



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PAPİLLER TİROİT KANSERLİ HASTALARDA
SİKLİN D1 (CCND1) A870G POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Alper AYTEKİN
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Göktürk MARALCAN**

Mart 2014

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PAPİLLER TİROİT KANSERLİ HASTALARDA
SİKLİN D1 (CCND1) A870G POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Alper AYTEKİN
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Göktürk MARALCAN**

Mart 2014

**Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TF.12.37 proje numarası ile desteklenmiştir.**

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

PAPİLLER TİROİT KANSERLİ HASTALARDA
SİKLİN D1(CCND1) A870G POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

DR ALPER AYTEKİN

10.03.2014

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof.Dr. Levent ELBEYLİ
Tıp Fakültesi Dekanı



Bu tez çalışmasının "Tıpta Uzmanlık" derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. M. Avni GÖKALP
Anabilim Dalı Başkanı



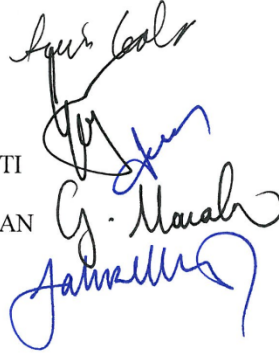
Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile "Tıpta Uzmanlık" tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Prof. Dr. Göktürk MARALCAN
Tez Danışmanı



TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. M. Avni GÖKALP
2. Prof. Dr. Levent ELBEYLİ
3. Prof. Dr. M. Necdet AYBASTI
4. Prof. Dr. Göktürk MARALCAN
5. Doç. Dr. Fahrettin YILDIZ



I. ÖNSÖZ

Bilgi ve deneyimleri ile tez çalışmam sırasında sabır, özveri ve bilimsel desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr.Göktürk MARALCAN'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, azim, deneyim, meslek sevgisi ile bana örnek olan ve eğitimime büyük emeği geçen saygıdeğer hocalarım Sayın Prof.Dr. Avni GÖKALP'e, Sayın Prof.Dr. Necdet AYBASTI'ya, Sayın Prof.Dr. Ahmet BALIK'a, Sayın Doç.Dr. Sacid ÇOBAN'a, Sayın Doç.Dr. Fahrettin YILDIZ'a, Sayın Yrd. Doç.Dr. İlyas BAŞKONUŞ'a ve Sayın Yrd. Doç.Dr. Ersin BORAZAN'a,

Tez çalışmalarım sırasında deneyimlerini benimle paylaşan sevgili ablam Dr.Türkan AYTEKİN'e,

Tez çalışmamın istatistiksel analizlerinde yardımını esirgemeyen Dr.Doğukan ÖZEN'e,

Tez yazımda yardımcı olan Arş.Gör. Fatih YAYLA'ya,

İhtisas sürem boyunca uyum içinde çalıştığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tüm mesai arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan ve hayatım boyunca güven ve desteklerini hiç esirgemeyen AİLEM'e

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. ÖZET	iv
IV. ABSTRACT	v
V. KISALTMALAR	vi
VI. TABLO LİSTESİ	vii
VII. ŞEKİL LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tiroit Bezi, Guatr ve Tiroit Cerrahisi Tarihçesi	3
2.2. Tiroit Bezi Anatomisi	4
2.3. Tiroit Bezi Embriyolojisi ve Histolojisi	7
2.4. Tiroit Bezi Fizyolojisi	7
2.5. Tiroit Kanseri	10
2.5.1. Tiroit Kanserinin Etiyolojisi	10
2.5.1.1. Radyasyon	10
2.5.1.2. Genetik Faktörler	11
2.5.1.3. Genetik Geçişli Ailesel Hastalıklar	11
2.5.1.4. TSH, Büyüme Faktörleri ve Hormonlar	11
2.5.1.5. İyot Eksikliği-Fazlalığı ve Diğer Çevresel Faktörler	11
2.5.1.6. Bening Tiroit Bezi Hastalıkları	11
2.6. Tiroit Kanserinde Tanı	12
2.6.1. Klinik Bulgular	12
2.6.2. Fizik Muayene	12
2.6.3. Ultrason	12
2.6.4. Sintigrafi	12
2.6.5. Tiroit İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (TİİAS)	13
2.6.6. Bilgisayarlı Tomografi	13
2.7. Tiroit Bezinin Primer Kanseri	13
2.8. Papiller Tiroit Kanseri	14
2.8.1. PTK' inin Patolojik Alt Tipleri	14
2.8.1.1. Papiller Mikrokanser	14
2.8.1.2. Enkapsüle Varyant	15
2.8.1.3. Folliküler Varyant	15
2.8.1.4. Makrofolliküler Varyant	15
2.8.1.5. Onkositik (Oksifilik) Varyant	16
2.8.1.6. Diffüz Sklerozan Varyant	16
2.8.1.7. Yüksek Silindirik Hücreli (Tall Cell) Varyant	16
2.8.1.8. Prizmatik Hücreli (Kolumnar Cell) Varyant	16
2.8.1.9. Solid (Trabeküler) Varyant	16
2.8.1.10. Kribriform Varyant	17
2.8.1.11. Diğer Varyantlar	17
2.8.2. Papiller Tiroit Kanserde Prognoz ve Prognozu Etkileyen Faktörler	17
2.8.2.1. Yaş	17
2.8.2.2. Cinsiyet	18

2.8.2.3.Aile Öyküsü.....	18
2.8.2.4.Radyasyon Öyküsü.....	18
2.8.2.5. Otoimmün Hastalık Öyküsü.....	18
2.8.2.6. Tümör Çapı ve Multifokalite	19
2.8.2.7.Lenf Nodu Metastazı	19
2.8.2.8. Histopatolojik Faktörler.....	19
2.8.2.9. Onkogenler.....	20
2.8.2.10. I-131 Tedavisi ve TSH Süpresyonu.....	20
2.8.2.11. Tiroit Dışı İnvazyon.....	20
2.8.2.12. Uzak Metastaz.....	20
2.8.2.13. Tümör Derecesi DNA Ploidi.....	21
2.8.2.14. Primer Cerrahinin Derecesi.....	21
2.8.2.15.Evrelleme.....	21
2.8.3. Papiller Tiroit Kanserinde Tedavi.....	23
2.8.3.1. Primer Tümör Tedavisi.....	23
2.8.3.2. Adjuvan Tedavi.....	25
2.8.3.2.1. Radyoaktif İyot (RAI) Ablasyonu ve Tedavisi	25
2.8.3.2.2. TSH Baskılama Tedavisi.....	26
2.8.3.3. Nüks ve Metastazların Tedavisi.....	26
2.8.4. Papiller Tiroit Kanserinde İzlem.....	26
2.9. Hücre Siklusu.....	27
2.10. Siklin D1 (CCND1) ve Polimorfizm.....	28
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Gereç.....	33
3.1.1. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi.....	33
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	33
3.1.3. Kullanılan Cihazlar.....	34
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler.....	34
3.2. YÖNTEM.....	36
3.2.1. DNA İzolasyonu.....	36
3.2.2. Spektrofotometrik Analiz.....	37
3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	37
3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi.....	38
3.2.5. CCND1 A870G Polimorfizminin RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Tekniği İle Belirlenmesi.....	39
3.2.6. Genotip Tayini.....	40
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Çalışma Örnekleri ve DNA İzolasyonu.....	42
4.2. CCND1 Geninin PCR İle Çoğaltılması.....	44
4.3. CCND1 A870G Polimorfizminin RFLP Tekniği İle Analizi.....	45
4.4. CCND1 A870G Polimorfizmi ile Papiller Tiroit Kanser Arasındaki İlişki....	46
5.TARTIŞMA.....	54
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
7. KAYNAKLAR.....	61

III. ÖZET

PAPİLLER TİROİT KANSERLİ HASTALARDA SİKLİN D1 (CCND1) A870G POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Alper AYTEKİN
Uzmanlık tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof Dr. Göktürk MARALCAN
Mart 2014, 73 sayfa

Hücre siklusunda G1'den S fazına geçişte siklin proteinleri önemli görevler almaktadır. Bu siklin proteinlerini kodlayan genlerde bulunan polimorfizmler sonucunda hücre siklusu etkilenip normal hücre kontrolsüz çoğalan kanser hücresi haline gelebilir. Siklin proteinlerinden Siklin D1'i kodlayan CCND1 geni A870G polimorfizminin birçok farklı kanser türü ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu çalışmada Türk popülasyonundaki papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 geni A870G polimorfizmi araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, papiller tiroit kanserli 102 hasta ile sağlıklı 174 bireye ait periferik kan örnekleri incelenmiştir. Toplanan kan örneklerinden elde edilen DNA'larda CCND1 A870G polimorfizmi PCR-RFLP tekniği kullanılarak analiz edilmiş, allel ve genotip frekansları belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda allel frekansları açısından hasta ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenirken ($p=0.042$), genotip dağılımlarında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0.085$). Lojistik regresyon analizi sonucu kurulan yaşa, cinsiyete, alkol ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş modelde; GG genotipine kıyasla AA genotipine sahip bireylerde 2,036 kat (%95 GA, 0.854-4.852), AG genotipli bireylerde ise 1.662 kat (%95 GA, 0.738-3.747) papiller tiroit kanser için yüksek risk saptanmıştır fakat bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Papiller tiroit kanser için G alleli referans olarak alındığında A alleleline sahip 45 yaş üstü bireylerde (OR=1.91, %95 GA, 1.09-3.349, $p=0.024$) ve A alleleline sahip kadınlarda (OR=1.731, %95 GA, 1.056-2.838, $p=0.029$) yüksek risk istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. GG+AG kombine genotipine kıyasla AA genotipine sahip 45 yaş üstü bireylerde (OR=2.281, %95 GA, 1.015-5.126, $p=0.046$) papiller tiroit kansere yakalanma riskinin anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada Türk popülasyonunda CCND1 A870G polimorfizminin papiller tiroit kansere yakalanma riski ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Papiller tiroit kanseri, Siklin D1 (CCND1) geni, Polimorfizm

IV. ABSTRACT

INVESTIGATION OF CYCLIN D1 (CCND1) A870G POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH PAPILLARY THYROID CANCER

Alper AYTEKİN, M.D.

Residency Thesis, Department of General Surgery

Supervisor: Göktürk MARALCAN, M.D. Prof Dr.

March 2014, 73 Pages

Cyclin D1 (CCND1) plays a critical role in the transition from G1 to the S phase in the cell cycle. In the polymorphisms of the genes which encode these cyclin proteins, the cell cycle is affected and a normal cell may become a cancer cell which proliferates in an uncontrolled way. Many studies have showed that A870G polymorphism of the CCND1 gene, which is coding D1 cyclin protein, is associated with many different cancer types. In this study we investigated the A870G polymorphism of the CCND1 gene on the patients with papillary thyroid cancer, in Turkish population. Peripheral blood samples of 102 papillary thyroid cancer patients and 174 healthy controls were analysed as part of the study. The A870G polymorphism of the CCND1 was analysed by using PCR-RFLP techniques and alleles and genotype frequencies were calculated. In this study, there was a statistically significant difference between patient and control groups for alleles frequencies ($p=0,042$) but no statistically significant difference for genotype's distribution ($p=0,085$). In the model that was set up according to logistics regression analysis and was adjusted to age, sex, alcohol and cigarette use; in comparison with GG genotype, papillary thyroid cancer's risk was 2,036 fold higher for AA genotype (%95 GA, 0.854-4.852) and 1,662 fold higher for AG genotype (%95 GA, 0.738-3.747) but this data wasn't statistically significant ($p>0,05$). In the patients with A allele and older than 45 years (OR=1.91, %95 GA, 1.09-3.349, $p=0.024$) and female patients with A allele (OR=1.731, %95, GA, 1.056-2.838, $p=0,029$) there was statistically significant high risk for papillary thyroid cancer, using the G allele as the reference allele. In patients with AA genotype and older than 45 years (OR=2.281, %95 GA, 1.015-5.126, $p=0.046$) was associated with a significantly higher risk of papillary thyroid cancer compared with GG+AG combined genotype.

In this study, we founded that the A870G polymorphism of the CCND1 gene can be associated with the risk of papillary thyroid cancer development, in Turkish population.

Keywords: Papillary thyroid cancer, Cyclin D1 (CCND1) gene, Polymorphism

V. KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ANTI Tg	: Antitiroglobulin
bç	: Baz çifti
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CCND1	: Siklin D1
CDI	: Siklin bağımlı kinaz inhibitöleri
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
DIT	: Diiyototironin
ETA	: European Thyroid Association
ft3	: Serbest T3
ft4	: Serbest T4
LBD	: Lateral boyun diseksiyonu
MIT	: Monoiodotironini
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PCR-RFLP	: Polimeraz zincir reaksiyonu-bağlantılı restriksiyon fragment polimorfizmi
PTK	: Papiller tiroit kanser
PMK	: Papiller mikrokarsinom
RAI	: Radyoaktif iyot tedavisi
Rb	: Retinoblastoma
SBD	: Santral boyun diseksiyonu
TBG	: Tiroksin Bağlayıcı Globulin
TBPA	: Tiroksin Bağlayıcı Prealbumin
Thr	: Treonin
TİİAS	: Tiroit ince iğne aspirasyon sitolojisi
TRH	: Tirotropin serbestleştirici hormon
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
T4	: Tiroksin
T3	: Triiodotironini
Tg	: Tiroglobulin
UICC	: Union International Control Cancer
US	: Ultrason

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Papiller tiroit kanserinde TNM evreleme	22
Tablo 2. Papiller tiroit kanserinde evreleme (AJCC)	23
Tablo 3. CCND1 geninin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri	37
Tablo 4. CCND1 geninin çoğaltılması için hazırlanan reaksiyon içeriği	38
Tablo 5. PCR işleminin yapıldığı ısı döngüleri	38
Tablo 6. CCND1 gen bölgesinin MspI enzimi ile kesim koşulları	39
Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarının demografik karakterleri	43
Tablo 8. Hasta grubunun klinik özellikleri	44
Tablo 9. Hasta ve kontrol grupları arasındaki allellerin dağılımı	46
Tablo 10. Hasta ve kontrol grupları arasındaki genotiplerin dağılımı	46
Tablo 11. CCND1 A870G allel ve genotipleri ile papiller tiroit kanser riski arasındaki ilişki	47
Tablo 12. Papiller tiroit kanser riski açısından CCND1 A870G allel frekansları ile cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı arasındaki ilişki	48
Tablo 13. Papiller tiroit kanser riski açısından CCND1 A870G genotipleri ile cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı arasındaki ilişki	49
Tablo 14. CCND1 A870G genotip ve allel dağılımları ile kapsüler infiltrasyon arasındaki ilişkisi	50
Tablo 15. Tümör çapı <1cm ve ≥1cm olan papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı	51
Tablo 16. Lenf nodu metastazına göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı	51
Tablo 17. Ekstratiroidal invazyona göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı	52
Tablo 18. TSH düzeyine göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı	52
Tablo 19. fT3 hormon düzeyine göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı	53
Tablo 20. fT4 hormon düzeyine göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı	53

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Tiroit bezi anatomisi.....	6
Şekil 2. Hücre siklusunun bölümleri.....	28
Şekil 3. Siklin D1 gen transkripsiyonu.....	30
Şekil 4. CCND1 A870G polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan MspI enzim kesim bölgeleri ve oluşan genotipler	40
Şekil 5. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Markır (20-40-60-80-100-120-140-160-180-200-300 bç), 1-15: PCR ürünleri	45
Şekil 6. CCND1 geninin RFLP analizi (M: Markır (20-40-60-80-100-120-140-160-180-200-300 bç); 1,2,3,10,13,14: AA genotipi; 4, 7, 9, 11, 12, 15: AG genotipi; 5, 6, 8: GG genotipi).....	45

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Toplumda görülme sıklığı hızla artan tiroit kanserler, tüm kanserlerin %1'ini, endokrin sistem kanserlerinin ise en yaygın türünü oluşturur. Papiller tiroit kanseri (PTK), tiroit kanserleri arasında en sık görüleni ve en yavaş seyirli olanıdır. Papiller tiroit kanserleri tiroit kanserlerinin yaklaşık % 85'ini oluşturur. Tüm kanserden ölümlerin % 0.2' sinden sorumludur. PTK herhangi bir yaşta görülebilir. Nadir olarak konjenital olgular da bildirilmiştir. Genellikle 40 ve daha genç yaşlarda görülen kanser, altıncı ve yedinci dekatlarda ikinci sıklığını oluşturmaktadır. Çernobil nükleer kazasının etkilerini yakından yaşamış bir ülke olan Türkiye'de, özellikle kadınlarda (kadın/erkek oranı 2/1 ile 4/1 arasında değişmektedir), artan sayıda PTK olgusu saptanmaktadır (1,2).

Kanser kontrolsüz hücre çoğalması olarak da tanımlanabilir. Hücre siklusunun denetimi, kontrolsüz hücre çoğalmasının anlaşılmasında ilgi odağı olmuştur. Hücre siklusunu düzenleyen sistemlerin pek çok bileşeni kanserle bağlantılı olduğundan kanser bir hücre siklusu düzensizlik hastalığı olarak da tanımlanabilir. Hücre siklusunda rolü olan pek çok onkogen ve tümör baskılayıcı gen G1'den S fazına geçişte büyük önem taşımaktadır. G1, S, G2, M evrelerinden oluşan hücre siklusunda G1'den S fazına geçişte siklin proteinleri önemli görevler almaktadır.

Siklin proteinlerini kodlayan genlerin polimorfizmlerinde hücre siklusu etkilenip normal hücre kontrolsüz çoğalan kanser hücresi haline gelebilir. Birçok kanser türünde Siklin D1 (CCND1) A870G polimorfizmi araştırılmış ve bu polimorfizm ile çeşitli kanser türleri arasında ilişki saptanmıştır. Yapılan literatür taramaları sonucunda CCND1 A870G polimorfizmi ile papiller tiroit kanseri arasında ilişki olup olmadığı yönünde çalışmaya rastlanılmamıştır. İlk kez yapılan bu çalışma ile Gaziantep ve yakın çevresinde yaşayan Türk popülasyonunda papiller tiroit kanserli hastalar ve birbiri ile akrabalık ilişkisi olmayan sağlıklı bireylerin oluşturduğu çalışma gruplarında; CCND1 A870G polimorfizminin incelenmesi, allel-genotip frekanslarının belirlenmesi ve

karşılaştırılması ile papiller tiroit kanserler ile CCND1 A870G polimorfizmi arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tiroit Bezi, Guatr ve Tiroit Cerrahisi Tarihçesi

Tiroit kelimesi Yunanca'da kalkan anlamına gelen *thyreooides*'den köken almaktadır. Anatomik tanımlamalar 16. ve 17. yüzyılda yapılmış olmasına rağmen, uzun yıllar tiroit fonksiyonları aydınlatılamamıştır. Örneğin, 1776 yılında Albrecht von Haller tiroit gland'ının larenksin lubrikasyonunda ve beyine devamlı kan perfüzyonunda rezervuar görevi olduğunu ileri sürmüştür (3,4).

Tiroit glandının büyümesi anlamına gelen guatr (Latince'de *guttur; boğaz*), tiroit glandının tanımlanmasından uzun yıllar önce, M.Ö. 2700 yıllarında biliniyordu. 1619 yılında Hieronymus Fabricius guatr'ı tiroit glandının büyümesi olarak ifade etmiştir. Tiroit gland'ı 1656'da ilk kez Thomas Wharton's Adenographia isimli kitabında tanımlanmıştır (3,4).

Roger Frugardi 1170 yılında ilk tiroit cerrahisini gerçekleştirmiştir. Bu işlemde iki adet seton tiroit bezine dik olarak yerleştirilmiş ve tiroit bezi ayrılma dek bu setonlar günde iki kez bağlanarak sıkılaştırılmıştır. Açıkta kalan yaranın içine ise kostik pudra konarak yara iyileşmeye bırakılmıştır. Benzer yöntemler ile tiroit cerrahisi 19. yüzyılın ortalarına kadar %40'ın üzerinde mortalite ile yapılmıştır. Bu dönemden sonra genel anestezi, asepsi ve hemostazdaki gelişmeler ile tiroit cerrahisindeki mortalite oranları anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Tiroit cerrahisinin baş mimarları Emil Theodor Kocher (1841–1917) ve Theodor Billroth (1829–1894) binlerce tiroit ameliyatını giderek artan başarı oranları ile gerçekleştirmişlerdir (3-5).

Özellikle 1950'li yıllara kadar çok tehlikeli ve komplikasyonlu kabul edilen tiroit ameliyatları gelişen anestezik maddeler ve hemostaz teknikleri sayesinde daha rahat ve güvenilir uygulanmaya başlanmıştır.

2.2.Tiroit Bezi Anatomisi

Tiroit bezi boynun alt kısmında, trakeanın ön yüzünde, larinksin hemen aşağısında, tiroit ön grup kaslarının arkasına yerleşmiş, insan bedenindeki en büyük endokrin bezdir. Erişkin tiroit bezi ortalama 15-20 gram ağırlığındadır. İki lob (sağ ve sol) ve bunları birleştiren istmustan oluşmaktadır. Ayrıca; bu yapılara ilave olarak, %50 oranında bulunan, daha çok sol lobdan (%80) yukarıya doğru uzanan ve tiroglossal kanalın kalıntısı olan piramidal lob bulunur (6,7).

Loblar lateralde karotis kılıfına ve sternokleidomastoid kasa, önde tiroit önü kaslara (sternohyoid ve sternotiroid) komşudur. Tiroit, normalde komşu organlardan rahatlıkla ayrılabilir. Ancak posterior süspansuar ligaman (Berry ligamanı) aracılığı ile krikoid kıkırdak ve üst trakeal halkalara sıkıca yapışıktır. Bu bölge rekürren laringeal sinirin en çok hasara uğradığı yerleşimdir. Zuckerkandl tüberkülü, tiroit bezinin lateral lobunun posterior uzantısı olup Berry ligamanına komşudur. Tiroidektomi olgularında %14 ile %55 oranında görülür. Rekürren laringeal sinir Zuckerkandl tüberkülünün arka ve medial kısmında seyreder (8,9).

Tiroit bezinin oldukça zengin bir damar ağı mevcuttur. Hatta boyutları dikkata alındığında, vücudun kanlanması en zengin organlarından biridir. Tiroit kan akım hızı, her gram için 5.5 ml/dk'dır (10-14). Tiroit bezinin kanlanması superior tiroit arter çifti ve inferior tiroit arter çifti olmak üzere dört ana arter tarafından sağlanır. Nadiren beşinci bir arter olan 'arteria tiroidea ima' da bulunur (10,13).

Superior tiroit arter eksternal karotis arterin ilk dalı olup karotis bifurkasyonu hizasında tiroit üst polünde ön ve arka dallara ayrılarak beze girer. Inferior tiroit arter ise subklavyan arterin tiroservikal dallarından köken alarak beze arka kısım ve alt pollerden girer. Arteria tiroidea ima bazen beşinci arter olarak arkus aortadan veya innominat arterden köken alır ve trakeanın önünden yukarı çıkar (8,15,16).

Superior tiroit arteri, faringeal konstrüktör kasın medialinde bulunarak inferiora doğru inerken superior laringeal sinirin eksternal dalı ile yakın ilişki içerisinde. Inferior tiroideal arter ve dalları, rekürren laringeal sinir ile hemen her zaman çaprazlaşma yapar (8,15,17).

Tiroidin venöz dönüşü; her iki yanda, üstte superior tiroit venleri ve lateralinde median tiroit venleri aracılığı ile internal juguler venlere olur. İnferior tiroit venleri ise lobları inferiordan terk ettikten sonra venöz bir pleksus oluşturarak brakiosefalik vene dökülür (8,15-18).

Tiroidin lenfatik drenajı tüm yönlere dağılır. Kapsüler lenf kanalları intraglandüler kanallara boşalır, isthmus ve karşı lobla arasında bağlantı olabilir. Bundan dolayı teknik olarak tüm potansiyel lenf nodu metastazlarını yok etmek mümkün değildir (10,19).

Üst kutup hariç, tiroidin lenfatik drenajı esas olarak santral gruba doğrudur denebilir. Lateral boyun lenf zinciri tiroit lenfatığının drene olduğu ikincil bölgedir. Santral bölgenin lenfatik drenajında obstrüksiyon olursa, retrograd yolla lateral boyun lenfatik sisteme yayılma olabilir (10,20,21).

Sempatik innervasyonu superior ve orta servikal sempatik gangliyondan gelir. Kan damarları ile beraber gider ve vasomotor görevleri vardır. Parasempatik lifler vagustan laringeal sinirin dalları olarak gelirler.

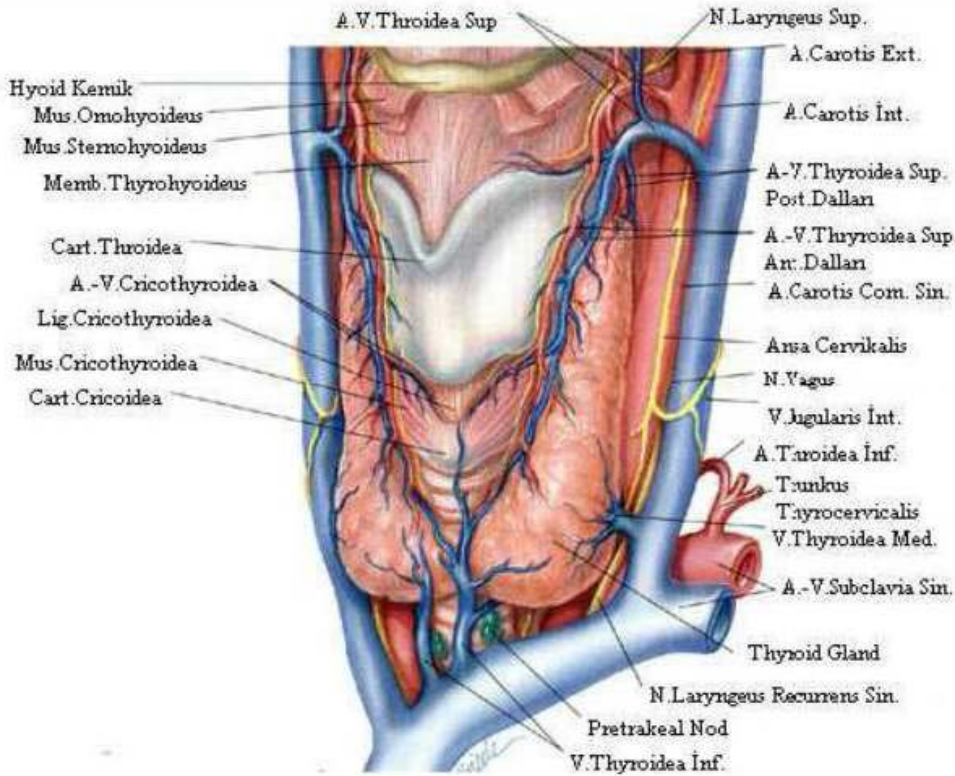
Tiroit bezi ile inferior laringeal sinir (rekürren laringeal sinir) arasında sıkı bir ilişki vardır. Rekürren sinirin çeşitli varyasyonları vardır. Rekürren laringeal sinir larinksin intrinsik kaslarının innervasyonunu sağlar. Eğer bir taraf hasarlanırsa ipsilateral vokal kord paralizisine neden olur. Benzer olarak süperior laringeal sinirin eksternal dalı krikotiroit kası innerve eder; bu da tiroit cerrahisi sırasında risk altındadır. Sinirin zarar görmesi ile fonksiyonda zorluk çıkar (10,20,21).

Rekürren laringeal sinir vagustan orjinini alır. Sağ tarafta rekürren sinir, vagusun subklavien arterinin ilk kısmını çaprazlandığı yerden orjinini alır. Sinir subklavien arterin altından dolanır ve krikotiroit kasa posteriordan larinkse krikoid kartilaj seviyesinden girmek üzere hafif oblik olarak yukarı çıkar (10,20,21).

Sol rekürren sinir vagustan aortik arkusu geçerken dallanır ve ligamentum arteriosumun arkasından dolanır, medialde trakeoözefageal aralıktan yukarı çıkar, larinkse girer (10,20,21).

Inferior laringeal sinirin %1'i nonrekürren olabilir. Sağ subklavien arter anomalisi ile birlikte, nadiren de sol tarafta dekstrokardi veya situs inversus ile beraber görülebilir. Bu durumlarda sinir vagustan direkt olarak larinkse, sıklıkla superior tiroit damarlarıyla girer ve damarların bağlanması sırasında risk altındadır.

Süperior laringeal sinir, kafa tabanına yakın vagustan ayrılır, carotis damarlarının medialinden aşağı iner. Hyoid kemik hizasından 2 dala ayrılır. Bir tanesi supraglottik bölgeye sensöryel olan internal dal, diğeri motor olan eksternal dalıdır. Eksternal dalı inferior konstriktör kasın lateralinde seyrederek ve krikotiroit kası innerve etmek üzere aşağıya iner. Bu kas vokal kord gerilimini düzenler ve sesin seviyesini ayarlar (Cernea ve arkadaşlarının sınıflaması). İnsanların %21'inde eksternal dal, superior tiroit arteri, tiroit üst polün aşağısında çaprazlar ve operasyon sırasında önemli derecede risk altındadır. Yaralanmayı önlemek için üst pol damarları tek tek ligate edilmeli, tiroit bezine yakın bağlanmalı ve krikotiroit kasın lateralinde disseke edilmelidir (Şekil 1) (10,20,21).



Şekil 1. Tiroit bezi anatomisi (6)

2.3. Tiroit Bezi Embriyolojisi ve Histolojisi

Tiroit bezi, embriyolojik gelişim esnasında dilin foramen cecum kısmından gelişir. Tiroglossal kanaldan geçerek fetal hayatın 7. haftasında boynun ön tarafına ulaşır (6,22). Embriyolojik olarak gelişmesini tamamlayan tiroit dokusunun çevresinde fibroz bir kapsül vardır. Bu kapsül, bez içerisine septalar göndererek lobülasyonlara neden olur. Lobülasyonlardan her biri tiroidin temel yapısını oluşturan folliküllerden meydana gelir. Her lobülde ortalama 2-40 follikül vardır. Erişkin tiroidi yaklaşık 3×10^6 follikül içerir. Her bir follikül; içi kolloidle dolu bir lümeni çepeçevre saran tek sıralı küboidal kolumnar epitel ve bu epiteli çevreleyen bazal membrandan oluşur. Follikül hücresine tiroisit adı da verilir (6).

Bir tiroit follikülünde esas olarak üç tip hücre vardır. Bunlar; hem folliküler lümen hem de bazal membranla ilişkide olan normal follikül hücresi, lümenle ilişkisi olmayan ancak bazal membranla ilişkide olan parafolliküler hücreler ve oksifilik (Hurthle) hücrelerdir. Bu hücrelere aynı zamanda A, B, C hücreleri adı da verilmektedir. A hücresi normal follikül hücresi (tiroisit) olup tiroit hormonlarının yapım ve salınımından sorumludur, tiroit stimule edici hormonunun (TSH) etkisi altındadır. B hücresi (Askanazy hücresi, Hurthle hücresi, onkosit) çok miktarda serotonin depolamaktadır, TSH reseptörü içerip tiroglobulin (Tg) sentezi yapabilmesine karşılık fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. C hücresi (parafolliküler hücre) esas olarak tirokalsitonin hormonunun yapım ve salınımından sorumludur, TSH'nin kontrolünde değildir (6).

2.4. Tiroit Bezi Fizyolojisi

Tiroit bezi insan organizmasında metabolizma hızı üzerinde büyük etkisi olan iki hormon salgılar. Tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3), ayrıca kalsiyum metabolizması için önemli olan kalsitonin hormonunu salgılar. Tiroit sekresyonu başlıca hipofiz ön lobundan salgılanan Tiroit Stimülan Hormon (TSH) tarafından kontrol edilir (10,23). Tiroit hormonlarının yapımı tamamen gastrointestinal yolla alınan eksojen iyotun varlığına bağlıdır. Diyetle alınan iyot miktarı da su ve topraktaki iyot oranına bağlıdır. Normal tiroksin yapımı için haftada 1 mg, yılda 52 mg iyota gereksinim vardır (10,24). Tiroit bezi çok sayıda kapalı folliküllerden oluşur. Folliküllerin içini dolduran kolloidin başlıca maddesi, molekülü içinde tiroit hormonlarını da tutan büyük bir glikoprotein

olan tiroglobulindir (10,24,25).

Gastrointestinal yolla alınan iyot iyodür halinde ekstrasellüler mesafeye geçer. Bunun 4/5'i idrarla atılır. Kalan 1/5'i seçici olarak tiroit bezi tarafından tutulur. Tiroit hücrelerinin bazal membranı iyodürü hücre içine taşıyan özel bir yeteneğe sahiptir. Buna iyot tutulması denir (10,24). İyodür pompası denen ve aktif olup enerji isteyen bir mekanizmayla da taşınır. En önemli taşıma yolu iyodür pompasıdır. TSH, follikül hücresi zarında bulunan ATPaz enzimini aktive eder, bu enzim ATP'den 3-5 siklik AMP ve enerji oluşturur. Bu enerji iyodürün hücre içine aktif taşınmasında kullanılır (10,24,26). Tiroit hücrelerinin endoplazmik retikulum ve golgi organellerinde 660.000 mol. ağırlığında olan Tg yapılır. Her Tg molekülü 140 tirozin aminoasiti içerir. Bu aminoasitler, tiroit hormonlarını oluşturmak üzere iyotla birleşen başlıca substratlardır. Tiroit hormonlarının sentezinde ilk önemli aşama iyodür iyonlarının oksidasyonudur. İyodun oksidasyonu follikül hücresi mikrozomlarında bulunan peroksidaz ile sağlanır. Böylece elementel iyot oluşur. İkinci önemli aşama Tg'nin iyotla birleşmesi yani organifikasyonudur. Elementel iyot, TSH etkisi ile Tg molekülüne peptid ile bağlı olan tirozinin benzen halkasındaki 3 numaralı C atomuna bağlanır ve monoiodotironini (MIT) oluşturur. Sonra 5 numaralı C atomuna bir iyot daha bağlanır ve diiyototironin (DIT) meydana gelir. Okside iyodun tirozine bağlanması çok yavaş seyrederek ancak tiroit hücreleri içinde bulunan iyodinaz enzimi bağlanma işleminin birkaç saniye ya da dakika içinde tamamlanmasını sağlar. İki molekül DIT'ın Tg'e bağlı şekilde çiftleşmesi tiroksini (T4) oluşturur. Monoiodotironininin DIT ile birleşmesi triiodotironini (T3) meydana getirir. T3 periferik dokuda T4'ün 5 numaralı C atomundaki iyodun deiodinizasyonu ile de oluşur. Meydana gelen T3 ve T4 tiroglobulinde depolanır. Bu depo vücudun 1-3 aylık hormon gereksimini karşılamaya yeterlidir. Tiroit glandından salgılanan hormonların yaklaşık %90'ı T4, %10'u da T3'dür. Günde ortalama 90 mikrogram T4, 40 mikrogramda T3 dokulara sunulur. T3 ve T4'ün Tg'den ayrılması, proteaz enzimleri vasıtası ile oluşur. Tg'nin hidrolizi anında ortaya çıkan iyotlanmış tirozinler, mikrozomlar içinde bulunan iodotirozin dehalogenaz enzimi tarafından iyotundan ayrılır. Bu iyodürlerin bir kısmı tekrar organik bağlanmaya girer. Geri kalan kısmı da bezden kaybedilir. Buna iyodür akması denir (10,24).

Tiroit hormonları kanda üç çeşit proteinle taşınır:

- 1- Tiroksin Bağlayıcı Globulin (TBG), kanda dolaşan tiroksinin %60'ını bağlar.
- 2- Tiroksin Bağlayıcı Prealbumin (TBPA), kanda dolaşan tiroksinin %30'unu bağlar.
- 3- Tiroksin bağlayıcı albümin, tiroksinin %10'unu bağlar.

T3'ün TBG'ye bağlanma gücü T4'ten daha zayıftır. Böylece T3 dokulara T4'ten daha önce ulaşır ve daha hızlı etki gösterir. T3, T4'e göre 3-4 kat daha aktiftir. T3'ün yarı ömrü 2-3 gün T4'ün yarı ömrü ise 6-11 gündür. İntrasellüler olarak sadece T3 aktiftir. T3 ve T4 karaciğerde glukoronik asit ile konjuge olur ve safrayla atılırlar. Akut hepatitlerde T4'ün hepatik turnover'i geriler (10,27). Yüz ml plazmada yaklaşık 4-11 mikrogram T4, 0.1-0.2 mikrogram T3 bulunur. T4'ün % 0.5'i serbest halde bulunur; dolayısıyla plazmadaki serbest T3 (fT3) miktarı, serbest T4 (fT4)'ten çok fazladır. Tiroit hormonlarının plazmada serbest halde bulunanları vücut üzerinde etkilidir. En belli başlı etkisi oksijen kullanımını uyarmasıdır; kalorijenik etki. Çok miktarda tiroit hormonu salgılsa metabolizma hızı normalin 60-100 katı kadar yükselebilir. Besinlerin enerji için kullanımı hızlanır. Proteinin katabolizma hızı arttığı gibi sentez hızı da artar. Genç şahıslarda büyüme çok hızlanır. Merkezi sinir sisteminin gelişmesi için tiroksin gereklidir. Tiroksin, vücudun insüline karşı hassasiyetini azaltır ve insülin yıkımını hızlandırır (10,28). T3 ve T4'ün intrasellüler bağlantı yeri DNA, muhtemelen de mitokondrial DNA'dır. Bu hormonların etkisi ile mitokondrilerin hem sayısı hem de mitokondri içerisindeki kristaller artar. Bu yüzden de tiroit hormonlarının etkisi ile pek çok dokunun metabolik aktivitesi artmaktadır (10,29,30).

TSH, hipofiz ön lobunda bazofil hücrelerden salgılanan bir hormondur ve tiroit hormon salgılanmasının düzenlenmesinde görevlidir. TSH salgısı hipotalamustan salgılanan Tirotropin serbestleştirici hormon (TRH) ile sağlanır. Vücut sıvılarında tiroit hormonunun artması, hipofiz ön lobundan TSH salgılanmasını azaltır. Tiroit hormonu sekresyonu normalin 1.75 katı olduğu zaman TSH salgılanması genellikle sifira iner. (10,25)

2.5. Tiroit Kanserleri

Tiroit kanserleri tüm kanserlerin %1'ini oluşturmalarına rağmen, endokrin sistemin en sık rastlanan kanseridir (8,31). Amerika'da yapılan epidemiyolojik çalışmalarda tiroit kanseri insidansının giderek arttığı ve günümüzde 45 yaş üstü kadınlarda ikinci en sık görülen malignite olduğu vurgulanmaktadır (8,32). Türkiye'de tiroit kanser prevalansı ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar veya kesin veri olmamakla birlikte 52214 kanserli hasta incelenerek yapılan bir çalışmada tiroit kanserinin % 4 oranı ile en sık görülen 10 kanser tipi arasında yer aldığı saptanmıştır (8,33).

Tiroit kanseri sıklığı yaşa ve cinsiyete göre değişmektedir. En sık 30-70 yaş arasında ve kadınlarda görülmektedir. Kadınlardaki malignitelerin %1,5'i erkeklerdeki malignitelerin ise %0,5'inden sorumludur (34-36). Diferansiye tiroit kanserine kadınlarda erkeklerden yaklaşık 3 kat daha sık rastlanmaktadır. Her yaşta görülebilmekle birlikte ortalama tanı yaşı kadın hastalarda 40, erkek hastalarda 44 olarak bildirilmiştir (34,37). Son çeyrek dekada tiroit kanseri insidansında hızlı bir artış mevcuttur. Bu artışın kesin nedeni bilinmemekle birlikte iyonize radyasyona maruz kalmadaki artış (özellikle nükleer silah denemeleri sonucu ortaya çıkan iyonize radyasyonun etkisiyle), kanser tanısı koyduran histolojik kriterlerdeki gelişmeler, ultrasonografideki gelişmeler dolayısıyla insidental tiroit nodüllerinin kolayca saptanabilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir (34,38).

Tiroit kanserleri primer ve sekonder tiroit kanserleri olmak üzere ikiye ayrılır. Sekonder (metastatik) tiroit kanserleri klinikte nadir görülmekle birlikte başka nedenlerle ölen hastaların otopsilerinde %3-20 oranında saptanmaktadır. Tiroide en sık metastaz yaptığı saptanan maligniteler arasında böbrek, meme, akciğer ve gastrointestinal sistem kanserleri yer alır (8,11,12,39,40).

2.5.1.Tiroit Kanserinin Etiyoloji

2.5.1.1. Radyasyon

Boyun bölgesine, tiroit lojuna özellikle eksternal ışınlama, zaman içinde nodüler guatr oluşumunu arttırmaktadır. Oluşan bu nodüller, papiller tiroit kanserine dönüşüm

gösterebilmektedir. Özellikle çocuk ve gençlerin tiroitleri bu gelişmeye daha çok hassastır (34,35,41).

2.5.1.2. Genetik Faktörler

RET ve TK proto-onkogenlerini içeren gen düzenlemeleri, papiller histotip için spesifik bir özellik olarak gösterilmektedir. Papiller kanserlerde bu reseptörün bölümlerini sentez eden genlerde inversiyon ve translokasyon saptanmıştır. Spontan tümörlerde veya radyasyonla ilişkili kanserlerin klasik papiller varyantında, RET/PTK1 belirgindir (34,42,43).

2.5.1.3. Genetik Geçişli Ailesel Hastalıklar

Tiroit kanserinin bazı genetik geçişli Cowden Hastalığı, Familyal Adenomatöz Polipozis, Gardner Sendromu, Papiller Renal Neoplazi ve Familyal Nonmedüller Tiroit kanseri gibi ailesel hastalıklarla birlikte görüldüğü bilinmektedir. (34,37).

2.5.1.4. TSH, Büyüme Faktörleri ve Hormonlar

Hayvan deneylerinde TSH'nın tiroit kanseri meydana getirdiğinin gösterilmiş olmasına rağmen, TSH'nın insanlarda tiroit kanserine yol açan temel bir faktör olduğu gösterilememiştir ancak uzun süreli TSH uyarısının neoplazinin büyümesine ve prognozunun kötüleşmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Tiroit kanserlerinin reproduktif dönemdeki kadınlarda daha fazla olması hormonal faktörlerin rolünü düşündürmektedir ancak net bir ilişki gösterilememiştir (34,44).

2.5.1.5. İyot Eksikliği-Fazlalığı ve Diğer Çevresel Faktörler

İyot alımı yeterli olan bölgelerde PTK daha sık görülmektedir. İyot eksikliği olan bölgelerde ise folliküler tiroit kanseri ve anaplastik tiroit kanseri daha sık görülmektedir (34,36).

2.5.1.6. Bening Tiroit Bezi Hastalıkları

Guatr veya benign tiroit nodüllerinin varlığının tiroit kanseri için risk faktörü olabileceği kabul edilmektedir. Palpabl tiroit nodüllerinin erişkin popülasyonunda

prevelansı % 4, kadın erkek oranı ise 4/1'dir. Bu tiroit nodüllerinde malignite oranı %5 olarak bildirilmektedir (34,44). Malign tiroit nodüllerinin bazı serilerde Graves hastalığında sık görüldüğü bildirilmiştir. Hashimoto tiroiditinde ise tiroit kanseri sıklığı değişen oranlarda (bazı serilerde %30'a varan oranlarda birliktelik) bildirilmiştir (34,45).

2.6. Tiroit Kanserinde Tanı

2.6.1. Klinik Bulgular

Tanı, çoğunlukla asemptomatik hastalarda tiroit nodülünün incelenmesi ile konulur ancak tiroit nodüllerinin çoğu beningdir. Tiroit kanser insidansı tüm tiroit nodüllerinin sadece %3-5'inde bulunmaktadır. Kansere bağlı tüm ölümlerin ise sadece %0,4'ünden sorumludur (34,35). Genelde nodüle eşlik eden ağrı, ses kısıklığı, disfaji, hemoptizi, çevre dokuya infiltrasyon ya da hızlı büyüme gibi şikayetlerin hikayede olması, malignite ve ilerlemiş hastalık kriterleridir. Çocukluk çağında baş ve boyun bölgesine radyasyon anamnezi olması, tiroit nodülünde malignite kuşkusunu artırır (34,46).

2.6.2.Fizik Muayene

Fizik muayenede nodülün sert ve düzensiz olması, nodül ile aynı tarafta büyümüş lenf nodu varlığı ve nodül çapında progresif büyüme malignite açısından şüpheli uyandırmalıdır (34,35).

2.6.3.Ultrason

US ile nodül ve eşlik eden lenf nodu varlığının saptanması da önemlidir. US ile nodülün hipoekoik olması, periferik halo bulunmaması, düzensiz sınırlı olması, mikrokalsifikasyon, nodülün ön arka çapının transvers uzunluğundan fazla olması ve nodülün hipervasküler olması malignite açısından kuşku bulgularıdır (34,42).

2.6.4.Sintigrafi

Sintigrafide nodüler yapılar genelde 8 milimetrenin üstünde ise tespit edilebilmektedir. Tiroidin sintigrafik tetkikinde yorum bezdeki tutulum oranına göre yapılır; nodüler yapılar sintigrafiye göre soğuk (hipoaktif), sıcak (hiperaktif) veya ılık

(normoaktif) olarak değerlendirilir. Soğuk nodüllerde radyoaktif ajanla işaretli iyodun transport ve organifikasyonu bozuktur. Bu nedenle lezyon bölgesinde birikim çevre tiroid dokusundan daha azdır. Sintigrafide tiroit nodüllerinin %85'i soğuk olup, bu lezyonların %10-25'inde kanser gelişme riski vardır. Sıcak nodüllerden kanser gelişme riski ise %1 olup, tüm nodüllerin de %5'i sıcak nodüllerdir (34,47).

2.6.5.Tiroit İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (TİİAS)

Tiroidin nodüler hastalıklarının tanısında ve cerrahi tedavi uygulanacak hastaların seçiminde ince iğne aspirasyon sitolojisi (İİAS) güvenilir ve ucuz bir yöntemdir. Biyopsiyi yapanın ve değerlendiren sitopatoloğun bu konudaki deneyimi, sonucu etkileyen önemli faktörlerdir. Benign lezyonlar için yalancı negatiflik oranı %6, malign lezyonlar için ise %4 olarak saptanmıştır. Gerek benign gerekse malign lezyonlar açısından tanısal doğruluk oranı %95'tir. İİAS'nin komplikasyonu yok denecek kadar azdır. İİAS sonucu benign, malign, şüpheli veya yetersiz olmak üzere dört farklı şekilde tanımlanabilir (34,48).

2.6.6.Bilgisayarlı Tomografi

Bilgisayarlı tomografi (BT) ileri derecede büyümüş tiroidin boyutlarını hesaplamak, kitle varsa bunun invazyon derecesini belirlemek ve ektopik tiroit dokusunu araştırmak için kullanılır. BT normalde tiroit bezini incelemek için kullanılmaz ancak özellikle mediastinal guatr'ın incelenmesinde endikedir. Kitlenin çevre yapılarla ilişkisini çok iyi göstererek cerrahi planlamaya yardım eder (10).

2.7.Tiroit Bezinin Primer Kanserleri

Tiroit bezinin primer kanserleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

A. Foliküler hücre kaynaklı kanserler

A.1. Diferansiye tiroit kanserleri

-I. Papiller tiroit kanseri

-II. Foliküler tiroit kanseri

-III. Hurthle hücreli tiroit kanseri

A.2. Az diferansiye tiroit kanseri

A.3. Anaplastik kanser

B. Parafoliküler hücre kaynaklı kanserler

B.1. Medüller tiroit kanseri

C. Lenfoma

D. Diğer (sarkom, fibrosarkom, epidermoid kanser, mukoepidermoid kanser)

2.8. Papiller Tiroit Kanser

Papiller tiroit kanserleri (PTK) tüm tiroit kanserlerinin ve diferansiye tiroit kanserlerinin en sık görülen türü olup 2010 yılında ABD’de bildirilen 44670 tiroit kanseri olgusunun %90’ını PTK’nın oluşturduğu saptanmıştır (8,49). Radyasyon ile ilişkisi en iyi bilinen tiroit kanseridir (34,46). PTK’inin yaşa göre düzeltilmiş insidansı son 25 yılda iki kat artmıştır. PTK 20-50 yaş aralığında, kadınlarda ve iyottan zengin bölgelerde daha sık görülür. En sık 4. dekatta görülmektedir. PTK yavaş seyirli ve prognozu iyi bir kanser olup 20 yıllık sağ kalım oranları % 90’ın üzerindedir (8). PTK’inin en önemli özellikleri sıklıkla bölgesel lenf ganglionlarına metastaz yapması (%20-50) ve multisentrik olmasıdır (%30-80) (8,12,39).

Yüksek rezolüsyonlu US kullanımı ve İİAS’de tanı kriterlerinin gelişmesi gibi tanı yöntemlerindeki ilerlemeler sayesinde tiroit kanserleri günümüzde daha erken evrelerde tanınmaktadır. Böylece tanı konulan 1 cm ve daha küçük olan papiller mikrokarsinom (PMK)’ların sayısı da artmaktadır (8,20). PMK’lar nodüler guatr nedeniyle uygulanan tiroidektomi sonrası insidental histolojik bulgu olarak da saptanabilir. Otopsi serilerinde saptanan PMK oranı % 6 ile 36 arasında değişmektedir. Genel olarak PMK’ların klinik seyri mükemmel olup çok nadiren uzak metastazlara da sebep olarak kötü bir klinik seyir gösterebilirler (8,21).

2.8.1. PTK’ inin Patolojik Alt Tipleri

2.8.1.1. Papiller Mikrokanser

PTK tümör boyutu 1 cm ve altında olduğu zaman papiller mikrokanser olarak adlandırılmaktadır. PMK insidansı gün geçtikçe artmaktadır (35,36).Çoğu

mikrokanserler okült olup, başka bir benign tiroit hastalığı nedeniyle yapılan operasyon sırasında rastlantısal olarak saptanmaktadır. İnsidental mikrokanserlerin insidental olmayanlara göre daha düşük persistans ve rekürrens oranına sahip olduğu gösterilmiştir (50).

Tümör çapının rekürrens ya da persistan hastalıkla ilişkisi bulunmamasına rağmen, lenf nodu metastazı ve çevre dokuya yayılımın tümör boyutu küçüldükçe daha az oranda görüldüğü bildirilmektedir (51). Vakaların yaklaşık %20'si multifokaldır. Akciğer metastazı nadirdir. Rekürrens ve mortalite sifira yakındır (52). Bazı PMK'ler agresif seyir gösterebilirler (51). PMK'lerde de multifokalite, ekstratiroidal yayılım, tanı sırasında lenf nodu metastazı, Graves hastalığı, ileri yaş ve erkek cinsiyet rekürrens için bağımsız risk faktörleri olarak bulunmuştur. PMK'lerde cerrahi sonrası I-131 tedavisi; multisentrik tümör, lenf nodu pozitif, kapsül ya da damar invazyonu varsa önerilmektedir (50).

2.8.1.2. Enkapsüle Varyant

PTK'lerin büyük kısmı kapsülsüz olmakla birlikte yaklaşık %10 oranında görülen bu alt tipte tümörü saran iyi sınırlı fibröz bir kapsül mevcuttur. Bu alt tip, papiller tiroit kanserinin klasik çekirdek özelliklerini taşır ve iyi prognoza sahiptir (52).

2.8.1.3. Folliküler Varyant

Tüm papiller kanserlerin yaklaşık %10'undan sorumludur. Genelde kapsülsüzdür. Bu alt tipin mikrofolliküler yapısal paterni folliküler kanserden ayırt edilemez ancak papiller kanserin tipik çekirdek özellikleri ayırt etmeye yardımcıdır. Metastazı da Psammom cisimcikleri içerir ve papiller kanserinin tipik özelliklerini gösterir. Bu tipte, multisentrisite, vasküler invazyon ve nodal yayılım yanı sıra, uzak metastaz da sık gözlenir (47,52).

2.8.1.4. Makrofolliküler Varyant

Papiller tiroit kanserinin en nadir görülen formudur. Bu alt tip, düşük lenf nodu metastaz insidansı ile karakterizedir (53).

2.8.1.5. Onkositik (Oksifilik) Varyant

Küçük ya da büyük poligonal onkositik (Hurthle tipi) hücre değişimi gösteren kapsüllü tümörlerdir. Nükleer özellikleri papiller karsinoma özgüdür, dar ya da geniş folliküler yapılar içerir (54).

2.8.1.6. Diffüz Sklerozan Varyant

PTK'inin yaklaşık %5'inden sorumludur. Daha sıklıkla çocuk ve adolesan çağda sık görülür. Çernobil nükleer faciasından sonra çocuklardaki tümörlerin yaklaşık %10'u bu alt tiptir. Genelde her iki lobu da tutar. İlk prezentasyonda lenf nodu metastazı genelde sıktır ve yaklaşık %25'inde akciğer metastazı vardır (52,54).

2.8.1.7. Yüksek Silindirik Hücreli (Tall Cell) Varyant

PTK'inin yaklaşık %10'undan sorumludur. İki dekat daha geç görülür (ortalama yaş 50) ve erkeklerde sık görülür. Tümör genelde büyük boyutludur. Geniş eozinofilik sitoplazmalıdır ve papiller karsinoma özgün belirgin nükleuslara sahiptir. Olguların yaklaşık %25'inde vasküler invazyon izlenir. Ekstratiroidal yumuşak dokuya invazyonu ve uzak metastazı fazladır. Bu tümörde sıklıkla p53 tümör supresör gen mutasyonları tespit edilir. Uzun dönemdeki mortalitesi tipik papiller kansere göre 2-3 kat fazladır (52,54).

2.8.1.8. Prizmatik Hücreli (Kolumnar Cell) Varyant

Sıklıkla erkeklerde görülür. Yaklaşık %90'ın üzerinde uzak metastazı vardır. Papiller ve trabeküler yapıların yanı sıra, oval şekilli, içi boş folliküler yapıları içerir. Metastazlarını diğer adenokarsinomalardan ayırmak zordur. Kapsüllü olduğu zaman prognozu daha iyidir (52,54).

2.8.1.9. Solid (Trabeküler) Varyant

Çocukluk yaşlarda görülen tiroit kanserleri daha çok bu tiptedir. Vasküler invazyon ve tiroit dışı yayılım vakaların üçte birinde gözlenir (54)

2.8.1.10. Kribriform Varyant

Kribriform karsinom tipinde varyant, daha çok genç kadınlarda görülür. Bu tip FAP (ailevi adenomatöz polipozis) ve Gardner sendromu olan hastalarda görülür (54).

2.8.1.11. Diğer Varyantlar

Nadir olarak Berrak Hücreli Varyant, Nodüler Fasitis Tipinde Stromalı Papiller Karsinom, Fokal İnsular Komponentli Papiller Karsinom ve Papiller ve Medüller Kombine Karsinom alt patolojik tipleri de görülebilmektedir (34).

2.8.2. Papiller Tiroit Kanserde Prognoz ve Prognozu Etkileyen Faktörler

PTK, en yaygın tiroit kanseridir. Klinik ve patolojik özelliklerine göre prognoz tahmin edilebilir (55). PTK olgularında kür oranları oldukça yüksek olmasına rağmen, bazı olgularda nüks veya ölüm riski vardır. PTK'de 5 yıllık sürvi %90-95 bulunmuştur, 10 yıllık sürvi ise %80-95'tir. Tanı konulduğu zaman prognozu belirleyen en önemli üç değişken; tümörün evresi, hastanın yaşı ve uygulanan tedavidir (35,52).

2.8.2.1. Yaş

Yaş en önemli prognostik faktördür. Yaş ≤ 45 yıl olanlar, >45 yıl olanlara göre belirgin olarak daha iyi prognosa sahiptirler. Yaşa göre evrelemesi olan tek kanser tiroit kanseridir. AJCC (American Joint Committee on Cancer) ve UICC (Union International

Control Cancer) evrelemeleri bunlardan birkaçıdır. Yaş ≤ 45 yıl olanlarda evre 3 veya 4 yoktur. Bu hastaların uzak metastazları olsa da prognozları çok iyidir (56). Genç hastalarda tümörün I-131 tutmasının daha iyi olması nedeniyle gençlerde tedavi cevabı daha iyidir (52). Papiller mikrokanserler ile yapılan bir çalışmada yaşın > 45 yıl olması ile noninsidental (klinik olarak belirgin) kanser, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastazı, bilateral odağın olması, persistan ya da rekürren hastalık ilişkili bulunmuştur (57). Yaşlı hastalarda kanser daha agresif olma eğilimindedir. Genellikle tanı sırasında uzak metastaz vardır (35,54).

2.8.2.2.Cinsiyet

Erkeklerde rekürrens ve mortalite kadınlar ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. Erkeklerde 30 yıllık kanser ile ilişkili mortalite kadınların iki katı olarak bulunmuş ve cinsiyet bağımsız bir risk faktörü olarak belirtilmiştir (52). Cinsiyetin prognostik önemi yaşa göre daha azdır (35).

2.8.2.3.Aile Öyküsü

Ailesinde tiroit kanseri hikayesi olanlarda tiroit kanseri daha sık görülür ve prognoz daha kötüdür. Papiller tiroit kanserlerinin yaklaşık %3-7'si aileseldir, bazen otozomal dominant geçiş gösterir (34).

2.8.2.4.Radyasyon Öyküsü

Anamnezinde baş ve boyun bölgesine radyasyon tedavisi almış olanlarda iki major klinik durum vardır. Bunlardan birincisi tiroit nodül gelişim riskinin artması ikincisi bu nodülün malignite olasılığının artmasıdır (44). Radyasyon anamnezi olanlarda primer tümör boyutunun daha büyük, daha sıklıkla multisentrik, daha sıklıkla lokal invaziv ve daha fazla lenf nodu metastazı olduğu gözlenmiştir (44). Çernobil sonrası görülen kanserlerin daha agresif olduğu, intraglandüler ve tiroit dışı yayılımın, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz eğiliminin daha fazla olduğu gözlenmiştir (47). Başka bir çalışmada da 16 yaşın altında benign hastalıklar için radyasyon anamnezi olan PTK tanılı 30 hasta ile radyasyon anamnezi olmayan PTK tanılı 34 hasta karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ise radyasyona maruz kalan grubun yaş ortalaması daha genç, erkek oranı, lenf nodu metastazı, multifokal olma özelliği daha fazla bulunmuştur (58). En yüksek rekürrens oranı ve kanser bağlı ölüm oranı da eksternal radyoterapi alanlarda gözlenmiştir (59).

2.8.2.5. Otoimmün Hastalık Öyküsü

Eşlik eden Hashimoto tiroiditi varsa bağımsız olarak iyi prognostik bir faktör olarak gösterilmiştir (35,52). Başka bir çalışmada da Graves Hastalığı olanlarda papiller kanser sıklıkla daha büyük boyutlu, daha agresif ve daha invaziv bulunmuş ayrıca lenf nodu metastazı, multisentrisite ve uzak metastaz oranı da daha fazla saptanmıştır (34).

2.8.2.6. Tümör Çapı ve Multifokalite

PTK'de tümör çapı arttıkça mortalite ve nüks oranı da artmaktadır (35). Tümör çapı 1,5 cm'den küçük olanlar için 30 yıldan sonra nüks oranları, daha büyük tümörlerin üçte biri kadardır. Yine 30 yıllık kansere spesifik mortalite; çapı 1,5 cm'nin altındaki tümörlerde %0.4 iken, 1,5 cm'nin üzerindeki tümörlerde %7 olarak bulunmuştur (59). PMK'lı 281 hastanın incelendiği bir çalışmada lokal rekürrens oranı %3.9 olarak bulunmuştur. Multifokal, lenf nodu metastazlı, kapsülsüz, stromada skleroz içeren ve folliküler tipte olanlar daha kötü prognozludur. Ayrıca multifokal tümörlerde anlamlı derecede daha fazla lenf nodu metastazı, lokal persistan hastalık, uzak metastaz ve mortalite saptanmıştır (34).

2.8.2.7. Lenf Nodu Metastazı

Lenf nodu metastazı, primer tümör boyutu ve multisentrisite ile ilişkilidir. Agresif tümör davranışını yansıtır. Servikal lenf nodu metastazı olması, lokal rekürrens için artmış risk faktörüdür (52). Başka bir çalışmada da servikal lenf nodu metastazı olanlarda 30 yıllık rekürrens ve kanser mortalitesi daha fazla bulunmuştur (59). Bilateral lenf nodu metastazı, mediastinal lenf nodu metastazı ve lenf nodu kapsülünü aşip çevre dokuya invazyon olması kanser ile ilişkili mortalitenin artmış olduğuna işaret etmektedir (52). Genel olarak, çalışmalar servikal lenf nodu metastazı ile kötü prognoz arasındaki ilişkiye işaret etmektedir (34). Bazı çalışmalarda ise bölgesel lenf nodu pozitifliğinin sürvi üzerine bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (34,35). Başka bir çalışmada ise servikal lenf nodu metastazının ≥ 45 yaş olan hasta grubunda prognozu etkilediği gösterilmiştir, < 45 yaş olan hasta grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (34).

2.8.2.8. Histopatolojik Faktörler

Papiller tiroit kanserinin kolumnar, tall cell ve düffüz sklerozan hücreli varyantlarında kötü, kapsüllü ve folliküler varyantlarında iyi prognoz söz konusudur. (35,41).

2.8.2.9. Onkogenler

P53 geninin somatik mutasyonları ya da onu kodlayan proteinlerin hiperekspressyonu, indiferansiye tümörlerde yaygın olarak gözlenir. C-myc ekspresyonu, daha agresif tiroit kanserleri ile ilişkilidir. Ras geninin nokta mutasyonları ve p21 proteininin aşırı ekspresyonu papiller tiroit kanserinde olup, kötü sağ kalım oranı ile ilişkilidir. (35).

2.8.2.10. I-131 Tedavisi ve TSH Süpresyonu

Başlangıç cerrahi sonrası I-131 tedavisi uygulanması sürviyi uzatmakta, mikroskopik rezidüel metastazı elimine ederek yaşam kalitesini düzeltmektedir (34). Cerrahi sonrası TSH baskılanmayanlarda rekürrens oranı daha yüksek bulunmuş, tiroksin süpresyon tedavisi alan hastalarda 30 yıllık izlemde sonra tümör rekürrens oranı %25 daha az tespit edilmiş ve kansere bağlı ölüm de daha düşük bulunmuştur (59).

2.8.2.11. Tiroit Dışı İnvazyon

Tümörde ekstratiroidal invazyon varlığı prognozu oldukça kötü etkilemektedir. Ekstratiroidal invazyon lokal nüks ve uzak metastaz risklerini arttırdığı gibi mortalite ile de ilişkili bulunmuştur (59). Ekstratiroidal yayılımı olanlarda lokal rekürrens, bölgesel ve uzak metastaz insidansı daha yüksek olarak bildirilmiştir (56). Tiroit kapsülü dışına yayılım da kuvvetli bir kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur (34). Sadece tiroit kapsül invazyonu çevre yumuşak dokuya invazyon olmasa bile benzer prognoza sahiptir (35).

2.8.2.12. Uzak Metastaz

Tiroit kanserine bağlı ölüm nedenleri araştırılan bir çalışmada ölümlerin %43'ünde neden, akciğer metastazı nedeniyle gelişen solunum yetersizliğidir. Diğer nedenler hava yolu obstrüksiyonu (%13), kontrolsüz lokal tümörün yol açtığı masif hemoraji (%15), vena kava obstrüksiyonunun yol açtığı dolaşım yetersizliği (%15) olarak sıralanır (60). PTK'de tanı sırasında %5'ten daha az, sonrasında %5 oranında uzak metastaz saptanır

(52). PTK'de uzak metastaz kuvvetli bağımsız bir prognostik faktör olarak gösterilmiştir (34).

2.8.2.13. Tümör Derecesi DNA Ploidi

Tümör derecesi, Avrupa ve Mayo kliniklerinde yapılan araştırmalara göre papiller tiroit kanseri serilerinde önemli bir prognostik faktör olarak gösterilmiştir. Joensu ve arkadaşlarının raporunda, DNA anoploidi özelliği kötü, fakat bağımsız prognostik bir faktör değildir (34).

2.8.2.14. Primer Cerrahinin Derecesi

Total ya da totale yakın tiroidektomiler daha az kanser rekürrensi ve daha düşük kanser spesifik mortalite ile ilişkili bulunmuştur (59).

2.8.2.15. Evreleme

Prognostik skora sistemlerinin amacı düşük ve yüksek riskli hastaları ayırt ederek düşük riskli olanları daha az agresif protokoller ile tedavi etmektir. EORTC, AMES, AGES, MACIS ve TNM tiroit evreleme sistemlerinden bazılarıdır. En sık kullanılan ve tiroit kanserine bağlı ölüm riskini tahmin etmede en kullanışlı sistem TNM sistemidir (Tablo 1) (35).

Tablo 1. Papiller tiroit kanserinde TNM evreleme

<p>TX Primer tümör değerlendirilemiyor</p> <p>T0 Primer tümör kanıtı yok</p> <p>T1 Tümör tiroide sınırlı, 2 cm çaplı ya da daha küçük</p> <p>T2 Tümör tiroide sınırlı, 2 cm'den büyük 4 cm'den küçük çaplı</p> <p>T3 Tümör tiroide sınırlı, 4 cm'den büyük çaplı ya da herhangi boyutta olan tümör ve minimal tiroit dışı yayılım (sternohyoid kası yada tiroid çevresi yumuşak doku)</p> <p>T4a Tümör herhangi boyutta ve kapsül boyunca dışarı yayılım ve subkutanöz yumuşak doku, larinks, trakea, özefagus yada rekürrent laringeal sinir invazyonu</p> <p>T4b Prevertebral fasya ya da karotis arteri ya da mediastinal damar invazyonu</p> <p>Tüm Anaplastik (undifferansiye) tümörler T4 kabul edilir.</p> <p>T4a İntratiroid Anaplastik karsinom (rezektabl)</p> <p>T4b Ekstratiroid Anaplastik karsinom (unrezektabl)</p>
<p>NX Rejyonel lenf nodları değerlendirilemiyor</p> <p>N0 Rejyonel lenf nodu metastazı yok</p> <p>N1 Rejyonel lenf nodu metastazı var</p> <p>N1a Level VI metastazı (pretrakeal, paratrakeal ve prelaringeal/Delphian)</p> <p>N1b Unilateral, bilateral, kontralateral servikal ya da süperior mediastinal lenf nodu</p>
<p>MX Uzak metastaz değerlendirilemiyor</p> <p>M0 Uzak metastaz yok</p> <p>M1 Uzak metastaz var</p>

Histoloji ve hasta yaşı tiroit kanserinde ileri hastalık sınıflaması için değerlendirilir. AJCC evreleme sisteminde PTK ve folliküler tiroit kanseri için 45 yaşından genç olup uzak metastazı olmayan tüm hastalar evre1, uzak metastazı olanlar ise evre 2 olarak sınıflanır (Tablo 2).

Tablo 2. Papiller tiroit kanserinde evreleme (AJCC)

Evre	45 yaş altı	45 yaş ve üstü
Evre 1	T1-4 veya N,Mo	T1N0M0
Evre 2	T1-4 veya N,M1	T2N0M0
Evre 3		T3N0M0/T1N1aM0/T2N1aM0 T3N1aM0
Evre 4		T4aN0M0/T4aN1aM0/T1N1bM0/ T2N1bM0/T3N1bM0/T4aN1bM0

Hastaların çoğunluğu erken evrede tanımlanır (%80'den çoğu evre 1 ve 2) ve iyi prognoza sahiptir (37,55). Mortalite evre 4 hastalıkta belirgin olarak artar. Ancak bu grup, tüm hastaların sadece %1'ini oluşturur (55). TNM sınıflamasına göre 10 yıllık mortalite evre 1'de %1,7'iken evre 2'de %16, evre 3'te %30 ve evre 4'te ise %61'dir. Tam remisyon sonrası nüks oranları ise sırası ile %15, %22, %46 ve %67'dir. Prognoz çalışmasında çoklu değişken analizi ile mortalitenin bağımsız belirleyicileri arasında tümör evresinin 4 olması, riski 2,8 kat artırmaktadır (61).

Bunların dışında Avrupa Tiroit Birliği (European Thyroid Association-ETA) TNM'ye göre risk grupları tanımlamıştır. Buna göre; tiroit kanserli olgular şu gruplarda ele alınmaktadır.

1) Çok düşük riskli olanlar: Unifokal T1(\leq 1 cm)N0M0 ve kapsül invazyonu olmayanlar

2) Düşük riskli olanlar: T1(>1 cm)N0M0 ya da T2N0M0 ya da multifokal T1N0M0

3) Yüksek riskli olanlar: T3 ve T4 ya da herhangi bir T, N1 ya da M1

2.8.3. Papiller Tiroit Kanserinde Tedavi

2.8.3.1. Primer Tümör Tedavisi

Papiller tiroit kanserinin primer tedavisi cerrahidir. Cerrahi tedavinin amacı primer tümör ile birlikte etkilenmiş lenf ganglionları ve varsa tiroit kapsülü dışına taşan hastalığın tümüyle eksizyonudur.

Malignite tanısı konmuş hastada; 1 cm'nin üzerindeki tümörlerde önerilen tedavi, total veya totale yakın (Berry ligamanı yanında, rekürren laringeal sinire komşu 1 gr'dan daha az tiroit dokusu bırakarak tüm tiroit dokusunun çıkarılması) tiroidektomidir. Çapı 1 cm den büyük PTK'de sadece lobektomi yapılması hem nüks hem de mortalite riskini artırmaktadır (39). Çapı 1cm'den küçük enkapsüle, lokal invazyon ve multisentirisite göstermeyen papiller mikrokanserlerde lobektomi yeterli bir girişim olabilir. Lobektomi sonrası yapılan histopatolojik incelemede sonrası agresif alt grup veya tiroit dışı mikroskopik invazyon saptanması durumunda tamamlayıcı tiroidektomi uygulanması önerilir (12,39). Çapı 1 cm'nin altında olmasına rağmen daha önce baş-boyun bölgesine radyasyon hikayesi veya klinik olarak bölgesel lenf gangliyon metastazı olan hastalarda total tiroidektomi yapılmalıdır. Makroskopik santral veya lateral metastaz saptanan hastalarda santral ve lateral boyun diseksiyonu uygulanmalıdır (39).

Ultrason ile veya ameliyat esnasında santral bölgede patolojik lenf gangliyonu saptanan papiller kanserli hastalar veya lateral bölgede kanıtlanmış metastatik lenf gangliyonu olan hastalarda total tiroidektomi ile birlikte santral boyun diseksiyonu (SBD) ve lateral boyun diseksiyonu (LBD) önerilmektedir. Klinik olarak N0 olan hastalarda ise proflaktik santral lenf diseksiyonu ve lateral boyun diseksiyonu tartışmalı bir konudur ve proflaktik diseksiyonun lokal nüks ve sağkalım üzerine etkisi hakkında henüz kesin bir veri yoktur (62). Sadece klinik olarak T3 ve T4 tümörlerde makroskopik santral lenf gangliyonu tutulumu olmasa bile proflaktik SBD önerilmektedir (8,12,39).

Lateral servikal bölgede US ile patolojik olduğu saptanan ve İİAS ile metastatik olduğu doğrulanan PTK'li hastalarda lateral bölgeye yönelik modifiye radikal boyun diseksiyonu endikasyonu vardır. Lateral bölgede radyolojik ve histolojik olarak metastatik gangliyon şüphesi olmayan hastalarda proflaktik lateral diseksiyon önerilmez (39).

2.8.3.2. Adjuvan Tedavi

2.8.3.2.1. Radyoaktif İyot (RAI) Ablasyonu ve Tedavisi

Radyoaktif iyot verilmesinin üç temel amacı; tanı, ablasyon ve tedavidir. Rezidüel dokunun ablasyonu önemlidir. Ablasyon için en önemli ajan I-131'dir. Bu ajan yaydığı beta partikülleri ile birkaç milimetre uzaklıkta destrüksiyon yapar. Normal dokuları etkilemeden, yoğun radyasyon tiroit dokusunu etkiler. Aynı zamanda I-131 yaydığı gamma ışınları ile de sintigrafik görüntüleme kullanılır (63). Postoperatif I-131 ile ablasyonun birden fazla amacı vardır. Bir tanesi, ablasyon sonucu takipte yapılacak TVT (tüm vücut taraması) ve Tg ölçümlerinin duyarlılığını artırmaktır. Diğer bir amaç ise I-131 ile okült mikroskopik kanser odaklarını tahrip ederek uzun vadede nüks riskini azaltmaktır (34,63).

ETA'nın RAI ablasyonu önerisi; risk sınıflamasına göre şöyle olmaktadır:

-Çok düşük riskli hastalarda: Unifokal ≤ 1 cm olan tümörlerde ve tiroit kapsül invazyonu ve lenf nodu metastazı olmayan hastalarda yararı ve endikasyonu olmadığı.

-Yüksek riskli hastalar (uzak metastazı olan, inkomplet tümör rezeksiyonu ya da tiroit kapsül invazyonu veya lenf nodu metastazı olan) veya rekürren hastalığı olanlarda: I-131 ablasyonu rekürrensi azalttığı ve surviyi uzattığı için önerilmektedir.

-Düşük riskli hastalarda (diğer tüm hastalar): Gerektiği durumlarda önerilmektedir (64).

Neoplastik ve normal tiroit dokusunu uyararak dokunun maksimum şekilde iyot tutması için gerekli olan TSH seviyesine ulaşıldığı zaman (TSH>30 μ U/ml), yani cerrahiden yaklaşık 6 hafta sonra I-131 verilmelidir. Bu zaman süresince hasta iyot kontaminasyonundan kaçınmalıdır. Son iki hafta süresince hastalar düşük iyotlu diyet almalıdırlar. Tiroksin tedavisi 4-5 hafta önce kesilmelidir. I-131 tedavisinin komplikasyonlarından biri olarak radyasyon tiroiditi görülebilir. Tiroit lojunda ağrı, şişlik ve nadiren steroid tedavisi gerektiren hava yolu kompresyonu ortaya çıkabilir. Büyük fonksiyonel tümör yükü olan hastalarda tedavi sonrası 2-10 gün içerisinde tiroit fırtınası görülebilir. Stenon kanalının tıkanıklığına bağlı olarak tedaviden sonraki bir yıl

içinde geçici parotis şişliği görülebilir. Geniş pulmoner metastaz için I-131 tedavisi alanlarda pulmoner fibrozis görülebilir (64). Küçük bir oranda akut miyeloid lösemi gelişme riski vardır ve bu durum kümülatif doz ile ilişkilidir. I-131 tedavisi gebe kadınlara verilmemelidir. Bu nedenle I-131 tedavisi alanlarda gebelik bir yıl ertelenmelidir (65)

2.8.3.2.2. TSH Baskılama Tedavisi

Farklılaşmış tiroit kanserlerinin tedavisinde foliküler hücre büyümesi için uyarıcı olan TSH, L-tiroksin ile baskılanmaktadır. TSH düzeylerinin baskılı olmasının, nüks riskini azalttığı bilinmektedir ancak bu faydanın özellikle evre 3-4 hastalığı olanlarda görüldüğü bildirilmektedir. Evre 1 hastalarda TSH baskılamasının faydası olmadığı, Evre 2 hastalığı olanlarda TSH düzeylerinin 0,1-0,5µU/ml olacak şekilde baskılanmasının yeterli olduğu, Evre 3-4 hastalığı olanlarda ise TSH düzeyinin 0,1µU/ml'nin altına indirilmesinin faydalı olduğu bildirilmektedir (39).

2.8.3.3. Nüks ve Metastazların Tedavisi

Gençlerde I-131 tutan akciğer metastazlarında RAI tedavisi oldukça etkilidir. RAI tutulumu olan ve akciğer grafilerinde mikronodüler metastaz görülen PTK'li hastaların prognozunun RAI tutulumu olmayan diğer hastalardan ve akciğerde makronodüler metastazları olan hastalardan daha iyi olduğu gösterilmiştir (66).

Kemik metastazlarının RAI tedavisine verdiği cevap, yaşam süresini artırmasına rağmen, diğer tedavi yöntemleri ile birlikte kullanılması durumunda bile oldukça yetersizdir (34)

2.8.4. Papiller Tiroit Kanserinde İzlem

Papiller tiroit kanserinde izlem protokolleri hastanın risk grubuna göre değişir. Total tiroidektomi uygulanan bir hastada nüks veya uzak metastaz takibi bakımından serum Tg ölçümü önemli bir biyokimyasal parametredir. Antitiroglobulin (AntiTg) düzeyinin yüksek olması Tg ölçümünü olumsuz etkileyerek yanlış negatif ya da yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. Serum Tg düzeyi düşük olan bir hastada Anti Tg yüksekliği inatçı veya nüks papiller kanseri gösterebilir. Chung ve ark. Tg düzeyi

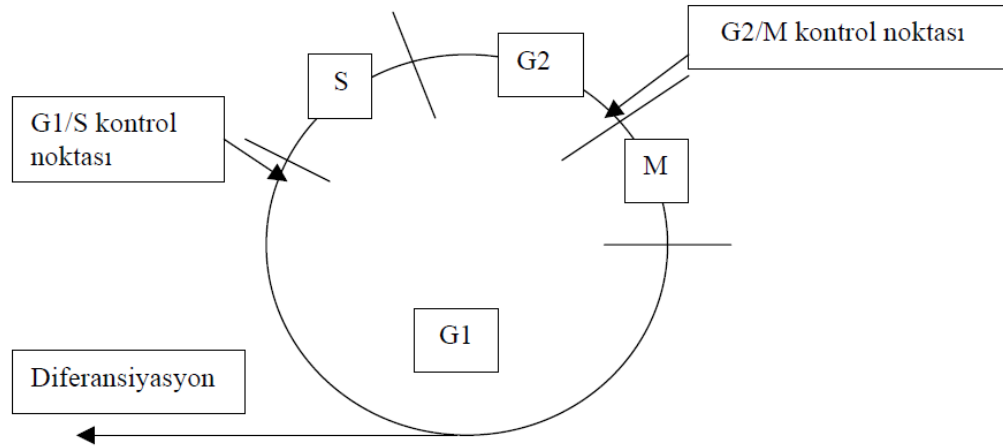
ölçülemeyecek kadar düşük ve anti-Tg pozitif olan hastaların %49'unda nüks saptamıştır. Cerrahi ya da cerrahi + RAI tedavisi sonrasında total tiroit ablasyonu gerçekleştiğinde serum Tg konsantrasyonlarının ölçülemeyecek kadar düşük olması beklenir. TSH uyarısı altında uyarılmış Tg düzeylerinin ölçümünün duyarlılığı daha yüksektir. Serum Tg değeri cerrahi ve RAI tedavi sonrası düşen bir hastada takip sırasında TSH uyarısı altında ya da TSH baskılı iken Tg düzeylerinin yükselmesi nüks göstergesidir. Serum AntiTg antikorları negatif olan hastalarda uyarılmış Tg düzeyinin <1 ng/mL bulunması tam ablasyona işaret eder ve biyokimyasal kür olarak kabul edilir. Serum anti-Tg antikorları negatif olan hastalarda uyarılmış Tg düzeyinin <0,5 ng/mL bulunması %98-99,5 oranında takipte tümör olmadığına işaret eder. Uyarılmış Tg düzeyinin >2ng/mL bulunması nüks açısından daha ileri incelemeleri gerekli kılar (8).

2.9. Hücre Siklusu

Hücre siklusu çoğalmak üzere uyarılmış bir hücrede gerçekleşen ve sonuçta birbirinin aynı olan iki yeni hücrenin oluşmasıyla sonuçlanan bir süreçtir (67-69). Hücreler mitoz girmeden önce bir hazırlık safhası geçirirler ve bu safhada hücreler hacimce büyürler. Bu hazırlık safhasında bölünme için gerekli olan çeşitli düzenleyici proteinler ve makromoleküller sentezlenir. Hücrenin bölünmek için hazırlandığı bu safhaya interfaz denir. İnterfaz kendi içinde G1, S, ve G2 olmak üzere üç aşamadan oluşur. Mitoz ve interfaz beraberce hücre siklusu olarak bilinen bir süreci oluştururlar. Dolayısıyla, bir hücre siklusu, fazların işleyiş sırasına göre söylemek gerekirse; G1, S, G2 ve M fazlarından oluşur (67-69). Hücre siklusuna giren bir hücre DNA sentezi yapar, böylece DNA'sını replike eder (ikiye katlar) ve ardından da DNA mitozla iki yavru hücreye eşit olarak dağılır. Genel olarak, G1 fazı DNA sentezine (S fazına) ve G2 fazı ise mitoz (M fazına) hazırlık fazlarıdır. Bu fazlarda RNA ve protein sentezleri yapılır ve ayrıca hücre kendisini bölünme için yeniden organize eder (70). G0 fazında (istirahat fazı) hücreler genellikle spesifik bir işlevi görmek üzere programlanır. G1 fazında spesifik hücre fonksiyonları için gerekli proteinler ve RNA sentezlenir. Ayrıca, DNA sentezi için gerekli birçok enzim üretilir. S fazında (DNA sentez fazı) hücre içindeki DNA miktarı ikiye katlanır. G2 fazında DNA sentezi durur, protein ve RNA sentezi devam eder. M fazında (mitoz) protein ve RNA sentez hızı aniden yavaşlar,

genetik materyal oluşan iki yeni hücreye dağıtılır. Mitozu takiben oluşan yeni hücreler ya G0 ya da G1 fazına girer (68,69).

Hücre siklusunun kendi içinde kontrolleri vardır. Hücre siklusunda oluşan bir hata kontrol noktaları tarafından düzenlenir; hatanın derecesine bağlı olarak, ya hata tamir edilecektir ya da mitoz durdurulacaktır (67-69). Başlıca denetim noktaları G1/S, G2/M ve metafaz-anafaz geçişleridir. Her ne kadar hücre siklusundaki her basamak önemli ise de G1'den S fazına geçiş, hücre siklusundaki çok önemli bir kontrol noktasıdır. S fazı, siklusun geri dönüşü olmayan bir noktasıdır. Bu noktada hücrede ya genom replikasyonu olur, ya hücre sessiz kalır ya da diferansiye olur (71-73) (Şekil 2).



Şekil 2. Hücre siklusunun bölümleri

2.10. Siklin D1 (CCND1) ve Polimorfizm

Hücre siklusu siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CDI) tarafından kontrol edilir (74). Siklinler, CDK ve CDI'lerinin düzeyleri hücre siklusunun çeşitli aşamalarında farklılık gösterir ve oldukça komplike bir düzen içinde siklusun ilerlemesini düzenlerler. CDK'lar kendi başlarına bulduklarında inaktiftirler. Siklin'e bağlandıklarında aktifleşirler ve böylece aktif siklin-CDK kompleksleri meydana gelir (67-69). Memeli hücrelerinde hücre siklusunun

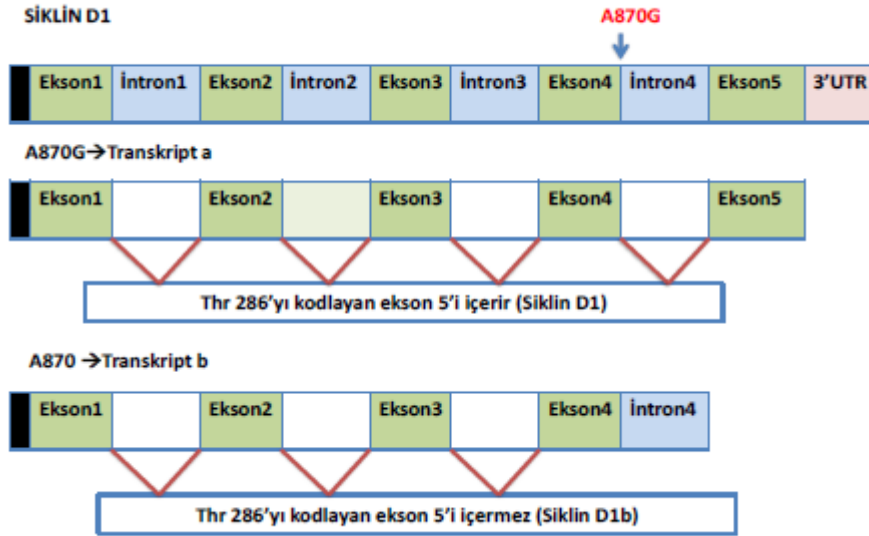
düzenlenmesinde işlevleri iyi bilinen farklı siklin tipleri (siklin D (D1, D2 ve D3); siklin E (E1, E1), siklin A (A1, A2) ve B (B1, B2) rol oynamaktadır (74).

Birçok hücre siklusu proteinleri kanser gelişimde rol oynamaktadır. En önemlilerinden biri siklin D1'dir. Siklin D1 (CCND1), kromozom 11q13'de lokalize bir gendir. Siklin D1, siklin D2 ve D3 ile beraber CDK4 ve CDK6'yı aktive eder ve G1'in ilerleyişinden sorumludur. Retinoblastoma (Rb), hücre siklusu düzenleyicisi ve tümör baskılayıcısı olarak bilinen genlerden biridir. Siklin ile oluşan CDK4 ve CDK6 kompleksleri Rb proteinlerini fosforile ederek onu inaktive eder. İnaktif Rb, aktifken kendisine bağlı olan transkripsiyon uzama faktörü-2 (E2F)'yi serbest bırakır. E2F de, G1/S geçişi ve S evresine giriş için gerekli -siklin A, E ve CDK1, myb, dihidrofolat redüktaz, timidin kinaz gibi- genlerin ifade edilmesini sağlar. Bu şekilde hücre siklusunda, bölünme aşamasına doğru giden süreçte kritik basamaklardan birinin daha geçişi sağlanmış olmaktadır (68,75).

Evrimsel süreçte tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucu genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır (75).

CCND1 lokusunda 100'ün üzerinde tek nükleotit polimorfizmi tanımlanmıştır (76). Tanımlanan bu polimorfizmler arasında Siklin D1 A870G polimorfizmi, insan popülasyonlarında özellikle çeşitli insan kanserlerinde en çok araştırılan polimorfizmdir (76,77). Siklin D1 A870G polimorfizmi Betticher ve ark. tarafından 1995 yılında tanımlanmıştır (78). Bu polimorfizm, genin ekspresyonu sonucu bir aminoasit değişimine neden olmamakta (76), alternatif iki transkriptin oluşmasını sağlamaktadır (78). Siklin D1 geni 5 ekzondan oluşur (76). G870'in bulunması (transkript a) Thr 286'yı (Treonin 286), içeren 5. ekzonun 4.ekzona bağlanmasını sağlar (Siklin D1a). Thr286 Crm1 ile Siklin D1'in hücre çekirdeği dışına taşınması için gereklidir. A870 alelinin bulunması durumunda (transkript b) Thr 286'yı kodlayan 5. ekzonun eksik

olduğu tespit edilmiştir (Siklin D1b). Bu transkriptte beşinci ekzon bulunmadığı için proteinin yıkımını düzenleyen diziler de mevcut değildir. Bu durum proteinin yarılanma ömrünün uzamasına ve CCND1'in hücrede birikmesine sebep olur (79). Bu durumda Siklin D1 b'nin çekirdek içinde biriktiği ve normal hücrelerin malignan değişimini uyardığı gösterilmiştir (Şekil 3) (67).



Şekil 3. Siklin D1 gen transkripsiyonu

CCND1 A870G polimorfizmi ile kolorektal kanser arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda kolorektal kanserlere yatkınlıkta A allelinin daha etkili olduğu görülmektedir (80-86). Bununla beraber Forones ve ark. (2008) yaptıkları araştırmada ailesinde kanser öyküsü bulunanlarda A allelinin kolorektal kanser için risk oluşturduğunu gösterdiler (86). CCND1 A870G polimorfizminin kolorektal kanserle olan ilişkisinde hastanın yaşı (87) ile cinsiyetinin etkisi olduğu (88) ve aynı zamanda bu polimorfizmin tümörün evresi, yerleşimi (80,87) ve metastaz yapıp yapmaması üzerine de etkileri bulunduğu saptanmıştır (88).

Griev ve ark. (2003) ve Krippel ve ark. (2003) meme kanseri ile CCND1 A870G polimorfizmi arasında ilişki olmadığını rapor etmişlerdir (81, 89). Türk popülasyonunda yapılan çalışmada ise meme kanserli hastalarda heterozigot olan AG genotipinde, homozigot AA ve GG genotiplerine kıyasla düşük meme kanseri riski saptanmıştır (90).

Taiwan’da 992 meme kanserli hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada da A allelinin meme kanseri için risk oluşturduğu gösterilmiştir (91).

Howe ve Lynas (2001) ve Pakakasama ve ark. (2009) farklı etnik kökene sahip lösemi hastalarında CCND1 A870G polimorfizmi ile lösemi arasında ilişki olmadığını rapor etmişlerdir (92,93). Bu çalışmaların aksine Çinli çocuklarda AA genotipinin lösemi için yüksek risk faktörü olduğu gösterilmiştir (94).

Mesane kanserinde, CCND1 AA genotipine sahip hastalar ile mesane kanseri arasında pozitif ilişki rapor edilmiştir (95,96). Özellikle sigara kullanmayan AA genotipli erkeklerde mesane kanser riski yüksek düzeyde saptanmıştır. Mesane kanserinde, ileri hastalık evresinde A allelinin dominant etki gösterdiği ortaya konmuştur (95).

CCND1 A870G polimorfizmi ile akciğer kanseri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmaların çoğunda, AA genotipine sahip bireylerde kanser riskinin yüksek olduğu görülmüştür (97-99). Diğer taraftan GG genotipinin de özellikle sigara kullananlarda akciğer kanser riskini artırdığını rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (100,101). Bunun yanı sıra başka bir çalışmada sigara içenlerde, AG+AA kombine genotiplerine sahip bireylerin akciğer kanseri için risk taşıdıkları bildirilmiştir (98). Çakına (2009)’nın akciğer kanserli hastalarda yaptığı çalışmada hasta grubundaki A870G genotip dağılımı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ancak hasta grubu içerisinde metastaz gelişimine A allelinin G alleleline karşılık daha fazla katkı yaptığı saptanmıştır (67).

Zhang ve ark. (2003), Casson ve ark. (2005) ve Jain ve ark. (2007) AA genotipinin özefagus ve mide kanserlerinde yüksek risk oluşturduğunu göstermiştir (102-104). Bu çalışmaların aksine CCND1 A870G polimorfizminin özefagus ve mide kanserleri üzerine etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (105-110).

Akkız ve ark. tarafından hepatoselüler karsinomalı Türk hastalarda yapılan çalışmada CCND1 870A allelinin hepatoselüler karsinoma için yüksek risk oluşturduğu bulunmuştur. AA genotipinde AG ve GG genotiplerine kıyasla yüksek risk taşıdığı istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir (111).

Demokan ve ark. (2011) Türk popülasyonunda yaptıkları çalışmalarında, baş-boyun kanserli hastalarla kontrol grubu arasında CCND1 geni G870A allel ve genotipleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (79).

Baş ve boyun kanserlerinde (112,113), akciğer kanserinde (98,114) ve özefagus ve mide kanserlerinde (102) alkol ve sigara kullanımının bu polimorfizm ile ilişkisi gösterilmiştir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran papiller tiroit kanser tanısı almış 102 hasta ile herhangi bir kanser öyküsü bulunmayan ve birbiri ile akrabalık ilişkisi olmayan 174 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Çalışmada; hasta (yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, tümör çapı, tümörün yeri, tümörün varyantı, ekstrasitroidal invazyon, kapsüler infiltrasyon ve lenf nodu metastazı bulunup bulunmadığı, radyoterapi ve kemoterapi alıp almadıkları, TSH, fT3 ve fT4 hormon düzeyleri) ve kontrol (yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı) gruplarına ait özellikler kaydedilmiştir.

Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'nun 04.06.2012 tarih ve 04.06.2012/232 sayılı kararı ile uygun görülmüştür.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Absolute etanol (Merck, Almanya), Agaroz (Merck, Almanya), Amonyum asetat (Merck, Almanya), Borik asit (Merck, Almanya), DNA ladder (Fermentas, SM1323), dNTP set (Fermentas, R0182), Etidyum bromür (Merck, Almanya), EDTA (Merck, Almanya), Hidroklorik asit (Merck, Almanya), MspI enzim seti (Fermentas, ER0541), Na₂EDTA (Merck, Almanya), Sodyum dodesil sülfat (Merck, Almanya), Sodyum hidroksit (Merck, Almanya), Sodyum klorür (Merck, Almanya), Primerler (Ella Biotech GmbH), Proteinaz K (Merck, Almanya), Taq Polimeraz (Fermentas, EP0402), Tris (Merck, Almanya), Tris-HCL (Merck, Almanya), Yükleme Tamponu (6X) (Fermentas, R0611).

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

Derin dondurucu (Uğur, Türkiye), İnkübatör (Nüve, Türkiye), Güç kaynağı (Cleaver Scientific Ltd., İngiltere), Hassas Terazî (Denver Instrument, Almanya), Jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Fransa), Manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, İtalya), Mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), Otoklav (Nüve, Türkiye), Otomatik pipetler (Ependorf-Almanya, CAPP-Danimarka), pH metre (Hanna Instruments, Amerika), Saf su cihaz (Microline), Santrifüjler (Selecta, İspanya), Spektrofotometre (Nanodrop, ND-1000, Amerika), Termal döngü cihazı (Takara- Amerika), Vorteks (Velp Scientifica, İtalya), Yatay elektroforez sistemi (Cleaver Scientific Ltd.,İngiltere).

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler

DNA İzolasyonunda Kullanılan Tampon Çözeltiler :

- Çekirdek Lizis Tamponu (pH: 8.2)

10 mM Tris-HCL	1,576 g
400 mM NaCl	23,4 g
2 mM Na ₂ EDTA	0,7 g

Distile su ile çözülerek 1 lt'ye tamamlandı. Çözelti otoklavda steril edildikten sonra, buzdolabında (+4 °C) muhafaza edildi.

-SDS %10

SDS	10 g
-----	------

Distile su ile çözülerek 100 ml'ye tamamlandı. Membran filtre ile sterilizasyon yapılarak oda sıcaklığında muhafaza edildi.

-Amonyum Asetat

Amonyum Asetat	74 g
----------------	------

Distile su ile çözülerek 100 ml'ye tamamlandı ve oda sıcaklığında muhafaza edildi.

-TE Tampon Çözeltisi (pH: 7.5)

1 mM Tris-HCL	0,394 g
1mM Na ₂ EDTA	0,093 g

Distile su ile çözülerek 250 ml'ye tamamlandı ve otoklavda steril edildikten sonra buzdolabında (+4°C) muhafaza edildi.

-Proteinaz K Çözeltisi

Konsantrasyonu 20 mg/ml olacak şekilde steril distile su ile hazırlandı ve -20 °C'de saklandı.

Elektroforezde Kullanılan Tampon Çözeltiler :

-10xTBE (Tris-Borat-EDTA Tamponu) (pH:8,3):

Tris Base	108 g/l
Borik asit	55 g/l
EDTA	8,3 g/l
Etidyum bromür:	10mg/ml

-%3'lük Agaroz Jel

% 3 Agaroz

1X TBE

0,25 mg/ml Etidyum bromür

-%4'lük Agaroz Jel

% 4 Agaroz

1X TBE

0,25 mg/ml Etidyum bromür

3.2. YÖNTEM

3.2.1. DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden EDTA'lı tüpler içerisine 10'ar ml periferik kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden tuzla çöktürme metodu kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Tuzla çöktürme metodu, yüksek miktarda DNA elde edilmesine olanak sağlayan, kolay uygulanabilir, ekonomik ve biyogüvenlik açısından avantajlı bir yöntem olduğu için tercih edildi.

Aşağıda belirtilen basamaklar sırasıyla uygulanarak DNA izolasyonu yapılmıştır:

1. EDTA'lı tüpler içerisindeki 10 ml kan 50 ml'lik steril tüplere alınarak üzerine 40 ml steril soğuk distile su eklendi ve 1-2 dakika eritrositleri patlatmak için tüpler çalkalandı.
2. Tüpler 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
3. Süpernatant atıldı ve pelletin üzerine 25 ml soğuk distile su eklendi, pellet çözülene kadar tüpler çalkalandı.
4. Tüpler 35000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant atıldı ve pelletin üzerine 3 ml çekirdek liziz tamponu, 200 µl SDS ve 150 µl proteinaz K eklendi, karışım vorteks ile homojenize edildi.
6. Tüpler 37 °C'de 16 saat inkübasyona bırakıldı.
7. Tüplerin içerisine 2 ml amonyum asetat eklendikten sonra tüpler 1 dakika sallandı ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.
8. Örnekler 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edildi.
9. Süpernatant toplanarak başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine 1:2 oranında % 96'lık soğuk etanol eklendi.
10. Tüpler dairesel şekilde döndürülerek DNA'nın toparlanması sağlandı.
11. Pipet ucuna değdirilerek alınan DNA steril 1,5 ml'lik eppendorf tüpe aktarıldı.

12.Elde edilen DNA örnekleri 500 µl TE (Tris-EDTA) tamponunda çözdürüldü.

İzole edilen DNA örnekleri -20 °C’de saklandı.

3.2.2. Spektrofotometrik Analiz

DNA örneklerinin konsantrasyonu spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda optik yoğunlukları okunarak belirlendi. Örneklerin saflığı ise 260 ve 280 nm dalga boylarındaki optik yoğunluk değerleri oranlanarak belirlendi.

3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasına olanak sağlayan bir tekniktir. PCR’nin temel prensibi; tekrarlanan üç basamağa dayanır. Bunlar; denatürasyon, primer bağlanma ve zincir uzama basamaklarıdır. Bu işlemler çok sayıda tekrarlanarak (30-35 döngü) istenilen DNA bölgesi çoğaltılmış olur (115).

CCND1 geninin 4. ekzonundaki A870G polimorfizmini içeren bölgenin çoğaltılması PCR ile yapılmıştır. Hedef bölgenin PCR’ı için kullanılacak primer dizileri ve oluşan PCR ürününün büyüklüğü Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. CCND1 geninin çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri

Gen	Primer Dizileri	PCR Ürününün Büyüklüğü
CCND1	İ: 5’- AGTTCATTTCCAATCCGCCC -3’ G: 5’-TTTCCGTGGCACTAGGTGTC -3’	212 bç

PCR işlemi için kullanılan reaksiyon içeriği Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. CCND1 geninin çoğaltılması için hazırlanan reaksiyon içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
ddH ₂ O	13,3 µl
10X Taq Buffer (KCl)	2,5 µl
2,5 mM MgCl ₂	2,5 µl
2 mM dNTP	2,5 µl
10 µmol İleri Primer	1,5 µl
10 µmol Geri Primer	1,5 µl
5U/1µl Tap Polimeraz Enzimi	0,2 µl
Genomik DNA	1 µl
<i>Toplam Hacim: 25 µl</i>	

PCR optimizasyonu sonucu elde edilen ısı döngüleri Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. PCR işleminin yapıldığı ısı döngüleri

Denatürasyon	94 °C’de	5 dakika
Döngü	94 °C’de	1 dakika
	60 °C’de	1 dakika
	72 °C’de	1 dakika
Sonlanma	72 °C’de	7 dakika
Döngü sayısı	35	

3.2.4. Agaroz Jel Elektroföresi

PCR ürünlerinin incelenmesi için %3’lük agaroz jel kullanıldı. Agaroz jel 1xTBE tamponu içinde mikrodalga fırında kaynatılarak hazırlandı. DNA örneklerinin UV ışık altında izlenebilmesi için agaroz jel çözeltisinin içine 25 µl etidyum bromür (10mg/ml) eklendi. Çözelti 56 °C’ye soğutulduktan sonra jel tabağına kalınlığı yaklaşık 5 mm olacak şekilde döküldü. Jel polimerize olduktan sonra 1xTBE tamponu içeren elektroföres tankına alındı. 3 µl PCR ürünü 2 µl 6X yükleme tamponu ile

kariştirildikten sonra jele yüklendi. Örnekler 100 V’da yaklaşık 59 dakika yürütüldükten sonra UV ışık altında incelendi.

3.2.5. CCND1 A870G Polimorfizminin RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Tekniği İle Belirlenmesi

Polimorfizm analizi, genel olarak polimeraz zincir reaksiyonu-bağlantılı restriksiyon fragment polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile yapılmaktadır. Bu yöntem, polimorfizmi ortaya çıkaran baz değişiminin bir restriksiyon enzimi için yeni bir kesim yeri ortaya çıkarması veya mevcut olan bir kesim yerini ortadan kaldırılmasına bağlı olarak, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan DNA fragmentinin enzim kesimi sonucunda normal durum ile polimorfik allel arasında uzunluk farklılıklarının (veya polimorfizminin) belirlenmesi temeline dayanır (116). Polimorfizminin analizi için PCR ile çoğaltılan gen bölgeleri özgül restriksiyon enzimi ile üretici firmanın önerdiği koşullarda kesime tabi tutulur. Kesim sonucu oluşan DNA parçaları agaroz jel elektroforezi ile büyüklüklerine göre ayrıştırılırlar.

CCND1 A870G polimorfizmini belirlemek için, hasta ve kontrol grubuna ait örneklerin PCR sonucu elde edilen rnleri MspI restriksiyon enzimi ile kesildi. MspI restriksiyon enziminin kesim koşulları Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. CCND1 gen bölgesinin MspI enzimi ile kesim koşulları

PCR ürünü	10 µl
Enzim (MspI)	1 µl
Tampon	2 µl
ddH ₂ O	8 µl
Toplam	21µl

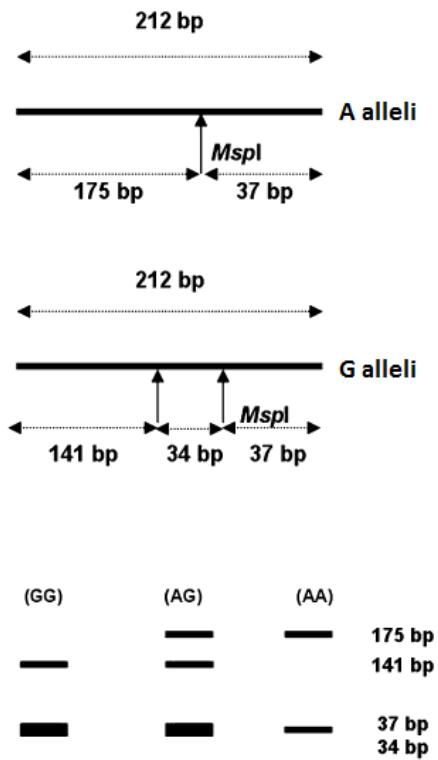
Hazırlanan karişım 37 °C’de 16 saat inkübe edildi.

Kesim sonucu elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezinde ayrıştırıldı, bunun için % 4’lk agaroz jel kullanıldı. Kesim rnleri jele 6X yükleme tamponu ile kariştırılarak yüklendi. Örnekler, 90 V’da yaklaşık 70 dakika yürütüldü. Oluşan bantlar UV ışık

altında görüntüledi. Elde edilen bantların büyüklükleri standart DNA markırları ile karşılaştırılarak tespit edildi ve bu şekilde CCND1 A870G polimorfizmi belirlendi.

3.2.6. Genotip Tayini

CCND1 geni 4. ekzonuna ait ilgili gen bölgesinin PCR ürünü 212 baz çifti (bç) uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda; 141, 37 ve 34 bç'lik 3 bant gözleendiğinde genotip GG; 175 ve 37 bç'lik 2 bant gözleendiğinde genotip AA; 175, 141, 37 ve 34 bç'lik 4 bant gözleendiğinde ise genotip AG olarak değerlendirildi (Şekil 4).



Şekil 4. CCND1 A870G polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan MspI enzim kesim bölgeleri ve oluşan genotipler

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol grupları arasındaki demografik karakterlerin dağılımındaki farklılıklar Student's t-testi ve ki-kare (χ^2) testi kullanılarak belirlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarındaki allel ve genotiplerin frekansları ve her iki grup arasındaki bu frekansların dağılımları arasındaki farklılıklar Pearson's Ki-kare (χ^2) testi ile analiz edilmiştir. CCND1 geni A870G genotipleri ile papiller tiroit kanser riski arasındaki ilişki

lojistik regresyon analizi kullanılarak belirlendi. Analizler SPSS for Windows 14.01 paket programı yardımıyla yapıldı. p değeri 0,05'den küçük olanlar anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Örnekleri ve DNA İzolasyonu

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran papiller tiroit kanser tanısı almış 102 hasta ile herhangi bir kanser öyküsü bulunmayan ve birbiri ile akrabalık ilişkisi olmayan 174 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin kanlarından izole edilen DNA örneklerinde CCND1 A870G polimorfizmi PCR-RFLP tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarına ait bireylerden DNA izolasyonları başarı ile yapılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler sonucunda ortalama 400 µg/ml konsantrasyonlarında DNA elde edilmiştir.

Hasta grubuna ait bireylerin yaş ortalaması 46.18 ±12.80, kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin yaş ortalaması ise 41.92 ±17.83 olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubundaki 174 bireyin % 59'u 45 yaş ve altı, % 41'i 45 yaş üzeri; %46'sı kadın, %54'ü erkek; %53'ü sigara kullanmayan, %47'si sigara kullanan ve %85'i alkol kullanmayan, %15'i alkol kullanan bireylerden oluşmaktadır (Tablo 7).

Hasta grubundaki 102 papiller tiroit kanserli hastaların %51'i 45 yaş ve altı, %49'u 45 yaş üstü; %65'i sigara kullanmayan, %35'i sigara kullanan ve %94'ü alkol kullanmayan, %6'sı alkol kullanan bireylerden oluşmaktadır (Tablo 7).

Kontrol grubunun %46'sı kadın, %54 erkek bireylerden oluşurken, hastaların grubunun %71'i kadın ve %29'u erkeklerden oluşmaktadır. Hastalardaki kadın bireylerin oranı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı bulunmuştur (p<0,001) (Tablo 7).

Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarının demografik karakterleri

Karakterler		Gruplar				p
		Hasta (n:102)		Kontrol (n:174)		
		n	n %	n	n %	
Yaş Grubu	≤45 yaş	52	%51	102	%59	0.217
	>45 yaş	50	%49	72	%41	
Cinsiyet	Kadın	72	%71	80	%46	<0.001
	Erkek	30	%29	94	%54	
Sigara	Kullanmıyor	66	%65	93	%53	0.068
	Kullanıyor	36	%35	81	%47	
Alkol	Kullanmıyor	96	%94	148	%85	0.023
	Kullanıyor	6	%6	26	%15	

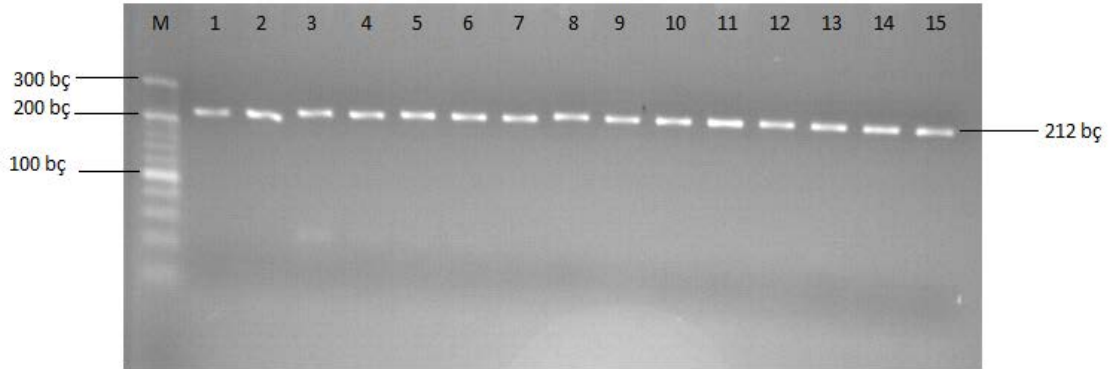
Tablo 8’de de belirtildiği gibi hastaların %41’in de tümör çapı 1cm’den küçükken, %59’da 1cm ve üzeri olarak ölçülmüştür. Tümörlerin %53’ü unifokal, %18’i multifokal ve %29’u multisentrik yerleşim göstermiştir. Vakalardaki tümörlerin %16’sı klasik, %49’u foliküler, %20’si onkositik ve %16’sı tall cell tipi varyantlardan oluşmaktadır. Hastaların %39’unda kapsüler infiltrasyon gözlenirken %61’inde gözlenmemiştir. Lenf nodu metastazı hastaların %10’luk kısmında bulunmaktadır. Çalışma grubundaki hastaların hiç biri radyoterapi ve kemoterapi almamıştır. Hastaların %82’sinde TSH ötroidi, %8’inde hipotiroidi ve %10’unda hipertroidi seviyelerinde bulunmuştur. FT3 hormon değerleri %90’ında ötroidi, %6’sında hipotiroidi ve %4’ünde hipertroidi seviyelerinde; FT4 hormon düzeyleri açısından ise hastaların %75’inde ötroidi, %20’sinde hipotiroidi ve %6’sında hipertroidi şeklinde kaydedilmiştir.

Tablo 8. Hasta grubunun klinik özellikleri

Klinik Karakterler		n	n (%)
Tümör çapı	<1 cm	42	%41
	≥1 cm	60	%59
Tümörün odak sayısı	Unifokal	54	%53
	Multifokal	18	%18
	Multisentrik	30	%29
Tümörün varyantı	Klasik	16	%16
	Foliküler	50	%49
	Onkositik	20	%20
	Tall cell	16	%16
Ekstratiroidal invazyon	Yok	90	%88
	Var	12	%12
Kapsüler infiltrasyon	Yok	62	%61
	Var	40	%39
Lenf nodu metastazı	Yok	92	%90
	Var	10	%10
Radyoterapi	Almadı	102	%100
	Aldı	0	%0
Kemoterapi	Almadı	102	100
	Aldı	0	%0
TSH	Ötiroidi	84	%82
	Hipotiroidi	8	%8
	Hipertiroidi	10	%10
fT3	Ötiroidi	92	%90
	Hipotiroidi	6	%6
	Hipertiroidi	4	%4
fT4	Ötiroidi	76	%75
	Hipotiroidi	20	%20
	Hipertiroidi	6	%6

4.2. CCND1 Geninin PCR İle Çoğaltılması

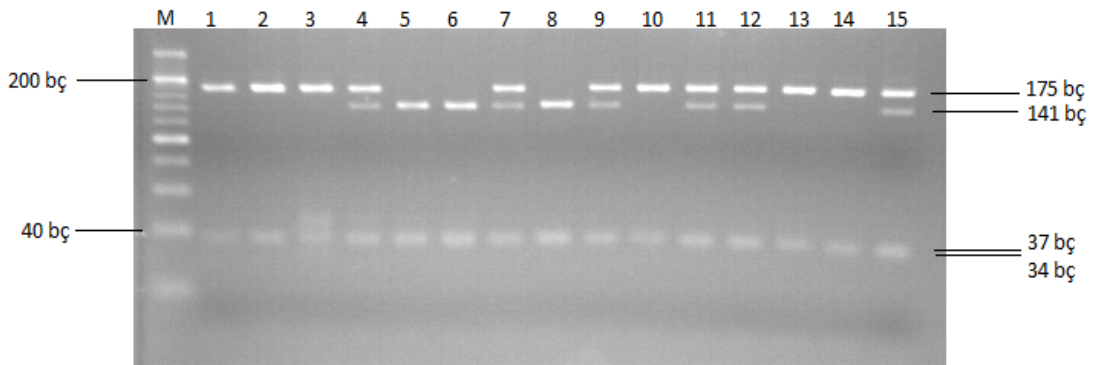
Hasta ve kontrol gruplarına ait kan örneklerinden izole edilen DNA'lar kullanılarak CCND1 geni 4. ekzonundaki A870G polimorfik noktasını kapsayan bölge PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. PCR sonucunda 212 bç büyüklüğünde ürünler elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri %3'lük agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve UV ışık altındaki görüntüleri Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Markır (20-40-60-80-100-120-140-160-180-200-300 bç), 1-15: PCR ürünleri

4.3. CCND1 A870G Polimorfizminin RFLP Tekniği İle Analizi

PCR sonucu elde edilen 212 bç'lik ürünler MspI restriksiyon enzimi ile uygun koşullar altında kesilmiştir. Kesim sonucu elde edilen ürünler %4'lük agaroz jel elektroforezinde ayrıştırılmıştır. Kesilen DNA fragmentlerinin UV ışık altındaki görüntüleri Şekil 6'de verilmiştir.



Şekil 6. CCND1 geninin RFLP analizi (M: Markır (20-40-60-80-100-120-140-160-180-200-300 bç); 1,2,3,10,13,14: AA genotipi; 4, 7, 9, 11, 12, 15 : AG genotipi; 5, 6, 8: GG genotipi)

4.4. CCND1 A870G Polimorfizmi ile Papiller Tiroit Kanser Arasındaki İlişki

Hasta ve kontrol grupları arasındaki allel frekansları ve genotip dağılımları Pearson's χ^2 testi kullanılarak analiz edilmiştir. A allel frekansı hasta grubunda 0.637, kontrol grubunda ise 0.549 olarak bulunmuştur. G allel frekansı ise hastalarda 0.363, kontrol grubunda ise 0.451 olarak tespit edilmiştir. Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde A allelinin dağılımı hastalarda kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p=0.042$) (Tablo 9).

Tablo 9. Hasta ve kontrol grupları arasındaki allellerin dağılımı

Alleler	Gruplar		<i>p</i>
	Hasta	Kontrol	
	n (%)	n (%)	
A	130 (64)	191 (55)	0.042
G	74 (36)	157 (45)	

Her iki grup arasında genotip dağılımları incelendiğinde; AA genotipi hastalarda %37, kontrol grubunda %29, AG genotipi hastalarda %53, kontrol grubunda %52 ve GG genotipi hastalarda %10, kontrol grubunda ise %19 olarak bulunmuştur. Genotip dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2(2)=4.93$, $p=0.085$) (Tablo 10).

Tablo 10. Hasta ve kontrol grupları arasındaki genotiplerin dağılımı

Genotipler	Gruplar		χ^2	<i>p</i>
	Hasta	Kontrol		
	n (%)	n (%)		
AA	38 (37)	50 (29)	4.93	0.085
AG	54 (53)	91 (52)		
GG	10 (10)	33 (19)		

CCND1 geni A870G genotipleri ile papiller tiroit kanser riski arasındaki ilişki lojistik regresyon analizi kullanılarak belirlenmiştir. Lojistik regresyon analizinde yaşa, cinsiyete, alkol ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş bir model kurulmuştur. İstatistiksel modelde G alleli A alleleline göre, GG genotipi de AA ve AG genotiplerine

göre referans olarak alınmıştır. Aynı zamanda GG genotipine kıyasla AA+AG kombine genotipleri, GG+AG genotiplerine kıyasla da AA genotiplerinin papiller tiroit kanser riski ile olan ilişkileri değerlendirilmiştir. Yapılan bu analiz sonucunda G alleli referans olarak alındığında A alleli taşıyan bireylerde papiller tiroit kanser riski 2.36 kat (%95 GA, 1.542-3.609) daha fazla gözlenmiştir, *p* değeri 0,151 olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Genotipler açısından değerlendirildiğinde; GG genotipine kıyasla AA genotipine sahip bireylerde 2.036 kat (%95 GA, 0.854-4.852), AG genotipli bireylerde ise 1.662 kat (%95 GA, 0.738-3.747) papiller tiroit kanser için yüksek risk saptanmıştır fakat bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (*p*>0.05) (Tablo 11).

Tablo 11. CCND1 A870G allel ve genotipleri ile papiller tiroit kanser riski arasındaki ilişki

		Hasta	Kontrol	<i>p</i>	OR ^a	%95 GA	
		n (%)	n (%)			Alt sınır	Üst sınır
Allel	A	130 (64)	191 (55)	0.151	2.36	1.542	3.609
	G	74 (36)	157 (45)			Referans	
Genotip	AA	38 (37)	50 (29)	0.109	2.036	0.854	4.852
	AG	54 (53)	91 (52)	0.220	1.662	0.738	3.747
	GG	10 (10)	33 (19)		Referans		
Dominant	AA+AG	141 (81)	92 (90)	0.145	1.79	0.818	3.914
	GG	33 (19)	10 (10)		Referans		
Resesif	AA	50 (29)	38 (37)	0.288	1.36	0.77	2.418
	GG+AG	124 (71)	64 (63)		Referans		

^a Yaşa, cinsiyete, alkol ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

Cinsiyete, yaş grubuna (≤ 45 yaş ve >45 yaş), sigara ve alkol kullanımına bağlı olarak her bir allelin (A ve G allelleri) papiller tiroit kanser riskine olan etkisi lojistik regresyon analizi ile araştırılmıştır. Analiz sonucunda G alleli referans olarak alındığında A alleleline sahip 45 yaş üstü bireylerde papiller tiroit kanser riski istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı bulunmuştur (OR=1.91, %95 GA, 1.09-3.349, *p*=0.024). Cinsiyet dikkate alınarak değerlendirildiğinde A alleleline sahip kadınlarda 1.731 kat (%95 GA, 1.056-2.838) daha fazla hastalık riski saptanmıştır ve bu risk istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (*p*=0.029). Alleller açısından değerlendirildiğinde, sigara ve

alkol kullanımı ile papiller tiroit kanser riski arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Papiller tiroit kanser riski açısından CCND1 A870G allel frekansları ile cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı arasındaki ilişki

			Kontrol	Hasta			%95 GA	
			n (%)	n (%)	<i>p</i>	OR	Alt sınır	Üst sınır
Cinsiyet ^a	Kadın	A	95 (59)	100 (69)	0.029	1.731	1.056	2.838
		G	65 (41)	44 (31)			Referans	
	Erkek	A	96 (51)	30 (50)	0.879	0.96	0.529	1.724
		G	92 (49)	30 (50)			Referans	
Yaş ^b	≤45yaş	A	114 (56)	62 (60)	0.844	1.05	0.633	1.751
		G	90 (44)	42 (40)			Referans	
	>45yaş	A	77 (53)	68 (68)	0.024	1.91	1.09	3.349
		G	67 (47)	32 (32)			Referans	
Sigara ^c	Kullanmıyor	A	91 (49)	86 (65)	0.01	1.89	1.17	3.04
		G	95 (51)	46 (35)			Referans	
	Kullanıyor	A	100 (62)	44 (61)	0.38	0.75	0.40	1.41
		G	62 (38)	28 (39)			Referans	
Alkol ^d	Kullanmıyor	A	159 (54)	122 (64)	0.16	1.33	0.90	1.96
		G	137 (46)	70 (36)			Referans	
	Kullanıyor	A	32 (62)	8 (67)	0.69	1.32	0.35	5.04
		G	20 (38)	4 (33)			Referans	

^a Yaşa ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

^b Cinsiyete ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

^c Yaşa ve cinsiyete göre düzeltilmiş

^d Yaşa göre düzeltilmiş

Papiller tiroit kanser riski açısından CCND1 A870G genotiplerinin cinsiyet, yaş, alkol ve sigara kullanımları arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla lojistik regresyon analizi kullanılmıştır. AA, AG ve GG genotiplerinin her birinin cinsiyete, yaşa, alkol ve sigara kullanımlarına bağlı olarak hastalık riski üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde mevcut veri setinden dolayı (bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenlerle çapraz tablo haline getirildiğinde bazı gözelerde olması gerekenden daha az gözlem bulunduğu için) anlamlı bir model kurulamamıştır ancak GG+AG kombine genotipi referans olarak alınıp AA genotipi açısından değişkenlerin (yaş, cinsiyet, alkol ve sigara kullanımı) etkileri incelenmiştir. Analiz sonucunda GG+AG genotipine

kıyasla AA genotipine sahip 45 yaş üstü bireylerde 2.281 kat (%95 GA, 1.015-5.126) papiller tiroit kansere yakalanma riski saptanmış ve bu risk istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0.046$). Genotipler açısından değerlendirildiğinde, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı ile papiller tiroit kanser riski arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 13).

Tablo 13. Papiller tiroit kanser riski açısından CCND1 A870G genotipleri ile cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı arasındaki ilişki

			Kontrol	Hasta	<i>p</i>	OR	%95 GA	
			n (%)	n (%)			Alt sınır	Üst sınır
Cinsiyet ^a	Kadın	AA	28 (35)	30 (42)	0.194	1.63	0.78	3.407
		GG+AG	52 (65)	42 (58)		Referans		
	Erkek	AA	22 (23)	8 (27)	0.789	1.141	0.434	3.003
		GG+AG	72 (77)	22 (73)		Referans		
Yaş ^b	≤45yaş	AA	32 (31)	16 (31)	0.598	0.799	0.347	1.841
		GG+AG	70 (69)	36 (69)		Referans		
	>45yaş	AA	18 (25)	22 (44)	0.046	2.281	1.015	5.126
		GG+AG	54 (75)	28 (56)		Referans		
Alkol ^c	Kullanmıyor	AA	38 (26)	36 (38)	0.181	1.507	0.826	2.75
		GG+AG	110 (74)	60 (63)		Referans		
	Kullanıyor	AA	12 (46)	2 (33)	0.555	0.566	0.085	3.761
		GG+AG	14 (54)	4 (67)		Referans		
Sigara ^d	Kullanmıyor	AA	14 (15)	24 (36)	0.007	2.921	1.337	6.386
		GG+AG	79 (85)	42 (64)				
	Kullanıyor	AA	36 (44)	14 (39)	0.229	0.554	0.211	1.45
		GG+AG	45 (56)	22 (61)		Referans		

^a Yaşa ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

^b Cinsiyete ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

^c Yaşa göre düzeltilmiş

^d Yaşa ve cinsiyete göre düzeltilmiş

Papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotip ve allel dağılımlarının kapsüler infiltrasyon ile olan ilişkisi, yaşa, cinsiyete, sigara ve alkol kullanımına göre düzeltilmiş bir model kurularak lojistik regresyon analizi ile test edilmiştir. Analiz sonucunda AA genotipli hastalarda kapsüler infiltrasyon GG+AG kombine genotipine kıyasla 2.089 kat (%95 GA, 0.858-5.088) daha fazla görülmüştür, *p* değeri 0.05'den büyük olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Allel dağılımları ile kapsüler infiltrasyon arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14. CCND1 A870G genotip ve allel dağılımları ile kapsüler infiltrasyon arasındaki ilişkisi

		Kapsüler infiltrasyon		<i>p</i>	OR	%95 GA	
		Yok	Var			Alt sınır	Üst sınır
		n (%)	n (%)				
Genotip ^a	AA	20 (32)	18 (45)	0.854	0.861	0.175	4.232
	AG	38 (61)	16 (40)	0.19	0.36	0.078	1.659
	GG	4 (6)	6 (15)			Referans	
Dominant ^a	AA+AG	58 (94)	34 (85)	0.356	0.498	0.114	2.187
	GG	4 (6)	6 (15)			Referans	
Resesif ^b	AA	20 (32)	18 (45)	0.105	2.089	0.858	5.088
	GG+AG	42 (68)	22 (55)			Referans	
Allel ^b	A	29 (97)	19 (95)	0.626	0.464	0.021	10.236
	G	1 (3)	1 (5)			Referans	

^a Yaşa, cinsiyete ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

^b Yaşa, cinsiyete, alkol ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş

Papiller tiroit kanserli hastalarda, CCND1 A870G genotiplerinin tümör çapı, lenf nodu metastazı ve ekstratiroidal invazyon bulunup bulunmaması ve TSH, ft3 ve ft4 hormon düzeyleri ile olan ilişkileri yüzde cinsinden hesaplanarak değerlendirilmiştir. Tümör çapı 1 cm'den küçük olan hastaların %19'unun AA, %62'sinin AG, %19'unun GG genotiplerine; tümör çapı 1cm ve üzeri olan hastaların ise %50'sinin AA, %47'sinin AG ve %3'ünün GG genotiplerine sahip olduğu belirlenmiştir. Genotipler açısından değerlendirildiğinde ise AA genotipli bireylerin %21'inde tümör çapı <1cm iken %79'unda \geq 1cm, AG genotiplilerde %48'inde tümör çapı <1cm, %52'sinde \geq 1cm ve son olarak GG genotiplilerin %80'inde tümör çapı <1cm, %20'sinde \geq 1cm olarak ölçülmüştür (Tablo 15).

Tablo 15. Tümör çapı <1cm ve ≥1cm olan papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı

		Tümör Çapı					
		<1cm			≥1cm		
		n	% n (Satır)	% n (Sütun)	n	% n (Satır)	% n (Sütun)
Genotip	AA	8	%21	%19	30	%79	%50
	AG	26	%48	%62	28	%52	%47
	GG	8	%80	%19	2	%20	%3
Dominant	AA+AG	34	%37	%81	58	%63	%97
	GG	8	%80	%19	2	%20	%3
Resesif	AA	8	%21	%19	30	%79	%50
	GG+AG	34	%53	%81	30	%47	%50

Lenf nodu metastazı bulunan papiller tiroit kanserli hastaların %20'si AA ve %80'i AG genotipine sahip olarak bulunmuştur (Tablo 16).

Tablo 16. Lenf nodu metastazına göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı

		Lenf nodu metastazı					
		Yok			Var		
		n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)
Genotip	AA	36	%39	%95	2	%20	%5
	AG	46	%50	%85	8	%80	%15
	GG	10	%11	%100	0	%0	%0
Dominant	AA+AG	82	%89	%89	10	%100	%11
	GG	10	%11	%100	0	%0	%0
Resesif	AA	36	%39	%95	2	%20	%5
	GG+AG	56	%61	%88	8	%80	%13

Ekstratiroidal invazyon bulunan papiller tiroit kanserli hastaların %67'si AA ve %33'ü AG genotipine sahip olarak bulunmuştur (Tablo 17).

Tablo 17. Ekstratiroidal invazyona göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı

		Ekstratiroidal invazyon					
		Yok			Var		
		n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)
Genotip	AA	30	%33	%79	8	%67	%21
	AG	50	%56	%93	4	%33	%7
	GG	10	%11	%100	0	%0	%0
Dominant	AA+AG	80	%89	%87	12	%100	%13
	GG	10	%11	%100	0	%0	%0
Resesif	AA	30	%33	%79	8	%67	%21
	GG+AG	60	%67	%94	4	%33	%6

Papiller tiroit kanserli hastalarda TSH düzeyi ötroidi olanların %38 'i AA, %52'si AG, %10'u GG, hipotiroidi olanların %25'i AA, %75'i AG ve hipertroidi olanların %40'ı AA, %40'ı AG ve %20'si GG genotiplerine sahip olarak tespit edilmiştir (Tablo 18).

Tablo 18. TSH düzeyine göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı

		TSH								
		Ötroidi			Hipotiroidi			Hipertroidi		
		n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)
Genotip	AA	32	%38	%84	2	%25	%5	4	%40	%11
	AG	44	%52	%81	6	%75	%11	4	%40	%7
	GG	8	%10	%80	0	%0	%0	2	%20	%20
Dominant	AA+AG	76	%90	%83	8	%100	%9	8	%80	%9
	GG	8	%10	%80	0	%0	%0	2	%20	%20
Resesif	AA	32	%38	%84	2	%25	%5	4	%40	%11
	GG+AG	52	%62	%81	6	%75	%9	6	%60	%9

Papiller tiroit kanserli hastalarda FT3 hormon düzeyi ötroidi olanların %37'si AA, %52'si AG, %11'i GG, hipotiroidi olanların %67'si AA, %33'ü AG ve hipertroidi olanların %100'ü AG genotiplerine sahip olarak bulunmuştur (Tablo 19).

Tablo 19. fT3 hormon düzeyine göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı

		fT3								
		Ötiroidi			Hipotiroidi			Hipertiroidi		
		n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)
Genotip	AA	34	%37	%89	4	%67	%11	0	%0	%0
	AG	48	%52	%89	2	%33	%4	4	%100	%7
	GG	10	%11	%100	0	%0	%0	0	%0	%0
Dominant	AA+AG	82	%89	%89	6	%100	%7	4	%100	%4
	GG	10	%11	%100	0	%0	%0	0	%0	%0
Resesif	AA	34	%37	%89	4	%67	%11	0	%0	%0
	GG+AG	58	%63	%91	2	%33	%3	4	5100	%6

Papiller tiroit kanserli hastalarda fT4 hormon düzeyi ötiroidi olanların %39'u AA, %50'si AG, %11'i GG, hipotiroidi olanların %40'ı AA, %50'si AG, %10'u GG ve hipertiroidi olanların %100'ü AG genotiplerine sahip olarak bulunmuştur (Tablo 20).

Tablo 20. fT4 hormon düzeyine göre papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G genotiplerinin dağılımı

		fT4								
		Ötiroidi			Hipotiroidi			Hipertiroidi		
		n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)	n	%n (Sütun)	%n (Satır)
Genotip	AA	30	%39	%79	8	%40	%21	0	%0	%0
	AG	38	%50	%70	10	%50	%19	6	%100	%11
	GG	8	%11	%80	2	%10	%20	0	%0	%0
Dominant	AA+AG	68	%89	%74	18	%90	%20	6	%100	%7
	GG	8	%11	%80	2	%10	%20	0	%0	%0
Resesif	AA	30	%39	%79	8	%40	%21	0	%0	%0
	GG+AG	46	%61	%72	12	%60	%19	6	%100	%9

5.TARTIŞMA

Herhangi bir hastalığın oluşumunda ve tedavi amaçlı uygulanan ilaca verilen yanıtta çevre, yaş, beslenme, yaşam biçimi gibi faktörlere ek olarak, kişinin genetik yapı değişikliklerinin rolü yadsınamaz. Bu nedenle toplumların genom yapısındaki varyasyonların, ve kişisel gen mutasyonlarının çalışılması kanser oluşum riskinin, ilaç toksisitesi ve etkinliğinin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Tek nükleotit değişimlerini (varyasyonları, polimorfizmleri) içeren genler, toplumda % 1'den daha fazla sıklıkta bulunan allel genler olarak tanımlanır. İnsan genom dizilim çalışmaları her insan genomunda DNA'nın % 99.9 benzerlik gösterdiğini kanıtlamıştır. Geriye kalan % 0.1'lik fark, bireysel genotip ve fenotipik değişikliklerin sorumlusudur. Tek nükleotit değişimleri insan genomunda en çok bulunan (ortalama her 1000 nükleotitte bir) DNA dizi değişimleridir. Genin kontrol bölgesindeki nükleotit değişiklikleri ile diğer genlerden oluşturulan ve bu düzenleyici bölgeleri tanıyıp bağlanan düzenleyici proteinlerin genlerinin kontrol ve kodlayıcı DNA bölgesindeki nükleotit dizi değişiklikleri genin ifade edilme düzeyini, bir başka deyişle ürün oluşumu ve miktarını etkiler. Böylece bir genin ifade edilme düzeyi, hem genin kontrol bölgesindeki DNA diziliminin hem de bu bölgeye bağlanan düzenleyici transkripsiyon faktörlerinin farklılığından dolayı kişiden kişiye değişebilir (75).

Normal hücre siklusunda, G1-S, G2-M ve metafaz-anafaz geçişlerinde kontrol noktaları vardır. Hücre büyümesi G1'den S fazına geçişteki nokta tarafından koordine edilir. Bu noktada hücre duracak ya da siklusu tamamlayacaktır. Hücre siklusu siklin, siklin bağımlı kinaz ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri tarafından kontrol edilir (74).

Hücre çoğalmasını düzenleyen mekanizmaların bozulması ve genomik bütünlüğün kaybı, neoplastik transformasyonun en iyi bilinen özelliklerindedir. CCND1 geninin dördüncü ekzonunda gözlenen A870G polimorfizmi, CCND1 geninin 4. ekzondan 5.ekzona doğru olan kırpılma bölgesini değiştirir ve böylece iki fonksiyonel mRNA transkripti kodlayan iki farklı allel oluşur (78,79,112). CCND1 geninde polimorfik A

alleli tam sentezlenmemiş, eksik bir transkript üretir. Bu transkriptte beşinci ekzon bulunmadığı için proteinin yıkımını düzenleyen diziler de mevcut değildir (78,112). Bu durum proteinin yarılanma ömrünün uzamasına ve CCND1'in hücrede birikmesine sebep olur. Bu yüzden hücre çoğalması uyarılır ve proliferasyonu artar (78,82,117). Ayrıca, A alleleline sahip olan hücrelerde ortaya çıkan DNA hasarı G1/S kontrol noktasında bu polimorfizmi taşımayan hücrelerdeki hasara kıyasla çok daha kolaylıkla atlanabilmektedir (118).

Birçok kanser türünde ve farklı polüpasyonlarda Siklin D1 A870G polimorfizmini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan literatür taramaları sonucunda Siklin D1 A870G gen polimorfizmi ile papiller tiroit papiller kanser arasında ilişki olup olmadığı yönünde çalışmaya rastlanılmamıştır. İlk kez bu çalışmada, çalışma gruplarını Gaziantep ve çevresindeki Türk popülasyonundan 102 papiller tiroit kanserli hasta ve birbiriyle akrabalık ilişkisi olmayan 174 sağlıklı bireyin oluşturduğu iki grupta CCND1 A870G polimorfizminin ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda A allel frekansı hasta grubunda 0.637, kontrol grubunda ise 0.549 olarak bulunmuştur. Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde A allelinin dağılımı hastalarda kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p=0.042$). Wang ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada mesane kanserli hastalarla kontrol grubu arasında allel frekansları (A ve G alleleri hasta ve kontrolde sırasıyla, 0.5, 0.5; 0.43, 0.57) farklı bulunmuştur ($p=0.032$) (95). Allel frekansları açısından bizim elde ettiğimiz verilere paralel çalışmalar olduğu gibi; Türk popülasyonunda meme (90) ve kolorektal kanserli hastalarla (88), İspanyol ırkından olmayan beyazlarda baş-boyun kanserli hastalarla (112) yapılan çalışmalarda, hasta ve sağlıklı bireyler arasında allel frekansları açısından anlamlı bir fark elde edilmemiştir.

Her iki grup arasında genotip dağılımları incelendiğinde; AA genotipi hastalarda %37, kontrol grubunda %29, AG genotipi hastalarda %53, kontrol grubunda %52 ve GG genotipi hastalarda %10, kontrol grubunda ise %19 olarak bulunmuştur. Genotip dağılımları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2(2)=4.93$, $p=0.085$). Hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları açısından fark bulunmaması akciğer (97), kolorektal (88) ve baş-boyun (112) kanserlerinde elde edilen sonuçlar ile uyumludur. Buna karşılık meme (90) ve

mesanenin transisyonel hücre karsinomlarında (95) her iki grup arasında genotip dağılımlarının istatistiksel açıdan anlamlı bulunduğu bildirilmiştir.

CCND1 A870G allel ve genotiplerinin papiller tiroit kanser riski ile olan ilişkisi lojistik regresyon analizi ile test edilmiştir. Yapılan bu analizde yaş, cinsiyet, alkol ve sigara kullanımları da dikkate alınarak sözü edilen bu değişkenlere göre düzeltilmiş bir model oluşturulmuştur. Analiz sonucunda A alleli taşıyan bireylerde papiller tiroit kanser riski, G alleli taşıyanlara oranla 2.36 kat (%95 GA, 1.542-3.609) daha fazla gözlenmiştir, p değeri 0,151 olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Genotipler açısından değerlendirildiğinde; GG genotipine kıyasla AA genotipine sahip bireylerde 2,036 kat (%95 GA, 0.854-4.852), AG genotipli bireylerde ise 1.662 kat (%95 GA, 0.738-3.747) papiller tiroit kanser için yüksek risk saptanmıştır fakat bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlarla paralel sonuçlar meme (81,82), kolorektal (81,109,114,119-121), özofagus ve mide (105-108,110), jinekolojik (122), baş ve boyun (123-126) ile lösemi (92) kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda da görülmüştür. Literatürde CCND1 A870G polimorfizmin bir çok farklı kanser riski ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Mesane kanserlerinde (95), kolorektal kanserlerde (84), özofagus kanserlerinde (104), endometriyum kanserlerinde (127,128), baş ve boyun kanserlerinde (112,129,130), lösemide (94), akciğer kanserlerinde (97,99) ve prostat kanserlerinde (131) CCND1 AA genotipinin bu hastalıkların riskini artırdığı yayınlanmıştır. Bununla beraber farklı popülasyonlara ait birçok farklı kanser türünde de (kardia dışı mide kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser, servikal kanser, skuamoz hücre karsinomu, oral skuamoz hücre karsinomu ve nazofarink karsinomu) CCND1 GG genotipinin sözü edilen kanserler için yüksek risk oluşturduğu gösterilmiştir (87,88, 132-135). Aynı kanser türlerinde bile birbirinden farklı sonuçların gözlenmesi, hasta grubunu oluşturan popülasyonlardaki farklılıkların etkili olduğunu düşündürmektedir.

Papiller tiroit kanseri ileri yaşlarda daha fazla görülmektedir (34-36). Bununla beraber 45 yaş altı olanlar, 45 yaş ve üstü olanlara göre belirgin olarak daha iyi prognoza sahiptirler (56). Bizim çalışmamızda da A alleleline sahip 45 yaş üstü bireylerde papiller tiroit kanser riski istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı bulunmuştur (OR=1.91, %95 GA, 1.09-3.349, $p=0.024$). Genotiplerin yaşla olan ilişkisi

değerlendirildiğinde GG+AG genotipine kıyasla AA genotipine sahip 45 yaş üstü bireylerde 2.281 kat (%95 GA, 1.015-5.126) papiller tiroit kansere yakalanma riski saptanmış ve bu risk istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0.046$).

Türkiye’de, özellikle kadınlarda (kadın/erkek oranı 2/1 ile 4/1 arasında değişmektedir), artan sayıda tiroit papiller karsinom olgusu saptanmaktadır (1,2). Bu tez kapsamında yapılan analizlerde, cinsiyet dikkate alınarak yapılan değerlendirmeler sonucunda A alleleline sahip kadınlarda 1.731 kat (%95 GA, 1.056-2.838) daha fazla hastalık riski saptanmıştır ve bu risk istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.029$).

Papiller tiroit kanserlerde tümör çapı, lenf nodu metastazı ve ekstratiroidal invazyon bulunup bulunmaması prognozu etkileyen faktörler arasındadır. Bu tez çalışmasında bu prognostik faktörlerle birlikte CCND1 A870G genotiplerinin papiller tiroit kanser riski üzerindeki etkileri araştırılmıştır fakat çalışma grubu içerisinde sözü edilen faktörlere sahip yeterli hasta (hasta grubunun %12’sinde ekstratiroidal invazyon , %10’unda lenf nodu metastazı, %39’unda kapsüler infiltrasyon bulunduğu için) bulunmadığı için istatistiksel analizler yapılamamıştır.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar incelendiğinde; allel dağılımları bakımından A allelinin hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede fazla olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda yaş, cinsiyet, alkol ve sigara kullanımları da dikkate alınarak yapılan analizler sonucunda A alleli taşıyan bireylerde G alleli taşıyanlara oranla 2.36 kat, GG genotipine kıyasla AA genotipine sahip bireylerde 2,036 kat papiller tiroit kanser riski yüksek bulunmuştur. Allel ve genotiplerin cinsiyet ve yaşla birlikte hastalık riski üzerindeki etkilerinde ise A alleleline sahip 45 yaş üstü bireylerde 1.91 kat, A alleleline sahip kadınlarda 1.731 kat ve GG+AG genotipine kıyasla AA genotipine sahip 45 yaş üstü bireylerde 2.281 kat daha fazla papiller tiroit kanser riski taşıdıkları göze çarpmaktadır. Elde edilen bu veriler ışığında papiller tiroit kanserlerinde, yüksek yaşla birlikte CCND1 A allelinin ve AA genotipinin ve aynı zamanda kadınlarda CCND1 A allelinin hastalığa yakalanma riski üzerinde daha etkili olduğu görülmektedir. CCND1 genindeki polimorfik A allelinin yarılanma ömrü uzun olan ve buna bağlı olarak hücre çoğalmasını uyaran bir proteinin üretilmesine neden olduğu ve bunun sonucunda hücre çoğalmasının uyarıldığı ve proliferasyonun arttığı bilgisi dikkate alındığında; CCND1 A870 allelinin ve AA genotipinin papiller tiroit

kanseri riskini artırması yönünde etkisi olduğu düşüncesini ve sonucunu kuvvetlendirmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Papiller tiroit kanserli hastalarda CCND1 A870G polimorfizminin etkisinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

1. Hasta ve kontrol grupları arasında CCND1 A870G allel frekansları arasında anlamlı derecede farklılık bulunmuştur ($p=0.042$).
2. Genotip dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.085$).
3. A alleli taşıyan bireylerde papiller tiroit kanser riski G alleli taşıyanlara oranla 2.36 kat (%95 GA, 1.542-3.609) daha fazla gözlenmiştir, p değeri 0,151 olduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
4. Genotipler açısından değerlendirildiğinde; GG genotipine kıyasla AA genotipine sahip bireylerde 2.036 kat (%95 GA, 0.854-4.852), AG genotipli bireylerde ise 1.662 kat (%95 GA, 0.738-3.747) papiller tiroit kanser için yüksek risk saptanmıştır fakat bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).
5. G alleli referans olarak alındığında A alleleline sahip 45 yaş üstü bireylerde papiller tiroit kanser riski istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p=0.024$).
6. GG+AG genotipine kıyasla AA genotipine sahip 45 yaş üstü bireylerde 2.281 kat (%95 GA, 1.015-5.126) papiller tiroit kansere yakalanma riski saptanmış ve bu risk istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0.046$).
7. Cinsiyet dikkate alınarak yapılan değerlendirmeler sonucunda A alleleline sahip kadınlarda 1.731 kat (%95 GA, 1.056-2.838) daha fazla hastalık riski saptanmıştır ve bu risk istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.029$).

8. Genotipler açısından değerlendirildiğinde, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı ile papiller tiroit kanser riski arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0.05$)

Gen polimorfizmi ile kanser arasındaki ilişkide; kanserin çeşidinin, etnik kökenin, yaşın, cinsiyetin, alkol ve sigara kullanımlarının ve klinik parametrelerin (metastaz, tümörün evresi, tümörün çapı ve yerleşimi, tümör varyantı gibi) bazen etkili olabildiği görülmektedir. Farklı kanser çeşitlerinde ya da aynı kanser çeşitlerinde birbirinden farklı sonuçların elde edilmesinde yukarıda sözü edilen nedenler dışında diğer genetik faktörlerin de etkili olabileceği düşünülebilir. Kanser oluşumu çok faktörlü ve çok basamaklı bir süreç sonunda meydana gelmektedir. Bu süreçte bazen tek bir gen etkili olabildiği gibi çoğu zaman da birçok farklı genetik mekanizmadaki değişiklikler ve bu değişikliklerin birbiri ile olan etkileşimi önemli olabilmektedir. İlk kez CCND1 A870G polimorfizmi ile papiller tiroit kanser riski arasındaki ilişki bu çalışma ile araştırılmıştır. Elde edilen bu veriler ışığında papiller tiroit kanserlerde CCND1 A870G polimorfizminin hastalığa yakalanma riski ile ilişkili olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. CCND1 A870G polimorfizminin papiller tiroit kanseri için riskli ailelerin veya risk grubu insanların taranmasında ve teşhisinde bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşünmenin akla uygun olduğunu ifade edebiliriz. CCND1 A870G polimorfizmi ile papiller tiroit kanser riski arasındaki ilişki üzerine çeşitli klinik parametrelerin ne kadar etkili olup olmadığını ortaya koymak için daha geniş hasta grubu ile çalışılmasının literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Akkaş G: Tiroid Papiller Karsinom, Papiller Mikrokarzinom ve Tiroid Papiller Karsinomun Lenf Nodu Metastazında Apoptoz Ve Hücre Sikusu İle İlişkili Belirleyicilerin (p16, p21, p27, p53, BCL-2, BAX, BCL-XL ve Siklin D1) Doku Mikroarray Yöntemiyle Saptanması. Uzmanlık Tezi, Celal Bayar Üniv. Tıp Fakültesi Patoloji ABD. Manisa 2011.
2. Öksüz, H: Tiroid Papiller Karsinomlarda Galektin-3 ve Sitokeratin-19 Ekspresyonlarının Tümör Progresyonu İle İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2005.
3. Somuncu E: Papiller Tiroid Kanserli Olgularda FoxE1 Gen Mutasyonunun Klinikopatolojik Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul 2013.
4. Lal G, Clark OH. Thyroid, Parathyroid and Adrenal. In: SI Schwartz, FC Brunnicardi, DK Andersen, eds. Schwartz's Principles of Surgery. New York, McGraw-Hill, 2005:1396-1397.
5. Delbridge L. Total thyroidectomy: the evolution of surgical technique. ANZ J Surg. 2003;73:761-768.
6. Duman G: Papiller Tiroid Kanserlerinde Nüksve/veya Metastatik Hastalık şüphesinde PET-Bt'nin Klinik Önemi. Uzmanlık tezi, Uludağ Üniv. Tıp Fak. Nükleer Tıp Anabilim Dalı. Bursa, 2011.
7. Meller J, Becker W. The continuing importance of thyroid scintigraphy in the era of high-resolution ultrasound. Eur J Nucl Med.2002; 29 Suppl 2: 425-38.
8. Batman B: Papiller Tiroid Kanserli Hastalarda Prşmer Santral Boyun Diseksiyonunun Klinik Sonuçları. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul 2012.
9. Tapscott WJ. A Brief history of Thyroid surgery. Current Surgery, 2001.
10. Şenköy E:Tiroid Nodüllerinde İnce İğne Aspirasyon Biyopsisinin Tanısal Değeri, Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniv. Tıp Fak. Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Gaziantep 2012.

11. Skandalakis JE, Skandalakis PN. Anatomy of the Thyroid Gland. In: Skandalakis LJ. Surgical Anatomy and Technique. New York, McGraw-Hill, 1995: 11-97.
12. Dere F. Glandula Thyroidea ve Parathyroidea. In: Arıncı K, Ersoy M. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı. 2.baskı. Adana, Nobel Tıp Kitapevi, 1990: 497-500.
13. Keith LM. Neck. In: Arthur FD. Clinically Oriented Anatomy(4th ed). Toronto, STComp, 1995: 1030-1.
14. Skandalakis JE, Gray SW. Anatomical Complications in General Surgery. In: Rowe SJ. Surgical Anatomy and Technique. New York, Mc Graw-Hill Book Comp, 1986: 2-36.
15. Ünal A. Tiroit kanserleri. Klinik Cerrahi Onkoloji Dergisi. 1997; 27: 351-60.
16. Welbourn RB. Highlights from endocrine surgical history. World j Surg, 1996.
17. Yetkin E. Tiroidektomi komplikasyonları. In: İşgör A. Tiroit hastalıkları ve Cerrahisi. 1.baskı. İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık, 2000: 583-95.
18. Kukora JS. Tiroit Kanseri. In: Cameron JL. Güncel Cerrahi Tedavi. İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık, 2001: 583-9.
19. Henry JF, Denizot A, Bellus JF. Papillary thyroid carcinomas revealed by metastatic cervical lymph nodes. Endocr Surg. 1992; 9: 349.
20. Hilger AW, Thompson SD et al. Papillary carcinoma arising in athyroglossal duct cyst: A case report and literature review. J Laryngol Otol. 1995; 109: 11-24.
21. Livolsi VA. Developmental biology and anatomy of the thyroid, including the aberrant thyroid. In: Savetsky L. Surgical Pathology of the Thyroid. Philadelphia, W B Saunders, 1990:123-45.
22. Sarkar SD. Thyroid gland. In: Elgazzar A (ed). The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine(2nd ed). New York, USA, Springer; 2006.209-21. in a variety of tumor types. JNCCN 2009;7:1-23.

23. Hershman JH, Pittman JA. Response to synthetic thyrotropin-releasing hormone in man. *J Clin Endocrinol.* 1970; 31: 457-60.
24. CA. Thyroid hormone physiology. In: Weller H, Wiley RL. *Textbook of medical Physiology* (7th ed). Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1986: 1172-86.
25. Clark HO. Endocrine surgery of the thyroid and parathyroid glands. In: Schwartz SI. *Principles of Surgery* (6th ed). Missouri, Mosby Company, 1985: 456-9.
26. Rosen BI, Wallace C, Starwbridge GH, Walfish PG. Reevaluation of needle aspiration cytology in detection of thyroid cancer. *J Am Surg.* 1981; 90: 747-56.
27. Larsen PR, Silva JE, Kaplan MM. Relationship between circulating and intracellular thyroid hormones: Physiological and implications. *Endocrinol Rev.* 1981; 2: 87-101.
28. Ingbar HS, Brauerman EL. Genetic Factors in Thyroid Disease. In: Lewis E, Sidney H. *Werner's the thyroid, Fundamental and clinical text.* New York, JB Lippincott Company, 1989 :113-35.
29. Greenspan FS. The problem of the nodular goitre. *Med Clin N Am.* 1991; 1: 195-209.
30. Shimkin PM, Sagerman RH. Lymphoma of the thyroid gland. *J of Radiology.* 1969; 92:812-44.
31. Sadler GP, Clark OH. Thyroid and parathyroid. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC. *Principles of Surgery* (7th ed). New York, McGraw-Hill, 1999: 1661-87.
32. Acar H, Ergin K. Tiroid Cerrahisi. In: Gürsoy E. *Endokrin Cerrahi.* Ankara, Yargıçoğlu Matbası, 1985:12-9.
33. Ojeda V.S. Parathyroid Infarcts After Tracheostomy. *New Zealand Medical Journal.* 1997; 86: 477-8.
34. Sevim MM: Papiller Tiroid Kanseri ve Papiller Mikrokanserin Klinik Özellikler ve Prognostik Faktörler Açısından Karşılaştırılması. Uzmanlı Tezi, Gaziantep Üniv. Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep 2011.

35. Pacini F, DeGroot LJ. Thyroid Neoplasia. In: DeGroot LJ, Jameson JL (eds). *Endocrinology* (5th ed). Philadelphia, Elsevier Saunders, 2006:2147-2180.
36. Schlumberger MJ, Papillary and follicular thyroid carcinoma. *N Eng J Med*. 1998;338:297-306.
37. Carling T, Udelsman R. Thyroid tumors. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer. Principles and Practice of Oncology* (7th ed). Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2005:1502-1519.
38. Leenhardt L, Grosclaude P, Cherie-Challine L. Thyroid Cancer Committee. Increased incidence of thyroid carcinoma in France: a true epidemic or thyroid nodule management effects? Report from the French Thyroid Cancer Committee. *Thyroid*. 2004; 14(12):1056-1060.
39. Snell RS. Head and neck. In: Snell RS, *Clinical Anatomy for Medical Student* (4th ed). Boston, Little-Brown Comp, 2001: 717-940.
40. Kuran O. Glandula Thyroidea. In: Gökmen FG. *Sistematik Anatomi*. 1.baskı. İstanbul, Filiz Kitapevi, 1997: 579-83.
41. Schlumberger MJ, Filetti S, Hay ID. Thyroid neoplasia. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR (eds). *Williams Textbook of Endocrinology* (11th ed). Philadelphia, W. B. Saunders, 2008:420-442.
42. Sadetzki S, Calderon-Margalit R, Modan B, Srivastava S, Tuttle RM. Ret/PTC activation in benign and malignant thyroid tumors arising in a population exposed to low-dose external-beam irradiation in childhood. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;89(5):2281-2289.
43. Santoro M, Melillo RM, Fusco A. RET/PTC activation in papillary thyroid carcinoma: European Journal of Endocrinology Prize Lecture. *Eur J Endocrinol*. 2006;155:645-653.
44. Schneider AB, Ron E. Carcinoma of Follicular epithelium. In: Braverman LE, Utiger RD (eds). *Werner and Ingbar's the Thyroid* (8th ed). Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2000:878-886.
45. Di Pasquale M, Rothstein JL, Palazzo JP. Pathologic features of Hashimoto's-associated papillary thyroid carcinomas. *Hum Pathol*. 2001;32:24-30.

46. Mackenzie EJ, Mortimer RH. Thyroid nodules and thyroid cancer. *Med J Aust.* 2004;180:242-247.
47. Thomas GA, Bunnell H, Cook HA, Williams ED, Nerovnya A, Cherstvoy ED. et al. High prevalence of RET/PTC rearrangements in Ukrainian and Belarussian post-Chernobyl thyroid papillary carcinomas: a strong correlation between RET/PTC3 and the solid-follicular variant. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4232-4238.
48. Düren M. Tiroid Kanseri. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevi.2005:9-14.
49. Halsted WS, Ewans HM. The Parathyroid Glandules, Their Blood Supply and their Preservation in Operajion Upon the Thyroid Gland. *Ann Surg.* 1907; 47: 489-494.
50. Pearce EN, Braverman LE. Papillary thyroid microcarcinoma outcomes and implications for treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3710-3712.
51. Chow SM, Law SC, Chan JK, Au SK, Yau S, Lau WH. Papillary microcarcinoma of the thyroid-Prognostic significance of lymph node metastasis and multifocality. *Cancer.* 2003;98:31-40.
52. Mazzaferri EL. Thyroid Cancer. In: Becker KL (eds). *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism* (3th ed). Lippincott Williams & Wilkins, 2001:382-402.
53. DeLellis RA, Williams ED. Tumours of the thyroid and parathyroid. In: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C (eds). *Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs*, IARC Press, Lyon, 2004:49-133.
54. Dizdaroğlu F. WHO 2004 Tiroid Tümörleri. Histolojik Sınıflaması. *Endokrinolojide Diyalog Dergisi.* 2004;1:170-173.
55. Jameson JL, Weetman AP. Disorders of the thyroid gland. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL (eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*(16th ed). New York, The McGraw Hill, 2005:2014-2126.
56. Shaha AR. Implications of prognostic factors and risk groups in the management of differentiated thyroid cancer. *Laryngoscope.* 2004;114:393-402.

57. Pellegriti G, Scollo C, Lumera G, Regalbuto C, Vigneri R, Belfiore A. Clinical behavior and outcome of papillary thyroid cancers smaller than 1.5 cm in diameter: study of 299 cases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3713-3720.
58. Collins BJ, Chiappetta G, Schneider AB, Santoro M, Pentimalli F, Fogelfeld L, et al. RET expression in papillary thyroid cancer from patients irradiated in childhood for benign conditions. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3941-3946.
59. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med.* 1994;97:418-428.
60. Kitamura Y, Shimizu K, Nagahama M, Sugino K, Ozaki O, Mimura T, et al. Immediate causes of death in thyroid carcinoma: clinicopathological analysis of 161 fatal cases. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4043-4049.
61. Basolo F, Molinaro E, Agate L, Pinchera A, Pollina L, Chiappetta G, et al. RET protein expression has no prognostic impact on the long-term outcome of papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2001;145:599-604.
62. Crile G, Esselstyn CB, Hawk WA. Needle biopsy in the diagnosis of thyroid nodules appearing after radiation. *N Engl J Med.* 1979; 301: 997-1010.
63. Sherman SI. Thyroid Carcinoma. *Lancet.* 2003;361:501-511.
64. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JW, Wiersinga W. European consensus for the management of the patient with differentiated thyroid carcinoma of follicular epithelium. *Eur J Endocrinol.* 2006;154(6):787-803.
65. Alagöl F. Tiroid Nodülü ve Tümörleri. Editör: Ergin S. *Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları.* Nobel Tıp Kitapevi, 2001:146-153.
66. Proye CA, Dromer DH, Carnaille BM, Gontier AJ, Goropoulos A, Carpentier P, et al. Is it still worthwhile to treat bone metastases from differentiated thyroid carcinoma with radioactive iodine? *1992;16(4):640-645.*
67. Çakına S: Akciğer kanserli hastalarda siklin D1 (CCND1) gen polimorfizminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniv. Sağlık Bilimleri Enst. Edirne 2009.
68. Israels ED, Israels LG. The Cell Cycle. *Oncologist.* 2000;5:510-513.

69. Engin K, Özyardımcı N, Akciğer Kanserleri Tanı ve Tedavide Temel İlkeler ve Uygulamalar. Bölüm 3.
70. Pucci B, Kasten M, Giordano A. Cell Cycle and Apoptosis. *Neoplasia*. 2000;2(4):291-299.
71. Gökdemir A: Kemiğin Dev Hücreli Lezyonlarında Hücre Siklus Proteinlerinin (Siklin D1, Siklin D3, P21, P27) ve Ki-67'nin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı. Adana 2006.
72. Kumar V, Abbas, Fausto, Robbins and Cotran. *Pathologic Basis of Disease* (7th ed). Elsevier Saunders, 2005.
73. Kumar V, Cotran R S, Robbins S L. *Temel Patoloji* (7. Baskı), İstanbul: Nobel, 2003.
74. Cabadak H. Hücre siklusu ve kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2008;9(3):51–61.
75. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal*. 2008;21(3):282-295.
76. Knudsen KE, Diehl JA, Haiman CA and Knudsen ES. Cyclin D1: polymorphism, aberrant splicing and cancer risk. *Oncogene*. 2006; 2:1620–1628.
77. Solomon DA, Wang Y, Fox SR, Lambeck TC, Giesting S, Lan Z, Senderowicz AM and Knudsen ES. Cyclin D1 Splice Variants. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(32):30339–30347.
78. Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, Hoban P, Ryder WD and Heighway J. Alternate splicing produces a novel cyclin D1 transcript. *Oncogene*. 1995;11:1005-1011.
79. Demokan S, Süoğlu Y. Ulsan M. Dalay N. Baş-Boyun Kanserli Hastalarda Siklin D1 G870A Polimorfizminin İncelenmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2011;31(6):1435-41.
80. Kong S, Wei Q, Amos CI, Lynch PM, Levin B, Zong J, Frazier ML. Cyclin D1 Polymorphism and Increased Risk of Colorectal Cancer at Young Age. *Journal of the National Cancer Institute*. 2001;93(14):1106-1108.

81. Grieu F, Malaney S, Ward R, Joseph D, Iacopetta B. Lack of association between CCND1 G870A polymorphism and the risk of breast and colorectal cancers. *Anticancer Res.* 2003;23(5b):4257-9.
82. Lewis RC, Bostick RM, Xie D, Deng Z, Wargovich MJ, Fina MF, Roufail WM and Geisinger KR. Polymorphism of the Cyclin D1 Gene, CCND1, and Risk for Incident Sporadic Colorectal Adenomas. *Cancer Research.* 2003;63:8549–8553.
83. Marchand LL, Seifried A, Lum-Jones A, Donlon T, Wilkens LR. Association of the Cyclin D1 A870G Polymorphism With Advanced Colorectal Cancer. *JAMA.* 2003;290(21):2843-2848.
84. Jiang J, Wang J, Suzuki S, Gajalakshmi V, Kuriki K, Zhao Y, Nakamura S, Akasaka S, Ishikawa H, Tokudome S. Elevated risk of colorectal cancer associated with the AA genotype of the cyclin D1 A870G polymorphism in an Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2006;132:193–199.
85. Huang WS, Tang R, Lin PY, Changchien CR, Chen JS, Chiang JM, Yeh CY, Wang JY, Hsieh LL. Impact of the cyclin D1 A870G polymorphism on susceptibility to sporadic colorectal cancer in Taiwan. *Dis Colon Rectum.* 2006;49(5):602-8.
86. Forones NM, de Lima JM, de Souza LG, da Silva IDC. Cyclin D1 A870G Polymorphism in Brazilian Colorectal Cancer Patients. *Journal of Gastrointestinal Cancer.* 2008;39(1-4):118-123.
87. Hong Y, Eu KW, Seow-Choen F, Fook-Chong S, Cheah PY. GG genotype of cyclin D1 G870A polymorphism is associated with increased risk and advanced colorectal cancer in patients in Singapore. *European Journal of Cancer.* 2005;41:1037–1044.
88. Yaylım-Eraltan İ, Arıkan S, Yıldız Y, Cacina C, Ergen A, Tuna G, ve ark. The Influence of Cyclin D1 A870G Polymorphism on Colorectal Cancer Risk and Prognosis in a Turkish Population. *Anticancer Research.* 2010;30: 2875-2880.
89. Krippel P, Langsenlehner U, Renner W, Yazdani-Biuki B, Wolf G, Wascher TC, Paulweber B, Weitzer W, Leithner A and Samonigg H. The 870G>A polymorphism of cyclin D1 gene is not associated with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2003;82:165-168.

90. Yaylım-Eraltan İ, Ergen A, Görmüş U, Arıkan S, Küçüçük S, Şahin O, Yiğit N, Yıldız Y, An İşbir T. Breast Cancer and Cyclin D1 Gene Polymorphism in Turkish Women. *in vivo*. 2009;23:767-772.
91. Yu CP, Yu JC, Sun C, Tzao C, Ho JY, Yen AMF. Tumor susceptibility and prognosis of breast cancer associated with the G870A polymorphism of CCND1. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;107:95–102.
92. Howe D and Lynas C. The cyclin D1 alternative transcripts [a] and [b] are expressed in normal and malignant lymphocytes and their relative levels are influenced by the polymorphism at codon 241. *Haematologica*. 2001;86:563-569.
93. Pakakasama S, Phaichitchinda P, Kajanachumpol S, Udomsubpayakul U, Apibal S, Hongeng S. Cyclin D1 Genetic Polymorphism and Clinical Presentation of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Austral - Asian Journal of Cancer*. 2009;8(3):191-194.
94. Hou X, Wang S, Zhou Y, Xu Z, Zou Y, Zhu X, Han M, Pang T, Han ZC. Cyclin D1 gene polymorphism and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *Int J Hematol*. 2005;82(3):206-209.
95. Wang L, Habuchi T, Takahashi T, Mitsumori K, Kamoto T, Kakehi Y, Kakinuma H, Sato K, Nakamura A, Ogawa O and Kato T. Cyclin D1 gene polymorphism is associated with an increased risk of urinary bladder cancer. *Carcinogenesis*. 2002;23(2):257-264.
96. Ito M, Habuchi T, Watanabe J, Higashi S, Nishiyama H, Wang L, Tsuchiya N, Kamoto T and Ogawa O. Polymorphism within the cyclin D1 gene is associated with an increased risk of carcinoma in situ in patients with superficial bladder cancer. *Urology*. 2004;64:74–78.
97. Qiuling S, Yuxin Z, Suhua Z, Cheng X, Shuguang L and Fengsheng H. Cyclin D1 gene polymorphism and susceptibility to lung cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis*. 2003;24(9):1499-1503.
98. Sobti RC, Kaur P, Kaur S, Singh J, Janmeja AK, Jindal SK, Kishan J, Raimondi S. Effect of cyclin D1 (CCND1) polymorphism on susceptibility to lung cancer in a North Indian population. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2006;170:108-114.
99. Wang W, Spitz MR, Yang H, Lu C, Stewart DJ and Wu X. Genetic Variants in Cell Cycle Control Pathway Confer Susceptibility to Lung Cancer. *ClinCancerRes*. 2007;13(19):5974-5981.

100. Hsia TC, Liu CJ, Lin CH, Chang WS, Chu CC, Hang LW, Lee HZ, Lo WC, Bau DT. Interaction of CCND1 genotype and smoking habit in Taiwan lung cancer patients. *Anticancer Res.* 2011;31(10):3601-5.
101. Gautschi O, Hugli B, Ziegler A, Bigosch C, Bowers NL, Ratschiller D, Jermann M, Stahel R.A., Heighway J. and Bettichet DC. Cyclin D1 (CCND1) A870G gene polymorphism modulates smoking-induced lung cancer risk and response to platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Lung Cancer.* 2006;51:303-311.
102. Zhang J, Li Y, Wang R, Wen D, Sarbia M, Kuang G, Wu M, Wei L, He M, Zhang L. and Wang S. Association of cyclin D1 (G870A) polymorphism with susceptibility to esophageal and gastric cardiac carcinoma in a northern chinese population. *Int. J. Cancer.* 2003;105, 281–284.
103. Casson AG, Zheng Z, Evans SC, Geldenhuys L, van Zanten SV, Veugelers PJ, Porter GA, Guernsey DL. Cyclin D1 Polymorphism (G870A) and Risk for Esophageal Adenocarcinoma. *Cancer.* 2005;104(4):730-739.
104. Jain M, Kumar S, Lal P, Tiwari A, Ghoshal UC, Mittal B. Role of *BCL2* (*ala43thr*), *CCND1* (*G870A*) and *FAS* (*A-670G*) polymorphisms in modulating the risk of developing esophageal cancer. *Cancer Detection and Prevention.* 2007;31(3):225-232.
105. Yu C, Lu W, Tan W, Xing D, Liang G, Miao X and Lin D. Lack of Association between CCND1 G870A Polymorphism and Risk of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12:176.
106. Geddert H, Kiel S, Zotz RB, Zhang J, Willers R, Gabbert HE, Sarbia M. Polymorphism of p16^{INK4} and cyclin D1 in adenocarcinomas of the upper gastrointestinal tract. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2005;131:803-808.
107. Song JH, Kim CJ, Cho YG, Park YK, Nam SW, Yoo NJ, Lee JY, Park WS. Association of cyclin D1 G870A polymorphism with susceptibility to gastric cancers in Korean male patients. *Neoplasma.* 2007;54:235-239.
108. Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Yamashita H, Hirata I. Association between cyclin D1 (CCND1) polymorphism and gastric cancer risk in Japanese population. *Hepatogastroenterology.* 2009;56(93):1232-5.

109. Liu B, Zhang Y, Jin M, Ni Q, Liang X, Ma X et al. Association of Selected Polymorphisms of CCND1, p21, and caspase8 With Colorectal Cancer Risk. *Molecular Carcinogenesis*. 2010; 49:75-84.
110. Liu G, Cescon DW, Zhai R, Zhou W, Kulke MH, Ma C et al. p53 Arg72Pro, MDM2 T309G and CCND1 G870A polymorphisms are not associated with susceptibility to esophageal adenocarcinoma. *Dis Esophagus*. 2010;23(1):36-39.
111. Akkız H, Bayram S, Bekar A, Akgöllü E, Özdil B. Cyclin D1 G870A polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in the Turkish population: Case-control study. *Cancer Epidemiology*. 2010;34:298-302.
112. Zheng Y, Shen H, Sturgis EM, Wang LE, Eicher SA, Strom SS, Frazier ML, Spitz MR and Wei Q. Cyclin D1 polymorphism and risk for squamous cell carcinoma of the head and neck: a case-control study. *Carcinogenesis*. 2001;22(8):1195-1199.
113. Huang M, Spitz MR, Gu J, Lee JJ, Lin J, Lippman SM and Wu X. Cyclin D1 gene polymorphism as a risk factor for oral premalignant lesions. *Carcinogenesis*. 2006;27(10):2034-2037.
114. Zhu ZZ, Wang AZ, Jia HR ve ark. Polymorphism of Cyclin D1 and Genetic Susceptibility to Colorectal Cancer of Human, *Progress of Anatomical Sciences*. 2008;04.
115. Birben E. Polimeraz zincir reaksiyonu. *Astım Allerji İmmünoloji*. 2006; 4: 92-94.
116. Deligezer U. Gen Polimorfizm Analizinde Light Cycler Floresan PCR Tekniğinin Kullanılması: Myeloid Lösemili Çocuk ve Yetişkin Hastalarda MTHFR C677T Gen Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi. *Türk Onkoloji Dergisi*. 2004;19:134-139.
117. Sawa H, Ohshima TA, Ukita H, Murakami H, Chiba Y, Kamada H, et al. Alternatively spliced forms of Cyclin D1 modulate entry into the cell cycle in an inverse manner. *Oncogene*. 1998;16(13):1701-12.
118. Kong S, Amos CI, Luthra R, Lynch PM, Levin B, Frazier ML. Effects of Cyclin D1 polymorphism on age onset of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res*. 2000;60(2):249-52.

119. McKay JA, Douglas JJ, Ross VG, Curran S, Murray GI, Cassidy J, Mcleod HL. Cyclin D1 protein expression and gene polymorphism in colorectal cancer. *Int. J. Cancer*. 2000;88, 77–81.
120. Schernhammer ES, Tranah GJ, Giovannucci E, Chan AT, Ma J, Colditz GA, Hunter DJ et al. Cyclin D1 A870G polymorphism and the risk of colorectal cancer and adenoma. *British Journal of Cancer*. 2006; 94: 928-934.
121. Kanaan Z, Eichenberger MR, Young M, Colliver D, Crawford N, Cobbs GA et al. inflammatory bowel disease-associated neoplasia. *Int J Biol Markers*. 2010;25(1):27-31.
122. Jeon YT, Kim JW, Park NH, SongYS, Kang SB, Lee HP. Cyclin D1 polymorphism and cervical cancer risk. *Journal of Clinical Oncology, ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition)*. 2004; 22 (18S), 5050.
123. Wong YK, Lin SC, Chang CS, Tseng YH, Liu CJ, Lin HC et al. Cyclin D1 genotype in areca-associated oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2003;32:265-270.
124. Sathyan KM, Nalinakumari KR, Abraham T and Kannan S. Influence of single nucleotide polymorphism in H-Ras and Cyclin D1 genes on oral cancer susceptibility. *Oral Oncology*. 2006;42:607-613.
125. Gomes CC, Drummond SN, Guimaraes ALS, Andrade CI, Mesquita RA, Gomez RS. P21/WAF1 and cyclin D1 variants and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2008;37:151-156.
126. Lin YC, Yeh CJ, Wang LH, Lee CW, Chen CH. The effect of CCND1 +870A>G and VEGF +936C>T polymorphisms on oral cancer development and disease-free survival in a Taiwan population. *Oral Oncology*. 2012;48:535-540.
127. Kang S, Kim JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. Cyclin D1 polymorphism and the risk of endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*. 2005;97:431-435.
128. Ashton KA, Proietto A, Otton G, Symonds I, McEvoy M, Attia J et al. The influence of the Cyclin D1 870 G>A polymorphism as an endometrial cancer risk factor. *BMC Cancer*. 2008;8:272.

129. Rydzanicz M, Golusinski P, Mielcarek-Kuchta D, Golusinski W, Szyfter K. Cyclin D1 gene (CCND1) polymorphism and the risk of squamous cell carcinoma of the larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2006;263:43-48.
130. Liu W, Zhu E, Wang R, Wang L, Gao L, Yang X et al. Cyclin D1 gene polymorphism A870G, is associated with an increased risk of salivary gland tumors in the Chinese population. *Cancer Epidemiology*. 2011;35: 12-17.
131. Wang L, Habuchi T, Takahashi T, Mitsumori K, Li Z, Kamoto T et al. Increased risk of prostate cancer associated with AA genotype of cyclin D1 gene A870G polymorphism. *Int.J.Cancer*. 2003;103:116-120.
132. Catarino R, Matos A, Pinto D, Pereira D, Craveiro R, Vasconcelos A et al. Increased risk of cervical cancer associated with cyclin D1 gene A870G polymorphism. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2005;160:49-54.
133. Matthias C, Branigan K, Jahnke V, Leder K, Haas J, Heighway J et al. Polymorphism within the Cyclin D1 Gene Is Associated with Prognosis in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Clinical Cancer Research*. 1998;4:2411-2418.
134. Halley SL, Matthias C, Jahnke V, Fryer AA, Strange RC, Hoban PR. Association of cyclin D1 polymorphism with increased susceptibility to oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*. 2005;41:156-160.
135. Catarino RJ, Breda E, Coelho V, Pinto D, Sousa H, Lopes C et al. Association of the A870G cyclin D1 gene polymorphism with genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck*. 2006;28:603-608.