksek dereceli displazi (%52.4) ve karsinoma (%63.3) olarak arttığı bildirilmiştir (87).

Over kanserlerinde ve pankreatik duktal adenokarsinomda da benzer sonuçlar bulunmuştur (95). Normal pankreatik kanallarda hiç ekspresyon bulunmazken survivin ekspresyonunun düşük dereceli pankreatik intraepitelyal neoplaziden yüksek dereceli lezyonlara doğru arttığı ve pankreatik duktal adenokarsinomda en yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir (94) .Over kanserlerinde de benign tümörlerden (%21.2) borderline tümörlere (%47.8) ve ovaryen karsinomalara(%51.2) survivin ekspresyonu artmış bulunmuştur (95) .Hepatosellüler ve özofagial karsinomlarda survivin ekspresyonunun hastalığın kötü gidişatı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (97,98) . Güney ve arkadaşları (108) meme kanserli hastalarda serumda ve idrarda survivin düzeylerini incelemiş normal kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ancak serum survivin düzeylerini nod pozitif hastalarda nod negatif hastalara göre anlamlı yüksek saptanmıştır. Uematsu ve ark. (109) hücre siklüsünün G2/M fazında arttığı öne sürülen survivin ekspresyonunun gliomlarda prognozla ilişkisini araştırmışlardır.Buna göre evre II ve III gliomlar sağkalım süreleri açısından incelendiğinde düşük ve yüksek survivin nükleer ekspresyon indeksleri aralarında zıt ilişkinin bulunduğunu dolayısıyla prognostik marker(belirteç) olabileceğini ileri sürmüşlerdir**.** Preusser ve ark. (110) GBM hastalarında survivinin nükleer ekspresyonunun prognoza etkisinin olmadığını gözlemişlerdir**.** Taş ve ark (111) kutanöz melanoma hastalarında serum survivin düzeylerinde kontrollere kıyasla anlamlı fark bulunmamış ancak metastatik melanoması olan hastaların serumlarında kemoterapi sonrası survivin seviyelerinin anlamlı arttığı bulunmuştur**.** Bulgularımızın gliomları da içeren çoğu kanserde gözlendiği üzere survivin mRNAsı ya da protein seviyesinin arttığına yönelik bahsettiğimiz çalışmalardaki bulgularla uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Mide kanserinde nükleer survivin ekspresyonunun iyi prognoz ile ve mesanenin transisyonel hücre karsinomlarında hastalıksız geçen sürenin uzunluğu ile ilişkili olduğuna dair sonuçlar da literatürde yer almaktadır (112,113). Survivinin transkripsiyonel seviyede ekspresyonunun büyük ölçüde kontrol altında olduğu bilinmektedir. Survivinin transkripsiyonel kontrolünde survivin promotorunun proksimal bölgesinde lokalize hücre siklüs bağımlı elementler (CDE) ve hücre siklüs homolog bölgeler (CHR) aracılığıyla olduğu öne sürülmektedir (79). Survivin molekülünü kodlayan genin promoter bölgesi içinde tanımlanmış birkaç nükleotid

polimorfizmi tanımlanmıştır. Bunlardan biri bizim çalışmamızda da araştırdığımız CDE/CHR represör bağlama bölgesinde (ATG başlangıç kodonunun ilk nükleotidine -31 baz çifti uzaklıkta) lokalize olan o bölgeye ait survivin promoter -31C>G polimorfizmidir. Bu polimorfizmin survivinin hem mRNA hem de protein seviyelerindeki aşırı ekspresyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (15). Bu amaçla biz de çalışmamızda beyin tümörleri ile kontrol grubu arasında serum survivin seviyeleri yanında survivin promoter -31C>G gen polimorfizmini de araştırdık. Gazouli ve ark. (114) 312 sporadik kolorektal kanser hastasının biyopsi örneklerinde ve 362 sağlıklı kontrolde yaptıkları çalışmalar sonucunda survivin promoter -31C>G gen polimorfizmine ait genotip frekanslarını Yunan populasyonunda sağlıklı kontrollerde sırasıyla GG %33.98, GC %45.03, CC %20.99 olarak tesbit etmişlerdir. Cheng ve ark. (115) çalışmalarında Çin populasyonunda sağlıklı kontrolllerde survivin promoter -31C>G genotip frekanslarını GG % 46.26, GC % 41.8, CC % 11.94 olarak saptanmıştır. Jang ve ark. (116) çalışmalarında Kore populasyonunda sağlıklı kontrolllerde survivin promoter -31C>G genotip frekansları GG % 24.4, GC % 50.3, CC % 25.3 olarak saptanmıştır. Araştırıcılar Borbely ve ark (105) Macar populasyonunda sağlıklı kontrollerde survivin promoter -31C>G genotip frekanslarını GG % 39, GC % 47, CC %14 ; allel frekanslarını ise G alleli için % 63, C alleli için % 37 olarak saptamışlardır.

Çalışmamızdaki sağlıklı kontrollerde survivin promoter -31C>G genotip frekansları GG % 47.7, GC % 40, CC %12.3; allel frekansları ise G alleli için % 67.7, C alleli için % 32.3 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre survivin promoter -31C>G gen polimorfizmine ait Türk sağlıklı kontrollerinde saptadığımız genotip ve allel frekanslarının Çin ve Macar populasyonlarındaki verilerle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda primer beyin tümörlü hastalar ve kontrol grubu arasında survivin promoter -31C>G genotip ve allel dağılımları açısından bir fark olmadığı saptanmıştır. Hücresel orijin ve histolojiye göre primer beyin tümörlü hastalarımızı grupladığımızda meninks tümörlü hastalarımızda survivin promoter -31C>G gen polimorfizmine ait C alleli taşıma durumu kontrol grubuna göre yüksek ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.Hastalarımızı glial kaynaklı olma ve olmama açısından değerlendirdiğimizde gruplar arasında survivin promoter -31C>G genotip ve allel frekansları açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır.Bu durumun GBM tanılı

hastalar açısından da geçerli olduğu görülmüştür. Glial ve nonglial hastalar malign ve benign olma durumlarına göre birlikte değerlendirildiklerinde malign nonglial hastalarda C alleli taşıma durumu kontrol grubuna göre daha yüksek olup fark istatistiksel anlamlıydı. Buna karşın malign ve benign tümör taşıyan hastalar arasında ise survivin promoter -31C>G genotip ve allel dağılımları açısından istatistiki anlamlı farka rastlanmamıştır.

Primer beyin tümörlü hastalarımız iyi prognostik parametre olarak kabul edilen tümörün frontal yerleşimi açısından ele alındığında frontal dışı yerleşimli tümörü olan hastalarda gerek G alleli gerekse GG fenotipi frekansı, frontal yerleşimli tümörü olan gruba göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır.

Tümör evreleri erken (evre I, II) ile ileri (evre III ve IV) evreler olarak survivin promoter -31C>G genotip ve allel frekansı açısından incelendiğinde anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır. Nöroepitelyal tümör taşıyan, glial hücreli hastalarda survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi ile cins, yaş, tümör derecesi, malign/benign olma durumu, frontal yerleşim parametreleri arasında herhangi bir anlamlı ilişkiye rastlanmamış olup bu gruptaki hastalar sigara kullanımı açısından incelendiklerinde sigara kullanan hastaların CC genotipini kullanmayanlara göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük frekansta taşıdıkları görülmüştür.

Meninks tümörlü hastalarda ise cins, sigara kullanımı, tümör derecesi, malign/benign olma durumu, frontal yerleşim parametreleri ile survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır buna karşın survivin promoter -31C>G gen polimorfizmine ait G alleli frekansının 45 yaştan küçük hastalarda 45 yaştan büyük olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük dolayısıyla CC genotipinin yüksek olduğusaptanmıştır. Tanı sırasında 45 yaş altında olma durumunun bazı araştırmalarda hastalığın prognozu ile alakalı olduğu bildirilmiştir *(*117,118*).* Malign tümörlü hastalarda survivin promoter -31G>C gen polimorfizmi ile hastalık parametreleri arasında bulabildiğimiz tek anlamlı farklılık C alleli frekansının frontal dışı yerleşimli hastalarda daha yüksek olmasıdır.Gerek benign (glial ve nonglial) tümörlü gerekse de nonglial (benign ve malign) tümörlü hastalar survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi açısından kendi içlerinde değerlendirildiklerinde, bahsettiğimiz hastalık

parametreleri ile aralarında herhangi bir anlamlı ilişkiye rastlanmamıştır. GBM taşıyan hastalarda survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi incelendiğinde 45 yaş altı olan hastalarda GG genotipinin 45 yaş üstü hastalara göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek görüldüğü gözlenmiştir. Aynı grup tümörlerde frontal dışı yerleşimli olanlarda C alleli taşıma durumunun frontal yerleşimlilere göre ileri derecede olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Diğer hastalık parametreleri ile survivin promoter ile arasında herhangi anlamlı bir veriye rastlanmamıştır.

Literatürde survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi ile çeşitli kanserlere yatkınlık ya da hastalığın prognostik parametreleriyle ilişkilerini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.Bunlardan bir tanesi Yang ve arkadaşlarının (119) özofagus skuamöz hücreli karsinom ile survivin promoter -31C>G gen polimorfizmini araştırdıkları çalışmadır. Bu çalışmada C allelini de içeren bir haplotidi taşımanın özofagus skuamöz hücreli karsinoma olma riskini etkileyebileceği öne sürülmüştür.

Wang ve ark. (120) Tayvan populasyonunda ürotelyal karsinom riski ile survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi araştırmışlar çalışma sonucunda C/G genotipi ve C/C genotipi taşıyan bireylerdeki risk G/G genotipi taşıyan bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı artmış riske sahiptir. Aynı çalışmada 30 paket /yıldan daha fazla sigara içenler arasında C alleli taşıyan bireylerdeki riski GG genotipi taşıyan bireylerdekinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın bulgularına göre kasa invazyon yapmış yüksek evreli tümörler taşıyan bireylerdeki CC genotipi frekansı GG genotip taşıyan bireylerdekine göre anlamlı derecede daha yüksek olarak saptanmştır.Çalışma sonunda araştırıcılar survivin promoter -31C>G gen polimorfizminin hem hastalık riski hem de klinik tumor evresi ve patolojik tumor derecesi ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Gazouli ve ark. (114) çalışmalarında kolorektal kanserli hastalarda C alleli ve CC genotip frekansını sağlıklı bireylere göre ileri derecede anlamlı yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Genotipe göre survivin mRNA seviyelerini karşılaştırdıkları bu çalışmada homozigot CC genotipinin survivin mRNA düzeyini G alleli taşıyan bireylerdekine göre 1.6 kat daha fazla arttırdığını bildirmişlerdir.

Yang ve Zhu ile ark. (121) Çin populasyonunda yaptıkları çalışmada mide kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında hastalık riski ile survivin G alleli taşıma

durumu arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır. Ancak G alleli taşıma durumunun distal mide kanseri ve iyi diferansiye tümör riski ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Cheng ve ark. (115) 96 mide kanseri ve 67 sağlıklı bireyden alınan periferik kan örneklerinde survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi arasında survivin C alleli ve CC genotipi frekansının mide kanserli hastalarda sağlıklı kontrollerden anlamlı daha yüksek olduğunu ancak genotiplerle birlikte survivin mRNA düzeyini araştırdıklarında arada herhangi bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

Wagner ve ark. (122) survivin promoter -31C>G gen polimorfizmi ile akut myeloid lösemi gelişimi arasında önemli bir bağlantının olmadığını öne sürmüşlerdir.

Jang ve ark. (116) akciğer kanserli hastalar ve kontrol grubu arasında survivin promoter -31C>G genotip dağılımını istatistiksel olarak farklı bulmuşlardır , çalışmaları sonucunda en azından bir G alleli taşıyan bireylerde CC genotipi taşıyanlara göre istatistiksel olarak azalmış riskin var olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada G allelinin C allelinden anlamlı derecede daha düşük promoter aktivitesine sahip olduğu rapor edilmiştir.

Borbely ve ark. (105) survivin promoter -31C>G gen polimorfizminin servikal kanser gelişiminde artmış risk ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Derin ve ark. (123) küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda serum survivin seviyeleri normal kontrollerden farklı bulmamış ancak kemoterapi sonrası kemoterapiye cevap veren hasta grubunda serum survivin seviyelerinde anlamlı azalma tesbit etmişlerdir. Beyin tümörlü hastalarımız hücresel orijin ve histolojiye göre gruplandığında survivin promoter -31C>G genotip ve serum survivin düzeyleri arasında gruplar arası istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır.Ancak hastalar malign/benign özelliği ile beraber glial kaynaklı olup olmamaya göre sınıflandırıldığında malign glial tümörlü GG genotipi taşıyan hastalarda serum survivin düzeyleri, aynı genotipe sahip gerek benign nonglial gerekse de kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Malign ve benign karakterli tümörlü hastalar birbirleriyle survivin promoter -31C>G genotipi ve serum survivin düzeyleri açısından incelendiğinde GG genotipine sahip malign tümörlü hastalarda serum survivin düzeyinin benign tümörlü hastalara göre daha yüksek olduğu gözlenmiş olup fark istatistiksel anlamlılığa yakın

bulunmuştur. Aynı durum GG genotipli glial tümörlü hastalarda da gözlenmiştir.Agresif glial tümörlerden GBM taşıyan GG genotipli hastalarda serum survivin düzeylerinin aynı genotipi taşıyan kontrollere göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

İleri evre malign tümörlü hastalarda GG genotipi taşıyan hastalarda serum survivin düzeylerinin erken evre tümörü olan GG genotipli hastalara göre istatistiksel ileri derecede anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Hücresel orijin ve tümör histolojisine göre grupladığımız primer beyin tümörlü hastalar her bir grup içinde survivin promoter -31C>G gen polimorfizmine ve serum survivin düzeyi ile birlikte değerlendirmeye alınmıştır.Buna göre nöroepitelyal kaynaklı tümör taşıyan hastalarda GG genotipi taşımanın ileri evre tümörlü hastalarda yüksek survivin düzeyleri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Aynı grup tümörlerde C alleli taşıyan ve frontal bölge yerleşimli tümöre sahip hastalarda serum survivin düzeylerinin aynı genotipli frontal bölge dışı tümörü olan hastalardakine göre yüksek olduğu bulunmuştur.

Meninks kaynaklı tümörlere bakıldığında survivin promoter -31C>G allellerine göre serum survivin düzeyleri cins,tümör derecesi,tümör yerleşimi, malign/benign olma durumu ile ilişkili bulunmamıştır. Ancak bu grup tümörlerde C alleli taşıyan ve 60 yaş altındaki hastalarda 60 yaş üsü olanlara göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. Malign tümör taşıyan 60 yaş altı hastalardan C alleli taşıyanlarda serum survivin düzeyleri 60 yaş üstünde olanlara göre istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek olduğu saptanmıştır. Yine C alleli taşıyan ileri evre malign tümörlü hastalarda serum survivin düzeyinin ileri derecede istatistiksel anlamlı olarak erken evre tümörlü hastalara göre yüksek olduğu bulunmuştur. Malign frontal bölgede yerleşmiş tümörlü C alleli taşıyan hastalarda serum survivin düzeylerinin, C alleli taşıyan frontal bölge dışı tümörü olan hastalardan daha yüksek olduğu görülmüştür.

Glial tümör taşıyan ileri evre tümöre sahip ve GG genotipli hastaların aynı genotipi taşıyan erken evre tümörlü hastalara göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek serum survivin düzeylerine sahip oldukları gözlenmiştir. Nonglial kaynaklı tümör taşıyan hastalar kendi içlerinde survivin promoter -31C>G genotiplerine göre incelendiğinde serum survivin düzeyleri arasında cinsiyet, tümör evresi, frontal bölge yerleşimi açısından anlamlı bir fark gözlenmezken sigara içen ve C alleli taşıyanlarda serum survivin düzeyleri, içmeyen ve aynı genotipli hastalara göre istatistiksel anlamlı

düşük bulunmuştur. Bu grup tümörlerde en yüksek serum survivin düzeyi C alleli taşıyan ve 60 yaş altı hastalarda gözlenmiş olup 60 yaş üstü hastalara göre istatistiksel olarak da anlamlı yüksek bulunmuştur. Benign tümör taşıyan hastalar survivin promoter -31C>G alleleri açısından serum survivin düzeyleri ile birlikte incelendiğinde cinsiyet,yaş, tümör evresi, frontal bölge yerleşimi, glial/ nonglial kaynaklı olma durumu açısından herhangi anlamlı bir veriye rastlanmamıştır.

İnsan malignitelerinde artmış survivin ekspresyonunun tümör agresivitesi ve kötü prognoz ile ilgili olabileceği ve karsinogenezde kritik bir rol oynadığı öne sürülmektedir. Survivin promoter -31C>G gen polimorfizminin CDE/CHR bağlanma bölgesinde olması sebebiyle CDE/CHR represör motifine bağlanmadaki fonksiyonel bozukluk nedeniyle hücre döngüsü bağımlı survivin geninin transkripsiyonunu değiştirdiği ve hem survivin mRNAsını hem de protein seviyesini etkilediği düşünülmektedir.

Sonuç olarak diyebiliriz ki;

Nöroepitelyal kaynaklı tümörleri olan hastalarda survivin serum düzeyleri hem meninks kaynaklı tümörlere hem de sağlıklı kontrollere göre yüksek; meninks kaynaklı tümör taşıyan hastalarda ise kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olması,

Malign tümör taşıyan hastalarda, serum survivin düzeyleri gerek benign gerekse de kontrollere göre daha yüksek , yine bu değerlerin glial tumor taşıyan hastalarda nongliallere gore yüksek, nonglial hastalarda ise konrollere göre düşük bulunması,

Çalışmamızda beyin tümörlü hastalar ve kontrol grubu arasında survivin promoter -31C>G genotip ve allel dağılımları açısından bir fark bulunmaması,

Meninks tümörlü ve malign nonglial hastalarımızda survivin promoter -31C>G gen polimorfizmine ait C alleli taşıma durumu kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu, CC genotipinin frekansının 45 yaştan küçük hastalarda 45 yaştan büyük olanlara göre yüksek olarak saptanması,

Malign glial tümörlü GG genotipi taşıyan hastalarda serum survivin düzeyleri, aynı genotipe sahip gerek benign nonglial gerekse de kontrollere göre yüksek bulunması,

İleri evre malign tümörlü hastalarda GG genotipi taşıyan hastalarda serum survivin düzeylerinin erken evre tümörü olan GG genotipli hastalara göre yüksek bulunması,

Glial tümör taşıyan ileri evre tümöre sahip ve GG genotipli hastaların aynı genotipi taşıyan erken evre tümörlü hastalara göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek serum survivin düzeylerine sahip olduklarının gözlenmesi bulguları ışığında, Survivin promoter -31C>G gen polimorfizminin, primer beyin tümörlerinde serum survivin düzeyleri ile beraber histolojik tümör tipi, malign ya da benign olma ile glial veya non-glial kaynaklı olma durumları ile ilişkili olduğu izlenimi elde edilmiştir.

Çalışmamız sonunda elde edilen verilerin, beyin tümörlerinde genetik riski ve tümör ilerleyişini değerlendirmede yardımcı bir klinik değeri olabileceği ve primer beyin tümörleri altında yatan mekanizmalara yeni bakış açıları kazandırabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1.Rudin CM and Thompson CB. Apoptosis and disease: regulation and clinical relevance of programmed cell death. *Annu Rev.Med* 1997;**48**:267-281.

2.Colnaghi R, Connell CM, Barrett RM, Wheatley SP. Separating the anti-apoptotic and mitotic roles of survivin. *J Biol Chem.* 2006;**281**:33450-6.

3.Goldsmith KC, Hogarty MD. Targeting programmed cell death pathways with experimental therapeutics:oppurtunities in high-risk neuroblastoma. *Cancer Letters* 2005;**228**:133-141.

4.Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; **3**:917-921.

5.Adida C, Berrebi D, Peuchmaur M, Reyes-Mugica M, Altieri DC.Anti-apoptosis gene, survivin, and prognosis of neuroblastoma. *Lancet* 1998;**351**:882-883.

6.Kawasaki H, Altieri DC, Lu C., Toyoda M, Tenjo T, Tanigawa N.Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;**58**:5071-74.

7.Simon ve ark.Molecular genetics of meningiomas.*Neurosurgery* 2007; **60**:797-798.

8.Xie D, Zeng YX, Wang, HJ, Wen JM, Tao Y, Sham JST ve Guan XY.Expression of cytoplasmic and nuclear Survivin in primary and secondary human glioblastoma.

British Journal of Cancer 2006 **;94**: 108-114.

9. Konstantinidou AE, Korkolopoulou P,ve Patsouris E.Apoptotic markers for primary brain tumor prognosis, *J.of Neuro-oncology* 2005; **72**:151-156.

10. Chakravarti A, Noll E, Black PM,ve ark.Quantitatively determined survivin expression levels are of prognostic value in human glioms. *J Clin Oncol* 2002;**20**:1063–1068.

11. Ashhab Y, Alian A, Polliack A, ve ark.Two splicing variants of a new inhibitor of apoptosis gene with different biological properties and tissue distribution pattern. *FEBS Lett* 2001;**495**:56–60.

12. Soling A, Plugge EM, Schmitz M, Weigle B, Jacob R, Illert J, Holzhausen HJ, Rainov NG. Autoantibodies to the inhibitor of apoptosis protein survivin in patients with brain tumors. *Int J Oncol.* 2007; Jan;**30(1)**:123-8.

13. Altieri D.C.Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003;**3**:46-54.

14. Altieri DC. ve Marchisio C.Surviving apoptosis:an interloper between cell death and cell proliferation. *J. Lab.Invest* 1999;**79**:1327-1333.

15. Xu Y, Fang F, Ludewig G,ve ark. A mutation found in the promoter region of the human survivin gene is correlated to overexpression of survivin in cancer cells. *DNA Cell Biol* 2004;**23**:527-37.

16. Zhen HN,Zhang X,Hu PZ,Yang TT, Fei Z, Zhang JN ve ark. Survivin expression and its relation with proliferation, apoptosis, and angiogenesis in brain gliomas.*Cancer.* 2005;**104(12**):2775-83.

17.Sternberg SS. *Central Nervous System. Histology for Pathologists,* 2nd ed.,Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997, 243-285.

18. Ironside CV ,Moss TH, Louis DN. *An introduction to tumours of the nervous system. Diagnostic Pathology of Nervous System Tumours,* 1st ed., London: Churchill-Livingstone; 2002, 1-16.

19. Lusis E. ve Gutmann D. Meningioma:an update, *Current Opinion in Neurology* 2004;**17**:687-692.

20. Wrensch M, Minn Y, Chew T, Bondy M, Berger MS. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro Oncol.* 2002; **4(4)**:278-299

21. Chang SM, Parney IF, Huang W ve ark. Glioma Outcomes Project Investigators. Patterns of care for adults with newly diagnosed malignant glioma. *JAMA.* 2005;**293(5)**:557-564

22. Simpson JR, Horton J, Scott C. Influence of location and extent of surgical resection on survival of patients with glioblastoma multiforme: results of three consecutive Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) clinical trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993;**26(2**):239-244.

23.Laws ER, Parney IF, Huang W, ve ark.; for the Glioma Outcomes Investigators. Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant gliom: data from the Gliom Outcomes Project. *J Neurosurg.* 2003;**99(3):**467-473.

24.Krex D, Klink B, Hartmann C, ve ark.; for the German Glioma Network. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain*. 2007;**130(pt 10**):2596-2606.

25.Chandana S. R., Movva S.,Arora M., ve Singh T.Primary Brain Tumors in Adults *Am Fam Physician.* 2008;**77(10):**1423-1430

26. Riemenschneider,M.J. Perry A., ve Reifenberger G., Histological classifi cation and molecular genetics of meningiomas , *Lancet Neurol* 2006; **5**: 1045–54

27. Kleihues P., Louis DN, Wiestler OD, Burger PC, Scheithauer BW:WHO grading, içinde Louis D.N.,Ohgaki H.,Wiestler O.D., Cavenee W.K. (editörler): *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*.4th ed. Lyon: IARC 2007,

pp 8-11.

28. Louis DN, Scheithauer BW, Budka H, von Deimling A, Kepes JJ:Meningiomas, içinde Kleihues P, Cavenee WK (editörler): *WHO Classification of Tumours*: *Pathology and Genetics of Tumours of the Nervous System*. 3rd ed.Lyon: IARC Press, 2000, pp 176–184.

29. Perry A, Gutmann DH, Reifenberger G: Molecular pathogenesis of meningiomas. *J Neurooncol* 2004;**70**:183–202,.

30. Sanson M ve Cornu P. Biology of meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)* 2000;**142**:493–505,

31. Perry A, Scheithauer BW, Staff ord SL, Lohse CM, Wollan PC. “Malignancy” in meningiomas: a clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer* 1999**; 85**: 2046–56.

32. Commins, D., Roscoe D.A., ve Burnett, E.M.Review of meningioma histopathology ,*Neurosurg. Focus* 2007;**23(4):E3**,1-9.

33.Boström J, Meyer-Puttlitz B, Wolter M, ve ark. Alterations of the tumor suppressor genes CDKN2A (p16(INK4a)), p14(ARF),CDKN2B (p15(INK4b)), and CDKN2C (p18(INK4c)) in atypical and anaplastic meningiomas. *Am J Pathol* 2001; **159**: 661–69.

34.Bates S, Phillips AC, Clark PA, ve ark. p14ARF links the tumour suppressors RB and p53. *Nature* 1998; **395**: 124–25.

35.Wang JL, Zhang ZJ, Hartman M, Smits A, Westermark B, Muhr C, Nister M: Detection of TP53 gene mutation in human meningiomas: A study using immunohistochemistry, polymerase chain reaction/single-strand conformation polymorphism and DNA sequencing techniques on paraffin-embedded samples. *Int J Cancer* 1995; **64**:223–228.

36.Kleihues P., Burger PC, Aldape KD,Brat DJ,Biernat W,Bigner DD ve ark.Glioblastoma içinde Louis D.N.,Ohgaki H.,Wiestler O.D., Cavenee W.K. (editörler*): WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*.4th ed. Lyon: IARC 2007, 33-49.

37.Bayani J, Pandita A, ve Square J. A. Molecular cytogenetic analysis in the study of brain tumors:findings and applications *Neurosurg Focus* 2005;**19 (5):E1**, 1-36.

38.Fuller C.E.,ve Perry A.:Molecular diagnostics in central nervous system tumors, *Adv. Anat. Pathol*. 2005;**12**, 180-194.

39. Fisher JL, Schwartzbaum JA, Wrensch M, Berger MS. Evaluation of epidemiologic evidence for primary adult brain tumor risk factors using evidence-based medicine. *Prog Neurol Surg.* 2006;**19**:54-79.

40.Watanabe, K. ,Tachibana O., Sata K., Yonekawa Y.,Kleihues P.,Ohgaki H.Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas.*Brain Pathol* 1996**;6**:217-223.

41.Ohgaki H., Dessen P., Jourde B., Horstmann S., Nishikawa T., Di Patre P-L ve ark. Genetic Pathways to Glioblastoma :A Population-Based Study. *Cancer Research* 2004;**64**, 6892-6899.

42.Pietsch T, Wiestler OD.Molecular neuropathology of astrocytic brain tumors.*J Neurooncology* 1997; **35**:211-212.

43.Ichimura, K., Ohgaki H., ve Kleihues P.Molecular pathogenesis of astrocytic tumours.*J. Neurooncology* 2004;**70**: 137-160.

44.Simmons ML, Lamborn KR,Takahashi M ve ark. Analysis of complex relationships between age,p53,epidermal growth factor receptor,and survival in glioblastoma patients.*Cancer Res* 2001;**61**:1122-8.

45.Schmidt MC., Antweiler S.,Urban N ve ark. Impact of genotype and morphology on the prognosis of glioblastoma.*J Neuropathol Exp Neurology* 2002; **61**:321-8.

46.Birner P.,Piribauer M.,Fischer I,Brigitte G.,Marosi C.,Ungersböck K ve ark. Prognostic relevance of p53 protein expression in glioblastoma, *Oncology Reports* 2002;**9**: 703-707.

47.Korshunov A.,Golanov A.,Sycheva R.,Pronin I.:Prognostic value of tumour associated antigen immunureactivity and apoptoz in cerebral glioblastomas: an analysis of 168 cases.*J.Clin.Pathol.* 1999;**52**:574-580.

48.Heesters MA,Koudstaal J,Go KG,Moleenaar WM. Analysis of proliferation and apoptosis in brain glioms:prognostic and clinical value .*J.Neurooncology* 1999;**44**:255-266.

49.Schiffer D,Cavalla P,Migheli A,Chio A, Giordina MT, Marino S, ve ark.Apoptosis and cell proliferation in human neuroepithelial tumors.*Neurosci Lett* 1995;**195**: 81-84.

50.Kuriyama H.,Lamborn KR, O'Fallon JR, Iturria N,Sebo T,Schaefer PL ve ark. Prognostic significance of an apoptotic index and apoptosis/proliferation ratio for patients with high-grade astrocytomas.*Neuro-oncol* 2002;**4**: 179-186.

50..Jäättelä M. MINIREVIEW:Escaping Cell Death: Survival Proteins in Cancer

Experimental Cell Research 1999;**248**, 30–43 .

52.Thornberry, N. A., and Lazebnik, Y. Caspases: Enemies within. *Science* 1998; **281**, 1312–1316.

53. Boldin, M. P., Goncharov, T. M., Goltsev, Y. V., and Wallach,D. Involvement of MACH, a novel MORT1/FADD-interacting protease, in Fas/APO-1- and TNF receptor-induced cell death. *Cell* 1996;**85**, 803–815.

54.Muzio, M., Chinnaiyan, A. M., Kischkel, F. C., O'Rourke, K.,Shevchenko, A., Ni, J., Scaffidi, C., Bretz, J. D., ve ark.FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to CD95 (Fas/APO-1) death-inducing signaling complex. *Cell* 1996**;85**, 817–827.

55.Li, P., Nijhawan, D., Budihardjo, I., Srinivasula, S. M., Ahmad, M., Alnemeri, E. S., and Wang, X.. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates apoptotic protease cascade. *Cell* 1997**;91**, 479–489.

56.Zou, H., Henzel, W. I., Liu, X., Lutschg, A., and Wang, X. (). Apaf-1, a human protein homologous to C. elegans CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell* 1997;**90**, 405–413.

57.Ziegler D.S., Andrew L. K, and Kieran M W .Anti-Apoptosis mechanisms in malignant glioms, *J Clin Oncol* , 2008;**26**,493-500.

58. Debatin K-M: Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2004;**53**:153-159.

59. Schmitt CA: Senescence, apoptosis and therapy: Cutting the lifelines of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;**3**:286-295.

60.Kam PCA, ve Ferch NI:Apoptosis: Mechanisms and clinical implications, *Anesthesia*, 2000,**55**,1081-1093.

61. Degterev A, Boyce M, Yuan J: A decade of caspases. *Oncogene* 2003;**22**:8543-8567.

62. Klein S, McCormick F, Levitzki A: Killing time for cancer cells. *Nat Rev Cancer* 2005;**5**:573-580.

63. Danial NN, Korsmeyer SJ: Cell death: Critical control points. *Cell* 2004;**116**:205-219.

64.O'Neill J, Manion M, Schwartz P, et al: Promises and challenges of targeting Bcl-2 anti-apoptotic proteins for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2004;**1705**: 43-51,

65.Goyal, L. Cell death inhibition: keeping caspases in check. *Cell* 2001;**104**, 805–808 .

66.Salvesen, G. S. & Duckett, C. S. IAP proteins: blocking the road to death's door. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2002;**3**, 401–410 .

67..LaCasse, E. C., Baird, S., Korneluk, R. G., and MacKenzie, A. E. The inhibitors of apoptoz (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene*, 1998;**17**: 3247–3259.

68.Li Fengzili., Ambrosini G., Chu E.Y., Plescia J, Tognin S.,. Carlomarchisio P, Altieri D.C., Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998 **396:**580–584,

69. Achim T., Rieger M., Reber F. Lindermann D, Weigle B., Diestelkoetter-Bachert P., ve ark.Localization, dynamics and function of survivin revealed by expression of functional survivinDsRed fusion proteins in the living cell, *Mol. Biol. Cell* 2003; **14:**

78–92.

70.Skoufias DA, Mollinari C., Lacroix F.B., Margolis R.L.Human survivin is a kinetochore-associated passenger protein, *J. Cell Biol*. 2000;**151:**1575–1581

71.Uren A.G., Wong L., Pakusch M., Fowler K.J., Burrows F.Z., Vaux D.L., ve Choo K.H. Survivin and the inner centromeres and mitotic spindle checkpoint by survivin, *Nature* 1998; **396** : 580–583.

72...Badie, C., Itzhaki, J. E., Sullivan, M. J., Carpenter, A. J. ve Porter, A. C. Repression of CDK1 and other genes with CDE and CHR promoter elements during DNA damage-induced G(2)/M arrest in human cells. *Mol. Cell. Biol.* 2000;**20**:2358–2366

73. Kobayashi, K., Hatano, M., Otaki, M., Ogasawara, T.ve Tokuhisa, T. Expression of a murine homologue of the inhibitor of apoptosis protein is related to cell proliferation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999;**96**: 1457–1462

74.Fortugno, P. Wall NR, Giodini A, O'Connor DS, Plescia J, Padgett KM, ve ark. Survivin exists in immunochemically distinct subcellular pools and is involved in spindle microtubule function. *J. Cell Sci.*2002, **115**, 575–585

75.Tamm, I., Wang, Y., Sausville, E., Scudiero, D. A., Vigna, N., Oltersdorf, T., and Reed, J. C. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res.*,1998; **58***:*5315–5320,

76.. Cohen, G. M. Caspases: the executioners of apoptosis.*Biochem. J.*,1997; **326***:* 1–16,

77.Song Z.,. Yao X,ve Wu M. Direct interaction between SMAC/DIABLO is essential for anti-apoptotic activity of survivin during taxol-induced apoptozsis, *J. Biol. Chem.* 2003;**278** :23130–23140.

78.Yamamoto H., Ngan CY ve Monden M.Cancer cells survive with survivin, *Cancer Sci*, 2008 , **99 (9)** , 1709–1714.

79.Altieri D.C.The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy, *Trends Mol.Med.*2001;**12**:542-547.

80 Wang Z., Fukuda S. ve Pelus L.M.Survivin regulates the p53 tumor suppressor gene family, *Oncogene* 2004;**23**:8146–8153.

81. Mirza A.,. McGuirk M, Hockenberry T.N., Wu Q., Ashar H., S. Black, ve ark. Human survivin is negatively regulated by wild type p53 and participate in p53-dependent apoptotic pathway, *Oncogene* 2002**,2** :2613–2622.

82.. Sarela A.I, Verveke C.S., Ramsdale J., Davis C.I., Markham A.F., ve Guillou P.J. Expression of survivin, a novel inhibitor of apoptosis and cell cycle regulatory protein, in pancreatic adenocarcinoma, *Br. J. Cancer* 2002;**86** :886–892.

83.C-D. Lu, D.C. Altieri, N. Tanugawa. Expression of novel antiapoptotic gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas, *Cancer Res*. 1998;**58** :1808–1812.

84.Sah N.K, Khan Z., Khan G.J.,.Bisen P.S Structural, Functional, Theraupeutic Biology of Survivin, (Mini review) *Cancer Letters* 2006;**244** : 164–171

85 Tetsuhisa Y., Nobuhiko T., The role of survivin as a new target of diagnosis and treatment in human cancer, *Med. Electron.Microsc.* 2001,**34**: 12–20.

86. Takai N., Miyazaki T.,. Nishida M, Nasu K., I. Miyakawa,Survivin expression correlates with clinical stage, histological grade, invasive behavior, and survival rate in endometrial carcinoma, *Cancer Lett*. 2002;**184** : 105–116.

87.Kawasaki H, Toyoda M, Shinohara H J. Okuda, I. Watanabe, T. Yamamoto *ve ark.* Expression of survivin correlates with apoptosis , proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis. *Cancer* 2001; **91**: 2026–32

88.Mahotka, C., Wenzel, M., Springer, E., Gabbert, H. E. Ve Gerharz, C. D. Survivin-ΔEx3 and survivin-2B: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties. *Cancer Res.* 1999; **59**: 6097–6102 .

89.Yamada Y., Kuroiwa, Nakagawa T., Kajimoto Y, Dohi T, Azuma H ve ark., Transcriptional expression of survivin and its splice variants in brain tumors in humans *J Neurosurg* 2003; **99**:738–745.

90.Mahotka C, Krieg T, Krieg A, et al: Distinct in vivo expression patterns of survivin splice variants in renal cell carcinomas. *Int J Cancer* 2002**,100**:30–36.

91.Konno R., Yamakawa H., Ito K., Sato S.,. Yajima A, Expression of survivin and bcl2 in the normal human endometrium, *Mol. Hum. Report* 2000 ;**6:**529–534.

92.Endoh A., Asanuma K., Moriai R., Yamada M., Koyanagi Y., Sato T., ve ark.Expression of survivin mRNA in CD34C cell, *Clin. Chim. Acta* 2001;**306**: 149–151.

93.Fukuda S, Pelus LM. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adults tissues. *Mol Cancer Ther* 2006; **5**: 1087–98.

94.Bhanot U, Heydrich R, Moller P, Hasel C. Survivin expression in pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN): steady increase along the developmental stages of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2006; **30**: 754–9.

95.Sui L, Dong Y, Ohno M, Watanabe Y, Sugimoto K, Tokuda M. Survivin expression and its correlation with cell proliferation and prognosis in epithelial ovarian tumors. *Int J Oncol* 2002; **21**: 315–20.

96.Sarela AI, Macadam RCA, Farmery SM, Markham AF, Guillou PJ. Expression of the antiapoptosis gene, survivin, predicts death from recurrent colorectal carcinoma. *Gut* 2000; **46**: 645–50.

97. Ikeguchi M, Kaibara N. Survivin messenger RNA expression is a good prognostic biomarker for oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2002; **87**: 883 –7.

98.Ikeguchi M, Ueda T, Sakatani T, Hirooka Y, Kaibara N. Expression of survivin messenger RNA correlates with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Diagn Mol Pathol* 2002; **11**: 33– 40.

99.Monzo M, Rosell R, Felip E, et al: A novel anti-apoptoz gene: reexpression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers. *J Clin Oncol* 1999;**17**:2100–2104,

100.Mori A, Wada H, Nishimura Y, Okamoto T, Takemoto Y, Kakishita E.Expression of the antiapoptoz gene survivin in human leukemia. *Int J Hematol* 2002; **75**: 161–5.

101.Kato J, Kuwahara Y, Mitani M ve ark. Expression of survivin in esophageal cancer: correlation with the prognosis and response to chemotherapy. *Int J Cancer* 2001;

95: 92–5.

102.Zaffaroni N, Pennati M, Colella G ve ark. Expression of the anti-apoptotic gene survivin correlates with taxol resistance in human ovarian cancer. *Cell Mol Life Sci* 2002; **59**: 1406–12.

103.Rodel F, Hoffman J, Distel L ve ark. Survivin as a radioresistance factor, and prognostic and therapeutic target for radiotherapy in rectal cancer. *Cancer Res* 2005; **65**: 4881–7.

104.Miller SA.,Dykes DD.,Polesky HS,Simples salting out procedure for extracting DNA from nucleated cells.*Nucleic Acid Research* 1988,**16**:1215-1219.

105. Borbely AA, Murval M, Szarka K, Konya J, Gergely L, Hernadi Z, Veress G: Survivin promoter polymorphism and cervical carcinogenesis *Journal of Clinical Pathology* 2007;**60**:303-306.

106.Ito T, Shiraki K, Sugimoto K, et al: Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000;**31**: 1080–1085.

107.Smith M.L.,SeoY.R. p53 regulation of DNA excision repair pathways, *Mutagenesis* 2002;**17** : 149–156

108. Güney N, Soydine HO, Derin D, Camlica H, Duranyildiz D, Yasasever V, Topuz E.Serum and urine survivin levels in breast cancer.*Med Oncol.* 2006;**23(3**):335-40.

109. Uematsu M, Ohsawa I, Aokage T, Nishimaki K, Matsumoto K, Takahashi H, Asoh S, Teramoto A, Ohta S. Prognostic significance of the immunohistochemical index of survivin in gliom: a comparative study with the MIB-1 index. *J Neurooncol.* 2005;**72(3):**231-8.

110.Preusser M.,Gelpi E.,Matej R, Dieckmann K. ve ark. No prognostic impact of survivin expression in glioblastoma,*Acta Neuropathol* 2005;**109**:534-538.

111. Taş F, Duranyildiz D, Argon A, Oguz H, Camlica H, Yasasever V, Topuz E.Serum bcl-2 and survivin levels in melanoma. *Melanoma Res.* 2004;**14(6):**543-6.

112. Okada E, Murai Y, Matsui K, Isizawa S, Cheng C, Masuda M, Takano Y. Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of favorable prognosis in gastric cancer patients, *Cancer Lett.* 2001 ;**163** :109–116.

113.Lehner R,Lucia MS,Jarboe EA,Orlicky D,Shroyer AL,McGregor JA,Shroyer KR. Immnunohistochemical localization of the IAP protein survivin in bladder mucosa and translational cell carcinoma.*Appl Immunohistochem Mol Morphol*.2002;**10(2):**134-8.

114. Gazouli M, Tzanakis N, Rallis G, Theodoropoulos G, Papaconstantinou I, Kostakis A, Anagnou NP, Nikiteas N. Survivin -31G/C promoter polymorphism and sporadic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2009;**24(2):**145-50.

115. Cheng ZJ, Hu LH, Huang SJ. Correlation of -31G/C polymorphisms of survivin promoter to tumorigenesis of gastric carcinoma. *Ai Zheng.* 2008;**27(3):**258-63.

116. Jang JS, Kim KM, Kang KH, Choi JE, Lee WK, Kim CH, Kang YM, Kam S, KimIS, Jun JE, Jung TH, Park JY. Polymorphisms in the survivin gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer.* 2008;**60(1)**:31-9.

117. Burger PC, Green SB. Patient age, histologic features, and length of survival in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer*. 1987;**59**:1617–1625 .

118.Salmon I, Dewitte O, Pasteels JL ve ark.: Prognostic scoring in adult astrocytic tumors using patient age, histopathological grade, and DNA histogram type. *J Neurosurg* 1994;**80**: 877–883.

119.Yang X, Xiong G, Chen X, Xu X, Wang K, Fu Y, Yang K, Bai Y. Survivin expression in esophageal cancer: correlation with p53 mutations and promoter polymorphism. *Dis Esophagus.* 2009;**22(3):**223-30

120. Wang YH, Chiou HY, Lin CT, Hsieh HY, Wu CC, Hsu CD, Shen CH. Association between survivin gene promoter -31 C/G polymorphism and urothelial carcinoma risk in Taiwanese population. *Urology.* 2009 ;**73(3**):670-4.

121. Yang L, Zhu H, Zhou B, Gu H, Yan H, Tang N, Dong H, Sun Q, Cong R, Chen G, Wang B. The association between the survivin C-31G polymorphism and gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci.* 2009;**54(5):**1021-8. Epub 2008 Aug 21.

122. Wagner M, Schmelz K, Dörken B, Tamm I. Epigenetic and genetic analysis of the survivin promoter in acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2008;**32(7):**1054-60

123. Derin D, Soydinç HO, Guney N, Tas F, Camlica H, Duranyildiz D, Yasasever V, Topuz E. Serum levels of apoptoz biomarkers, survivin and TNF-alpha in nonsmall cell lung cancer.*Lung Cancer.* 2008;**59(2):**240-5.

FORMLAR

Hasta takip formu

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

Protokol:

Tarih:

Hasta no:

BEYİN TÜMÖRÜ ARAŞTIRMA FORMU

Form No:	Protokol No :	Tarih :	
Adı Soyadı :		Yaş :	Cinsiyet :
Boy / Kilo :	Meslek :	Kan Grubu:	
Memleket:	Yaşadığı yer:		

Öyküsü:

Yakınmanın başlangıç zamanı:

Nörolojik Bulgular:

Öz geçmişi:

Sigara tüketimi (süre, miktar)

İlaç kullanımı

Hastalık teşhisindeki yaşı

Öz geçmişinde geçirilmiş ameliyat/ hastalık:

İskemik kalp hastalığı	Diabetes Mellitus
Kronik Böbrek Yetersizliği	Malign hastalık
Steroid kullanımı	Kemoterapi
Kronik Karaciğer Hastalığı	Radyoterapi
Diğer	

Radyolojik Bulgular:

Nekroz

Kistik Komponent

Ödem

Lokalizasyon

Soy geçmişi:

Malign hastalıklar

Kronik hastalıklar

Ameliyat öncesi Kan Biyokimyası:

Glukoz	BUN	Prot	Alb
ALT	AST	ALP	GGT
LDH	T Kolest	Trig	
LDL	HDL	Ca	P
Hb	Htc	Löko	Tromb

Ameliyat öncesi tanı :

Tanı konulmasından sonra geçen süre:

Yapılan Ameliyat :

Lezyon lokalizasyonu

Ek Belgeler (patoloji,klinik bilgiler ve belgeler)

Tümörün patolojk bulguları: Ki-67, Mitoz, Nekroz

Patolojik tanı-tümör derecesi

ETİK KURUL KARARI

EK : 1

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI

Sayı : 3763
Konu :

İstanbul Üniversitesi
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğüne

İstanbul, ... / ..... / ...
13 Şubat 2007

İLGİ: 29.01.2007 tarihli, 12 sayılı yazınıza:

Enstitünüz Moleküler Tıp Anabilim Dalı **Doktora Öğr. Dr. DİDEM KAFADAR'ın** yürütceği " Beyin Tümörlü Hastalarda Survivin Gen Polimorfizmi ve Serum Survivin Düzeylerinin İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında ilgi yazınız ve ekleri **06 Şubat 2007** tarihinde toplanan Fakültemiz Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

EKİ:
1 dosya

Prof.Dr. Mehmet YILDIRIM
Dekan Yardımcısı ve Etik
Kurul Başkanı

Not : Yanıtlarda yazımızın gün sayısının belirtilmesi rica olunur. Tel : (0212)4143000

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Didem	**Soyadı**	Kafadar
Doğ.Yeri	Manisa	**Doğ.Tar.**	27.08.1970
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	38134363180
Email	kafadar@istanbul.edu.tr	**Tel**	0212 28710 93

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ DETAE MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI	2009
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ TIP BÖLÜMÜ	1994
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ TIP BÖLÜMÜ	1994
Lise	İZMİR AMERİKAN LİSESİ	1988

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Uzman Doktor	İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü	2008-
2.	Uzman Doktor	SB Bakırköy Dr. Sadi Konuk EAH	2002-2008
3.	Asistan Doktor	SB Eğitim Araştırma Hast.	1999-2002

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	90 KPDS	
Almanca	Orta	Orta	Orta	--	

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

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MICROSOFT OFFICE-Word,Excel,Powerpoint.	Çok iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Makale: 1.**Kafadar AM**, **Yilmaz H**, **Kafadar D**, **Ergen A**, **Zeybek U**, **Bozkurt N**, **Kuday C**, **Isbir T**. "C677T gene polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in meningiomas and high-grade gliomas".Anticancer Res. 2006 May-Jun;26(3B):2445-9

Sözlü sunu:1.Kafadar D.''Apoptotic Markers in Brain Tumors'' Young Investigators, II. Congress of Molecular Medicine From Cell to Bedside, 24-26 March 2007, İstanbul.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):