

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

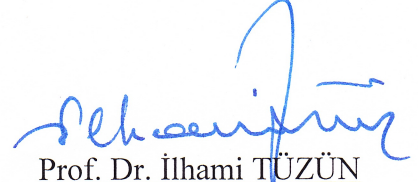
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TİROİD PAPİLLER VE FOLLİKÜLER KARSİNOM, NODÜLER
HİPERPLAZİ VE FOLLİKÜLER ADENOMALARDA SİTOKROM P450
(CYP) VE GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GST) İZOZİMLERİNİN
PROTEİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ VE KLİNİK-
SEROLOJİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI**

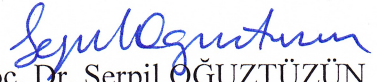
Duygu EROL

HAZİRAN 2012

Biyoloji Anabilim Dalında Duygu EROL tarafından hazırlanan TİROİD PAPİLLER VE FOLLİKÜLER KARSİNOM, NODÜLER HİPERPLAZİ VE FOLLİKÜLER ADENOMALARDA SİTOKROM P450 (CYP) VE GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GST) İZOZİMLERİNİN PROTEİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ VE KLİNİK-SEROLOJİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.


Prof. Dr. İlhami TÜZÜN
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

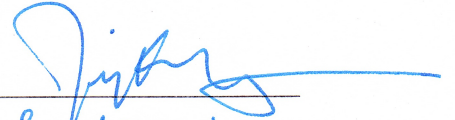
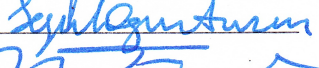
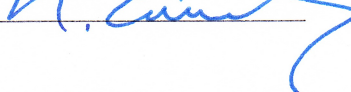

Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Siyami KARAHAN

Üye (Danışman) : Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Üye : Doç. Dr. Mustafa TÜRK




30.../05./2012

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Doç. Dr. Erdem Kamil YILDIRIM
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

TİROİD PAPİLLER VE FOLLİKÜLER KARSİNOM, NODÜLER HİPERPLAZİ VE FOLLİKÜLER ADENOMALARDA SİTOKROM P450 (CYP) VE GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GST) İZOZİMLERİNİN PROTEİN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ VE KLİNİK-SEROLOJİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

EROL, Duygu

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

Haziran 2012, 70 sayfa

Yirmisekiz adet nodüler hiperplazi, 17 adet folliküler adenoma, 18 adet papiller karsinom, 6 adet folliküler karsinom vakasında, glutatyon-S-transferaz (GST) pi(P), GST mü(M1), GST teta(T1) ve sitokrom P450 (CYP) 1A1, CYP1B1, CYP2E1'in immünohistokimyasal bulguları değerlendirildi. Bu hastalara ait dokular boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında; papiller karsinomada CYP1A1 izoziminin nodüler hiperplazi ve folliküler adenomaya göre daha fazla eksprese edildiği ($p<0,05$), CYP1B1 izoziminin ise folliküler karsinomada nodüler hiperplazi ve papiller karsinomaya göre daha fazla eksprese olduğu ($p<0,05$) tespit edildi. Papiller karsinomada GSTP izoziminin nodüler hiperplazi ve folliküler karsinomaya göre fazla eksprese olduğu ($p<0,05$) ancak CYP2E1, GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin hastalık grupları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p>0,05$) görüldü. Bu bulgulara göre GSTP, CYP1A1 ve CYP1B1 tiroid kanserinde diagnostik açıdan önemlidir. GST ve CYP izozimleri immünohistokimya sonuçları, klinik parametrelerle karşılaştırıldığında; CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonları hastalık durumlarında yaşa, cinsiyete, tümör evre, sigara içimi, TSH, sT3 ve sT4

seviyelerinde farklılık göstermedi ($p>0,05$). Fakat CYP1B1 izoziminin ekspresyonu sT3 seviyesinde ve CYP1A1 izoziminin ekspresyonu sigara içimine göre farklılık gösterdi ($p<0,05$).

Anahtar kelimeler: Nodüler hiperplazi, papiller karsinom, folliküler karsinom, CYP, GST, immünohistokimya

ABSTRACT

INVESTIGATION OF CYTOCHROME P450 AND GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE ISOENZYMES PROTEIN EXPRESSIONS IN THYROID PAPILLARY AND FOLLICULAR CARCINOMAS, NODULAR HYPERPLASIA AND FOLLICULAR ADENOMAS: COMPARISONS WITH CLINIC-SEROLOGIC PARAMETERS

EROL, Duygu

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN

June 2012, 70 pages

Glutathione-S-transferase (GST) pi(P), GST mu(M1), GST theta(T1) and cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1B1, CYP2E1 immunohistochemical staining results were evaluated in 28 nodular hyperplasia, 17 follicular adenoma, 18 papillary thyroid carcinomas, 6 follicular thyroid carcinomas cases. When the tissues of these cases were compared according to their staining intensity, CYP1A1 expression in papillary carcinoma was significantly higher than nodular hyperplasia and follicular adenoma ($p < 0,05$), and CYP1B1 expression was significantly higher in follicular carcinoma than nodular hyperplasia and papillary carcinoma ($p < 0,05$). GSTP expression in papillary carcinoma was significantly higher than nodular hyperplasia and follicular carcinoma ($p < 0,05$), but CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 expressions were not significantly different among diseases groups ($p > 0,05$). According to these results, GSTP, CYP1A1 and CYP1B1 were important in the diagnosis of thyroid carcinoma. When the immunohistochemical results of CYP and GST isoenzymes were correlated with the clinical parameters, they were not correlated with age, sex,

tumor stage, smoking status, TSH, sT3, sT4 levels ($p>0,05$). However, there were correlations between CYP1B1 expression and sT3 levels; CYP1A1 expression and smoking status ($p<0,05$).

Keywords: Nodular hyperplasia, papillary carcinoma, follicular carcinoma, CYP, GST, immunohistochemistry

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında, ortaya çıkmasında ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve birikiminin yanı sıra maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın deneysel kısmında doku kazanımı ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Uzmanı Sayın Uz. Dr. Gülçin GÜLER ŞİMŞEK'e ve tezimin istatistiksel analizlerinde bana yardımcı olan Kırıkkale Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Ekonometri Bölümü Başkanı Sayın Doç. Dr. Latif ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Laboratuvarları Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca deneyim ve desteğini benden esirgemeyen Sayın Öğr. Gör. Murat KILIÇ'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışma arkadaşlarım Kağan Deniz KOLOĞLU ve Serkan GÖL'e desteklerinden dolayı teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans öğrenimim süresince manevi desteğini benden esirgemeyen sevgili arkadaşım Ezgi YALÇIKLI'ya teşekkürü borç bilirim. Tüm hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans öğrenimim süresince de hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen sevgili ailem Zehra EROL ve Nejat EROL'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. Tiroid	2
1.2. Tiroid Kanseri.....	2
1.3. Patoloji.....	4
1.3.1. Çalışmaya Konu Olan Hastalık Grupları	4
1.3.1.1. Nodüler Hiperplazi.....	4
1.3.1.2. Folliküler Adenoma	5
1.3.1.3. Papiller Tiroid Karsinomu.....	7
1.3.1.4. Folliküler Tiroid Karsinomu	10
1.3.2. Tiroid Tümörlerinin Sınıflandırılması	12
1.3.3. Tiroid Karsinomlarında TNM Evrelemesi.....	13
1.4. Toksik Maddelerin Metabolizması (Biyotransformasyon)	15
1.5. Sitokrom P450	16
1.5.1. Sitokrom P450'lerin Sınıflandırılması.....	16
1.5.1.1. Sitokrom P450 1A1 (CYP1A1)	17
1.5.1.2. Sitokrom P450 1B1 (CYP1B1).....	17
1.5.1.3. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1)	17
1.5.2. Sitokrom P450'lerin Substratları	18
1.5.3. Sitokrom P450'nin Detoksifikasyondaki Rolü	18
1.5.4. Sitokrom P450 ve Tiroid Kanseri	18
1.6. Glutatyon S-Transferaz	19

1.6.1. Glutasyon S-Transferazların Sınıflandırılması	19
1.6.1.1. Alfa Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar	19
1.6.1.2. Mü Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar	20
1.6.1.3. Pi Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar.....	20
1.6.1.4. Teta Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar	20
1.6.2. Glutasyon S-Transferazların Substratları	21
1.6.3. Glutasyon S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü	21
1.6.4. Glutasyon S-Transferaz ve Tiroid Kanseri.....	21
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
2.1. Materyal.....	23
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
2.1.1.1. Solusyonların Hazırlanışı	23
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	24
2.2. Kullanılan Metot.....	24
2.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı	24
2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü	27
2.3. İstatistiksel Analiz	28
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	29
3.1. CYP ve GST İzozimlerinin Nodüler Hiperplazi, Folliküler Adenoma, Papiller Karsinom ve Folliküler Karsinom Dokularındaki Dağılımı	29
3.1.1. CYP İzozimlerinin Dağılımları.....	29
3.1.2. GST İzozimlerinin Dağılımları.....	34
3.2. CYP ve GST İzozimlerinin Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması	41
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	53
KAYNAKLAR	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Hasta dokularında CYP1A1 ile boyanma	31
3.2. Hasta dokularında CYP1B1 izozimi ile boyanma	32
3.3. Hasta dokularında CYP2E1 izozimi ile boyanma	34
3.4. Hasta dokularında GSTP izozimi ile boyanma	37
3.5. Hasta dokularında GSTM1 izozimi ile boyanma.....	38
3.6. Hasta dokularında GSTT1 izozimi ile boyanma.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. WHO tiroid tümörü sınıflandırılması.....	13
1.2. TNM evrelemesi, T,N,M.....	14
1.3. TNM Evrelemesi.....	15
2.1. Çalışmada kullanılan hastaların özellikleri	25
3.1. CYP izozimlerinin NH, FTA, PTK ve FTK dokularındaki dağılımları.....	30
3.2. GST izozimlerinin NH, FTA, PTK ve FTK dokularındaki dağılımları.....	35
3.3. GSTP, GSTT1, GSTM1, CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin hastalık grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarının karşılaştırılması	40
3.4. GSTP, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin papiller karsinomalı, folliküler adenomalı, nodüler hiperplazili ve folliküler karsinomalı dokularındaki ekspresyonlarının karşılaştırılması.....	42
3.5. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının yaşa göre karşılaştırılması	44
3.6. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının cinsiyete göre karşılaştırılması	45
3.7. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının TSH seviyesine göre karşılaştırılması	46
3.8. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının sT4 seviyesine göre karşılaştırılması	47
3.9. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının sT3 seviyesine göre karşılaştırılması	48
3.10. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının sigara içimine bağlı karşılaştırılması	49
3.11. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının tümör evreye bağlı karşılaştırılması	50

3.12. Hastalıklar arasındaki TSH dağılımı	51
3.13. Hastalıklar arasındaki sT3 dağılımı	51
3.14. Hastalıklar arasındaki sT4 dağılımı	52

KISALTMALAR DİZİNİ

CYP	Sitokrom P450
CK19	Sitokeratin 19
FTA	Foliküler Tiroid Adenomu
FTK	Foliküler Tiroid Karsinomu
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
NH	Nodüler Hiperplazi
sT3	Serbest T3
sT4	Serbest T4
T3	Triiyodotironin
T4	Tiroksin
PTK	Papiller Tiroid Karsinomu
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1.GİRİŞ

Kanser, bazı etkilerle değişikliğe uğramış hücrelerin vücudun bir organ veya dokusunda kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması ile karakterize edilen bir hastalıktır [1]. Dünya Kanser Raporu'nun 2008 verilerine göre dünya çapında 12,4 milyon yeni kanser vakası ve 7,6 milyon kanser sebepli ölüm vardır. Bu durum, kanserin önemini arttırmaktadır [2].

Tiroid kanseri, endokrin kanserlerinin en sık görülen tipidir [3,4]. Tiroid kanseri, kadın kanserlerinin %1,6'sını, erkek kanserlerinin ise %0,6'sını oluşturmaktadır. Bu düşük insidansa rağmen, tüm endokrin kanserlerinin %90'dan fazlasını oluştururlar ve endokrin kanser ölümlerinin %50'sinden fazlasından sorumludurlar [5]. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı'nın yayınladığı istatistiklere göre 2005 yılında ilk on kanser sıralamasında tiroid kanseri 8,44/100.000 insidans ile kadınlarda 3. sırada yer almaktadır [6]. Son yıllarda ülkemizde tiroid kanserlerinin görülme sıklığında bir artış olmuştur [7].

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde, iyonize radyasyona maruz kalmanın tiroid kanseri için ana neden olduğunu öne sürülmektedir [4]. Bunun yanı sıra diyet alışkanlıkları, etnik köken ve genotoksik ajanlara maruz kalma da risk faktörleri arasında sayılabilir [8].

Bu tez çalışmasında, papiller karsinomlu, folliküler karsinomlu, folliküler adenomlu ve nodüler hiperplazili hastalarda, ksenobiyotik enzimlerinden olan sitokrom P450 (CYP) ve glutatyon-S-transferaz (GST) izozimlerinin araştırılması ve elde edilen sonuçların yaş, cinsiyet, tiroid stimulan hormon (TSH), serbest T3 (sT3), serbest T4 (sT4) ve sigara kullanımı gibi klinik parametrelerle birlikte değerlendirilmesi tiroid kanseri gelişimi ve ilerlemesi konusuna ışık tutacaktır. Bu gelişmeler sayesinde tümör oluşumunun sebepleri, tümörün erken teşhisi, tedavi seçimi ve yeni tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde ilerleme kaydedilecektir.

1.1. Tiroid

Tiroid bezi, insanda bulunan endokrin bezlerden en büyük olanıdır [9]. Normal bir erişkinde açık kahve renkli ve ortalama 15-20 gr ağırlığındadır [10]. İstmus adı verilen dar bir tiroid dokusu şeridi ile birbirine bağlı iki lobdan oluşur. Tiroid bezi, larinksin aşağısında yer almakta olup lobları trakenin yan tarafında yer alır [11]. Her bir lobun boyu 4-5 cm, eni 2-3 cm, kalınlığı 2-4 cm'dir. Tiroid bezi bir çift bağ doku ile çevrilidir, bu bağ doku tiroid bezini sararak septalar oluşturur. Buna, tiroidin gerçek kapsülü denir. Gerçek kapsülün dışında daha az gelişmiş ikinci bir kapsül tabakası daha bulunmaktadır. Bu da, yalancı kapsül ya da cerrahi kapsül olarak adlandırılır [11,12].

Tiroid bezi, tiroid hormonu depolama ve üretiminden sorumludur. Kandan iyot konsantre ederek triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) hormonlarını sentezler. T4 hormonunun her molekülünde 4 iyot atomu mevcuttur. T3 hormonunun ise her molekülünde 3 iyot atomu bulunmaktadır. T3 hormonunun yarılanma ömrü T4'e göre daha kısadır. T4 hormonu, aslında asıl etkili olan T3 hormonunun depo şeklidir. T4 hormonu, etkin olacağı hücre içine girmeden önce bir iyot atomunu serbest bırakarak asıl etkili olan T3 hormonuna dönüşür [11].

1.2. Tiroid Kanseri

Tiroid kanseri, endokrin kanserlerinin en sık görülen tipidir [3,4] ve tüm endokrin kanserlerinin %90'dan fazlasını oluştururlar [5]. Klinikte görülen kanserlerin %1 kadarını oluşturur ve yavaş ilerleyen tümörlerdir [7]. Kansere nedenli ölümlerde tiroid kanseri 35. sırada yer alır [13] ve kansere bağlı ölümlerin %0,17-0,26'sını oluşturur [14,15]. İnsidansı diğer tümörlere göre daha hızlı artmaktadır; çocukluk çağında benign durumlar nedeniyle eksternal radyasyona alınmış olması, Çernobil nükleer reaktör kazası nedeniyle atmosferde kalıntı halinde bulunan radyoaktif iyoda maruz kalınması, ince iğne aspirasyonu ile subklinik dönemde tanı konulması ve ultrasonografideki gelişmelerin sıklığın artmasında rolü olduğu düşünülmektedir [14]. Son yıllarda ülkemizde tiroid kanserlerinin görülme sıklığında bir artış olmuştur [7]. Tiroid kanseri insidansı artmasına rağmen mortalite azalmıştır, bunun nedeni ise

erken tanı ve gelişmiş tedavi yöntemleri olarak görülmektedir [16]. Tiroid kanseri görülme sıklığı yaşa ve cinsiyete göre değişmektedir. Kadınlarda erkeklere göre 3 kat daha fazla görülmektedir [17,18]. Tiroid kanseri en sık 30-70 yaş arasında görülmektedir [18].

Tiroid karsinomlarının gelişiminde çevresel, genetik, hormonal faktörler ve bunların arasındaki ilişki önemlidir [19-20].

İyonize radyasyona maruziyet, tiroid kanserinin en açık risk faktörüdür [22]. Tiroid glandının radyosensitivitesi diğer organlardan daha yüksektir, bu nedenle radyasyon ile ilişkili kanser gelişme riski de daha yüksektir. İyonize radyasyona maruziyet, DNA hasarına neden olarak tiroid kanser riskinde belirgin bir artışa yol açar [23].

Sigara içimi ile tiroid kanser riski arasında ters bir ilişki bulunmuştur [24,25].

Tiroid bezinin büyümesi primer olarak TSH, büyüme faktörleri ve bazı sitokinler aracılığı ile olmaktadır. Uzun süreli TSH uyarısının neoplazinin büyümesine ve prognozun kötüleşmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir [26].

İyot eksikliği, TSH uyarısına neden olarak tiroid kanseri için risk faktörü olduğu öne sürülmüştür [27]. İyot alımı yeterli olan bölgelerde papiller tiroid karsinomu, iyot eksikliği olan bölgelerde ise folliküler tiroid kanseri ve anaplastik tiroid kanseri daha sık görülmektedir [28].

Guatr ya da benign tiroid nodüllerinin varlığı tiroid kanseri için risk faktörü olarak kabul edilmektedir [29,30]. Yapılan çalışmalar Hashimoto tiroiditine sahip bireylerde tiroid kanseri gelişim olasılığının yüksek olduğunu belirtmişlerdir [31, 32].

Tiroid kanseri kadınlarda 2-4 kat daha fazla görülmektedir [14] ve yaş, tiroid kanser riskini değiştiren güçlü faktörlerden biridir [33].

Papiller tiroid kanserlerinin yaklaşık %3-7'si ailseldir [34]. Gardner sendromu, familial adenomatoz polipozis (FAP), Cowden sendromu gibi çeşitli genetik sendromlar tiroid kanser riskinin artışıyla ilişkidir [14].

1.3. Patoloji

Normal bir tiroid dokusu histolojik olarak 2 temel parankimal hücre tipinden oluşur: folliküler hücreler ve C veya parafolliküler hücreler.

1-Folliküler hücreler, kolloidleri çevreler, tiroid hormonlarının sentez ve sekresyonundan sorumludur ve TSH hormonunun etkisi altındadır.

2-C veya parafolliküler hücreler ise, tirokalsitonin hormonunun yapım ve salınımından sorumludur [35].

Tiroid kanseri oldukça farklı özelliklerde bulunan bir grup tümörü ihtiva eder. Papiller tiroid karsinomu (PTC), folliküler tiroid karsinomu (FTC) ve Hürthle hücreli karsinom, ‘diferansiye tiroid kanseri (DTC)’ olarak adlandırılan tiroid folliküler hücre tümörleridir [34]. Tiroid kanserinin diğer bir formu da kalsitonin sekrete eden C veya parafolliküler hücrelerden türeyen medüller tiroid karsinomlarıdır (MTC). Anaplastik tiroid karsinomları (ATC) ise iyi diferansiye tiroid karsinomundan ortaya çıkmaktadır [37].

1.3.1. Çalışmaya Konu Olan Hastalık Grupları

1.3.1.1. Nodüler Hiperplazi

Nodüler hiperplazi (nodüler guatr), tiroid bezinin büyümesidir [38] ve en sık rastlanan endokrin patolojidir [39]. Nodüler hiperplazi prevalansı araştırmaların yapıldığı popülasyonun iyot alımına bağlı olarak farklılıklar gösterebildiği gibi popülasyon taramalarında kullanılan palpasyon veya ultrasonografi gibi tekniklere bağlı olarak da farklılıklar gösterebilmektedir [40]. Genel olarak popülasyonun %2-4’ünde palpasyonla belirlenebilen bir kitle vardır, otopside bu oran, genellikle multipl nodül olmak üzere %10’a çıkmaktadır. Endemik guatra su ve topraktaki düşük iyot düzeyleri neden olurken daha sık görülen sporadik nodüler guatrın patogenezi bilinmemektedir [31,42], fakat mevcut düşünceye göre genetik yatkınlık, çevresel tetikleyiciler ve en önemlisi iyot eksikliği sebepler arasında yer almaktadır [43]. Makroskopik olarak nodüler hiperplaziler, asimetric büyüme ve şekil bozukluğuyla izlenir [42].

1.3.1.2. Folliküler Adenoma

Tiroidin folliküler diferansiyasyon gösteren kapsüllü benign tümördür, genellikle soliterdir [30]. En sık görülen tiroid neoplazisidir [42].

Folliküler adenomlar genellikle tek, yuvarlak veya ovalnodül şeklinde olup, ince bir kapsülle çevrilidir. Nadiren nodüler hiperplazi zemininde gelişebilir. Histopatolojik olarak folliküler adenomlar farklı kalınlıkta fibröz bir kapsülle çevrilidir. Yapısal paternleri ve sitolojik özellikleri çevre tiroid dokusundan farklıdır. [44].

Folliküler adenomda etyolojik faktörler folliküler karsinom ile oldukça benzerdir. Radyasyon ve iyot eksikliğine ilave olarak dishormonogenezis ve Cowden sendromu gibi genetik bozukluklar da tanımlanmıştır [44].

İmmunohistokimyasal olarak folliküler adenomlar sitokeratinler, tiroglobulinler ve TTF-1 ile pozitif, sitokeratin 19 (CK 19), kalsitonin ve nöroendokrin belirteçlerle negatiftirler [44].

Folliküler adenomun pek çok histolojik varyantı tanımlanmıştır [44].

1. Onkositik folliküler adenom: Bu soliter, iyi sınırlı ve kapsüllü tümörler sıklıkla santral kısmı skarlı ve kızıl kahverengi görünüm ile karakterizedir. Tümör hücrelerinin sitoplazmaları bol granüler eozinofiliktir ve büyük nükleuslu hücrelerden oluşur. Fokal ya da tamamen papiller yapı vardır; ancak papiller karsinomun tipik nükleer özellikleri yoktur. Vasküler veya kapsüler invazyon yokluğu ile onkositik folliküler karsinomdan ayrılır. Bu tümörler özellikler genç kadınlarda görülür [27,29].

2. Papiller hiperplazi gösteren folliküler adenom: Folliküler adenomun papiller varyantı olarak da bilinen bu alt tip, kapsüllü ve kısmen kistikdir. Histopatolojik olarak uniform, yuvarlak ve hiperkromatik nükleuslu kolumnar hücrelerle kaplı ya da dallanan papillalardan oluşmuştur. Papiller karsinomun tipik çekirdek özelliklerine sahip değildir. Baskın olarak çocuklar ve gençlerde görülür [42,44].

3. Fetal adenom: Tümör, santralinde ödemli stroma içinde mikrofoliküler /trabeküler yapıların olması ile karakterizedir. Fetal adenomların %50'sinden fazlasının anöploid olduğu bilinmektedir [44].

4. Taşlı yüzük hücreli folliküler adenom: Bu alt tip, nükleusu periferde iten sitoplazmik vakuollü taşlı yüzük hücreleri ile karakterizedir. Vakuoller tiroglobulin ile pozitif boyanma gösterir [44].

5. Müsinöz folliküler adenom: Bu tip folliküler adenom, genellikle mikrokistik, retiküler ya da multikistik bir paternde ekstrasellüler müsin depolanması ile karakterizedir. Folliküler adenomun tipik özellikleri tümörün bazı alanlarında belirgindir [44].

6. Lipoadenom: Folliküler adenomun içine dağılmış olarak bulunan matür yağ hücreleri bulunur [44].

7. Şeffaf hücreli folliküler adenom: Tümör hücrelerinin sitoplazmalarının şeffaflaşması mitokondrilerin balonlaşması, sitoplazmada lipid ya da glikojen birikmesi ya da intraselüler tiroglobulin depolanması gibi nedenlere bağlıdır. İmmünohistokimyasal olarak tiroglobulin ve TTF-1, bu alt tipin metastatik renal hücreli karsinomdan ayırıcı tanısından faydalıdır [44].

8. Toksik (hiperfonksiyone) adenom: Otonom tiroksin üretimi nedeniyle hipertroidizm semptomları ile ilişkilidir. Histolojik olarak, folliküler yüksek, uzun hücreler ile çevrilmiştir. Graves hastalığında olduğu gibi lümen içine uzanan papiller yapılar görülür. Radyoaktif iyot görüntülemeye tümör, sıcak nodül olarak görülür [40,42].

9. Atipik adenom: Atipik adenoma terimi, vasküler ya da kapsüler invazyon olmaksızın artmış yüksek selülarite, nükleer atipi veya alışılmadık histolojik patern sergileyen folliküler neoplazileri ifade etmek amacıyla kullanılır [44].

10. Bizar nüklüslü folliküler adenom: Tipik bir folliküler adenomda tek ya da küçük gruplar halinde, büyük hiperkromatik nükleuslu bizar hücrelerinin bulunmasıdır [44].

1.3.1.3. Papiller Tiroid Karsinomu

Tiroidin papiller karsinomu, folliküler diferansiyasyon gösteren ve ayırt edici nükleer özellikleri olan malign epitelyal bir tümördür [45].

Papiller karsinom, tiroid kanserinin en sık görülen şeklidir, tüm tiroid kanserlerinin %85'ini kapsar [45,46]. Tüm dünyada papiller karsinom insidansı artmıştır. İnsidansın artmasına karşın mortalite hızı azalmıştır [45].

Papiller karsinom, en sık 20-50 yaşlarında görülmektedir ve kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir [45,46]. Bu durumun, neoplastik tiroid epiteline östrojen reseptörü bulunuşu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [19].

Etyolojisinde en önemli faktör radyasyondur. Radyasyona maruziyet ile tümör gelişimi arasındaki latent süre yaklaşık 20 yıldır, fakat bu süre değişkendir [42,45,47].

Papiller karsinomlar makroskopik özellik bakımından çeşitlilik gösterir. Birçok lezyon düzensiz sınırlı, gri-beyaz sert kitle şeklindedir, çevre tiroid parankimini infiltre eder. Tümör boyutu değişkendir ve multisentrite sıktır. Papiller karsinomlar tiroid çevresi yağ dokusu, iskelet kası, larinks, özofagus, ve trakea içine uzanım gösterebilirler [45]. Papiller karsinom lenfatik kanallara yayılma eğilimindedir. Venöz invazyon da oluşabilir [45,46]. Tümör papiller ve/veya folliküler yapılardan oluşur. Tümör hücreleri normal folliküler hücrelerden daha büyüktür [46].

Papiller karsinomda çekirdek özellikleri tanı koydurucudur. Nükleuslar üst üste gelme özelliği gösterir (overlapping), normal folliküler hücresi nükleusundan dahabüyük, daha ovalimsidir, buzlu cam görünümünde şeffaflaşmışlardır, nükleer çentiklenme görülür ve hücredeki konumları düzensizdir [46,47].

Papiller karsinom immünohistokimyasal olarak tiroglobulin, sitokeratin ve TTF-1 ile pozitif boyanmaktadır [46].

Histolojik Varyantlar:

1.Folliküler papiller karsinom: Bu tümörlerin çoğunun makroskopik görünümüleri kapsüllü folliküler neoplazilere benzer. Mikroskopik olarak hemen hemen hiç papiller yapının görülmediği düzensiz şekilli folliküllerden oluşur. Follikülleri

döşeyen hücrelerin çoğu nükleer çentik bulunan büyük berrak nükleus ve psödoinklüzyon içerir. Bu alt tipte psödoinklüzyonların sayısı klasik papiller rioid karsinomundan daha azdır. Tümörlerin yaklaşık üçte biri kapsüllüdür [45].

2. Makrofolliküler papiller karsinom: Papiller karsinomun makro folliküler varyantı muhtemelen en nadir görülen formudur. Tümörlerin çoğu kapsüllüdür. Tümörün %50'sinden fazlasını makrofolliküller oluşturur; bu yüzden sıklıkla hiperplastik nodüller veya makrofolliküler adenomlarla karıştırılır. Makrofolliküllerin büyük çoğunluğu hiperkromatiktir ve kolloid sıklıkla periferik vakuolizasyon gösterir. Bazı folliküller, papiller karsinomun karakteristik özellikleri olan nükleer çentik ve psödoinklüzyonları olan hücrelerle döşelidir [45].

3. Onkositik papiller karsinom: Onkositik papiller karsinomlar makroskopik olarak kıızıl, kahve renk ile, mikroskobik olarak papiller ya da folliküler yapı ile karakterizedir. Papiller tümörler, ince fibrovasküler stromal kolları örten, onkositik hücrelerden oluşan ve dallanan papillalar ile karakterizedir. Folliküler yapıdaki tümörler, makrofolliküler veya mikrofolliküler olabilirler. Onkositik hücrelerin sitoplazmaları bol granüler eozinofiliktir [45].

4. Warthin benzeri tümör: Bu alt tip, papiller tiroid karsinomunun nadir bir varyantıdır. Genellikle kistik ya da solid-kistik tiroid nodülü olarak görülür. Histolojik olarak, bol granüler eozinofilik sitoplazmalı, yoğun kronik inflamatuvar hücrelidir. Hashimoto tiroiditinde sık olarak ortaya çıkan bir varyanttır [48].

5. Şeffaf hücreli papiller karsinom: Hem klasik papillar karsinomlarda hem de folliküler varyant papillar karsinomlar baskın olarak şeffaf hücrelerden oluşabilir. Çoğunlukla papiller yapı baskındır, fakat folliküler büyüme paternine de sahip olabilirler. Bu tümörlerin bazılarında onkositik ve şeffaf hücreler karışık halde bulunabilir. Nükleer özellikleri klasik papiller karsinomun nükleer özelliklerini taşır. Ayrıca bazı hücreler kısmen şeffaf kısmen de onkositik sitoplazmaya sahip olabilir. İmmünohistokimyasal olarak tiroglobulin ve TTF-1 boyaları yokluğunda metastatik bölgelerde şeffaf hücreli varyantı tanımak problemlidir [45].

6. Diffüz sklerozan papiller karsinom: Bu varyant genellikle genç hastalarda görülür. Baskın bir kitle oluşturmaksızın tiroid lobunun bir ya da her iki lobunu diffüz olarak tutabilir. Çok sayıda psammom cisimleri, yoğun lenfositik infiltrasyon

ve stromal fibrozis ile karakterizedir. Belirgin bölgesel lenf nodu metastazı bulunabilir [45,46].

7. Uzun hücreli papiller karsinom: Papiller karsinomun bu varyantı nadir görülür. Boyları enlerinin üç katını geçen hücrelerden oluşur. Hücrelerin sitoplazmaları genellikle eozinofiliktir. Klasik papiller karsinomun özelliklerini taşıyan nükleusları vardır. Sıklıkla ileri yaşta görülür ve prognozu klasik papiller karsinoma göre daha kötüdür [45,46].

8. Kolumnar hücreli papiller karsinom: Kolumnar hücreli papiller karsinom, nadirdir ve her yaştaki yetişkinlerde ortaya çıkabilir. Genellikle solid, nodüler, açık renk bir kitle halinde olan tümör, uzun, ince kolumnar hücrelerden meydana gelir. Hiperkromatik nükleus baskındır. Sitoplazma genellikle berrak, bazen de eozinofilik veya amfofiliktir [46]. Tümörlerin çoğu kapsüllüdür ve kapsülsüz ya da kısmen kapsüllü tümörlerden daha düşük metastatik potansiyele sahiptir. Neoplastik hücreler tiroglobulin ve TTF-1 ile pozitifdir [45].

9. Solid papiller karsinom: Solid alt tip, klasik papiller karsinomun nükleer özelliklerini gösteren solid hücre tabakalarından oluşur. Olguların üçte birinde vasküler invazyon izlenir. Bu tip tümörlere radyasyona maruz kalmış çocuklarda daha sık rastlanır [45].

10. Kribriform karsinom: Bu alt tip fokal papiller yapı, kribriform özellikler, solid ve iğsi hücreler ile karakterizedir. Fokal olarak, nükleus berraktır ve nükleer çentik vardır. Tümör genellikle multifokaldır ve genç kadınlarda baskın olarak görülür. Tipik olarak ailevi adenomatöz polipozis koli ve Gardner sendromu olan hastalarda görülür. Bu tümörlerin birçoğu tiroglobulin ile fokal pozitiflik gösterir [45].

11. Kombine papiller ve medüller karsinom: Tiroid karsinomunun bu kombine formunda, papiller karsinom genellikle %25'in altındaki küçük komponenti oluşturur. Medüller ve papiller karsinom komponentleri çok iyi karışmış olmalarına rağmen her komponent kendi nükleer özellikleri sayesinde ayırt edilebilir. İmmünohistokimyasal olarak medüller komponent kalsitonin, papiller komponent ise tiroglobulin ile pozitifken, her iki komponent TTF-1 ile pozitifdir [45].

12. Papiller mikrokarsinom: Mikrokarsinom terimi, rastlantısal olarak bulunan, çapı 1cm ve altında olan papiller karsinomlar için kullanılır. Papiller karsinomun en sık rastlanılan tipidir. Genellikle tiroid kapsülüne yakın yerleşen bu tümörler, sıklıkla kapsülsüzdür; ancak kapsüllü formları da mevcuttur. Mikroskopik olarak tümör, folliküler ya da papiller yapıda olabilir. 0,5 cm'den küçük tümörler sıklıkla folliküler yapı gösterirken, 0,5 cm'den büyük çaptaki tümörler papiller yapıdadır [45].

Papiller karsinomun prognozu oldukça iyidir. On yıllık sağkalım %90'nın üzerindedir. Mitoz, nekroz, vasküler invazyon gibi mikroskopik özellikler prognostik açıdan değerli kriterlerdir. Yaş ise en önemli prognostik parametrelerden biridir; ileri yaşın kötü prognostik etkileri daha büyük tümör boyutu ve tümörün ekstraslandüler uzanımı ile artar. Uzun hücreli ve kolumnar hücreli alt tipler de klasik papiller karsinoma göre daha kötü prognoza sahiptir [42,45].

1.3.1.4. Folliküler Tiroid Karsinomu

Folliküler karsinom, folliküler hücre diferansiyasyonu gösteren ancak papiller karsinomun tanısal nükleer özelliklerini göstermeyen primer malign epitelyal tümördür [49]. Folliküler karsinom da papiller karsinom gibi iyi diferansiye tiroid kanseridir [50].

Folliküler karsinom insidansı iyottan yoksun bölgelerde daha fazladır [50].

Folliküler karsinom, klinik olarak tanınabilen tiroid malignitelerinin %10-15'inin oluşturmaktadır. Kadınlarda sık görülür ve en sık olarak 50'li yaşlarda ortaya çıkar. Çocuklarda papiller karsinoma göre daha ender görülür [49].

Folliküler karsinom etyolojisinde hem iyot eksikliği hem de radyasyon bulunmaktadır [49].

Makroskopik olarak folliküler karsinom kapsüllü, yuvarlak-oval şekilli, genellikle 1 cm'den büyük solid tümörlerdir. Kesit yüzleri şişkin olup rengi gri kahverengidir. Minimal invaziv tümörler folliküler adenomlardan ayırt edilemez. Ancak folliküler karsinomların kapsülleri daha kalın ve daha düzensiz olma eğilimindedir [49].

Foliküler karsinom, papiller karsinomun tipik nükleer özelliklerinden yoksun foliküler hücrelerin invaziv neoplazisidir. Bu neoplazmaların tanı ve sınıflandırılması tiroid patolojisinin en tartışmalı konularından birisidir. Foliküler karsinomlar, kolloid içeren iyi şekilli foliküllerden solid ya da trabeküler büyüme paternine kadar çok değişik morfolojiler gösterir. Kötü şekilli foliküller veya kribriform gibi atipik paternler meydana gelebilir ve birçok patern bir arada bulunabilir. Ancak, ne yapısal ne de sitolojik atipik özellikler foliküler malignitenin güvenilir kriterleridir; bu değişiklikler nodüler guatr ve adenom gibi benign lezyonlarda da görülebilir [49].

Klasik olarak, foliküler karsinomlar invazyon derecelerine göre iki ana gruba ayrılırlar [49]:

Minimal invaziv foliküler karsinomlarda sınırlı kapsüler ve/veya damar invazyonu mevcuttur. Minimal kapsüler invazyon gösteren tümörlerin metastaz riskleri oldukça düşüktür. Minimal vasküler invazyon gösteren tümörlerde ise metastaz riski minimal kapsüler invazyon gösteren tümörlere göre biraz daha yüksektir [49].

Yaygın invaziv foliküler karsinomlarda ise çevre tiroid dokusu ve/veya damarlar içine invazyon bulunur [49].

Kapsüler invazyon, daha önceki ince iğne aspirasyon yeri ile ilişkili olmayan bir odakta tümör kapsülüne tümör penetrasyonu olarak tanımlanır [49].

Vasküler invazyon ise endotelle çevrili ya da trombus ile ilişkili olarak intravasküler alanda tümör hücrelerinin varlığı olarak tanımlanır. Tümörün agresif seyir olasılığı vasküler invazyon derecesi ile artar. Yaygın vasküler invazyon gösteren tümörlerde metastaz riski yüksektir [49].

Foliküler karsinomlar tiroglobulin ve TTF-1 ile immünreaktivite gösterir. Bazı foliküler karsinomlarda sitokeratin 19 ve Galektin-3 ile de pozitiflik görülmüştür [49].

Histolojik Varyantlar:

1. Onkositik foliküler karsinom: Foliküler karsinomun bu alt tipi folikül hücre kökenlidir ve %75'inden fazlası onkositik hücrelerden oluşur. Oksifil veya Hürthle

hücreli karsinom olarak da adlandırılırlar. Tiroid malignitelerinin %3-4'ünü oluştururlar [41,49].

Makroskopik olarak kızıl kahve renk ile karakterizedir. Mikroskopik olarak iyi şekilli follikülerden solid ya da trabeküler büyüme paternine kadar değişen paternler gösterirler. Nükleusları sıklıkla eozinofilik nükleol vardır. Sitoplazma granülerdir. Bu tip tümörler de klasik folliküler karsinomdaki gibi minimal ve yaygın invaziv tip olarak sınıflandırılır. Tanı, kapsüler ve/veya vasküler invazyona göre yapılır [49].

İmmünohistokimyasal olarak tiroglobulin ve TTF-1 ile pozitifdir. CK7 ile pozitif, CK20 ile negatif boyanma gösterir [49].

2. Şeffaf hücreli folliküler karsinom: Folliküler karsinomlar glikojen, mürin, lipit veya dilate mitokondrili şeffaf hücrelerden oluşabilir [49].

Folliküler karsinomları papiller karsinomlardan ayırmak zordur. Papiller karsinomların aksine folliküler karsinomlar genellikle soliter, büyük çaplı ve klinik olarak semptomatiktirler [42,49]. Genel olarak, minimal invaziv folliküler karsinomlar düşük mortaliteye sahiptirler. Bunun aksine yaygın invaziv folliküler karsinomlar ise yüksek mortaliteye sahiptir ve metastaz olasılığı minimal invaziv tümörlere göre daha yüksektir [49]. En sık uzak metastazları akciğer ve kemiklere olur [42].

1.3.2. Tiroid Tümörlerinin Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) son olarak düzenlediği tiroid tümörlerinin histolojik sınıflandırılması Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. WHO tiroid tümörü sınıflandırılması (2004) [20]

Tiroid Kanseri	Tiroid Adenomu ve İlgili Tümörler	Diğer Tiroid Tümörleri
Papiller karsinom	Foliküler adenom	Teratom
Foliküler karsinom	Hiyalinizan trabeküler tümör	Primer lenfoma ve plazmositom
Az diferansiye karsinom		Ektopik timoma
İndiferansiye (anaplastik) karsinom		Anjisarkom
Skvamöz hücreli karsinom		Düz kas tümörü
Mukoepidermoid karsinom		Periferik sınır kılıf tümörü
Sklerozan epidermoid karsinom ile eozinofili		Paraganglioma
Müsinöz karsinom		Soliter fibröz tümör
Medüller karsinom		Foliküler dendritik hücreli tümör
Medüller-foliküler karsinom		Langerhans hücreli histiyositoz
İğsi hücreli tümör ile timus benzeri diferansiyasyon		Sekonder tümörler (metastaz)
Timus benzeri diferansiyasyon gösteren karsinom		

1.3.3. Tiroid Karsinomlarında TNM Evrelemesi

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) düzenlediği tiroid tümörlerinin TNM evrelemesi Çizelge 1.2 ve Çizelge 1.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. TNM evrelemesi, T,N,M [20]

T-Primer Tümör
<p>TX: Primer tümör değerlendirilmesi yapılamamaktadır.</p> <p>T0: Primer tümöre ait bulgu yok.</p> <p>T1: Tümör tiroid içine sınırlı, en büyük boyutu 2 cm veya daha küçük.</p> <p>T2: Tümör tiroid içine sınırlı, en büyük boyutu 2 cm'den büyük ancak 4 cm'den küçük.</p> <p>T3: Tümörün en büyük boyutu 4 cm'den büyük ve tiroide sınırlı veya tümör herhangi bir çapta ve minimal tiroid çevresi yumuşak dokuya invazyon var.</p> <p>T4a: Tümör herhangi bir çapta ve tiroid kapsülünü aşarak subkutan yumuşak dokuyu, larinks, trakea, özofagus ya da rekürren laringeal siniri invaze etmiş.</p> <p>T4b: Tümör prevertebral fasya veya karotid arter veya mediastinal damarları invaze etmiş.</p> <p>Anaplastik tümörlerin hepsi T4 olarak kabul edilir.</p>
N-Bölgesel Lenf Nodları
<p>NX: Bölgesel lenf nodu tutulumu değerlendirilememektedir.</p> <p>N0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok.</p> <p>N1: Bölgesel lenf bezi metastazı var.</p> <p>N1a: Pretrakeal, paratrakeal, prelaringeal/Delphian lenf nodu metastazı var.</p> <p>N1b: Unilateral veya bilateral servikal ya da üst mediastinal lenf nodu metastazı var.</p>
M-Uzak Metastaz
<p>MX: Uzak metastaz değerlendirilememektedir.</p> <p>M0: Uzak metastaz yok.</p> <p>M1: Uzak metastaz var.</p>

Çizelge 1.3. TNM Evrelemesi [20]

Evreler		
	Hasta yaşı <45	Hasta yaşı ≥45
Evre I	Herhangi T ve N, MO	T1, NO, MO
Evre II	Herhangi T ve N, M1	T2, NO, MO
Evre III		T3, NO, MO T1, N1a, MO T2, N1a, MO T3, N1a, MO
Evre IVA		T4a, NO, MO T4a, N1a, MO T1, N1b, MO T2, N1b, MO T3, N1b, MO T4, N1b, MO
Evre IVB		T4b, Herhangi N, MO
Evre IVC		Herhangi T ve N, M1

1.4. Toksik Maddelerin Metabolizması (Biyotransformasyon)

Çeşitli yollarla organizmaya giren lipofilik kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyonlara girer ve daha polar ve hidrofilik metabolitlere dönüştürülürler. Bir ksenobiyotiğin canlı organizmada uğradığı bu kimyasal değişimlerin tümüne biyotransformasyon denir. Biyotransformasyon sonucu oluşan ürünler safra ve böbreklerden daha kolay atılır. Ksenobiyotikler, biyotransformasyon ile değişik etki gösteren metabolitlere dönüşür ve sonra da konjugasyon reaksiyonları ile inaktif hale gelerek vücuttan atılır. Genel olarak ksenobiyotik veya metabolitlerinin bu son mekanizma ile transformasyonları sonucu toksisitesi azalıyor veya ortadan kalkıyorsa bu olaya “detoksifikasyon” denir; bazı durumlarda ise kimyasal maddenin biyotransformasyonu ile çok aktif ara metabolitler oluşabilir. Bu reaktif ara ürünlerin oluşmasına “toksikasyon” veya “biyoaktivasyon” denir [51].

Ksenobiyotiklerin metabolizması iki fazlı bir işlemdir: Faz I reaksiyonları daha çok karaciğerde gerçekleştirilir ve oksidasyon, redüksiyon, hidroliz reaksiyonlarından oluşur. Bu reaksiyonlar CYP enzimlerinin de dahil olduğu mikrozomal enzimler tarafından katalizlenir. Sınırlı olmakla birlikte akciğer, böbrek, barsak, testis, deri, plasenta, adrenal bezde de faz I reaksiyonu gerçekleşebilir. Faz I reaksiyonu ile lipitte çözünen ksenobiyotikler daha polar hale geçerler [52,53]. Faz II reaksiyonları ise birçok sitozolik enzim tarafından yürütülen konjugasyon reaksiyonlarıdır. Faz II reaksiyonları ile ilişkili en az 5 tip reaksiyon vardır. Bunlar; glukuronik asitle konjugasyon, sülfat konjugasyonu, glutatyon ile konjugasyon, asetilasyon ve metilasyondur. Birinci fazda oluşan polar metabolitler, ikinci faz reaksiyonları ile glukronik asit, glutatyon, sülfat gibi endojen maddelerle konjugasyona uğrayıp vücuttan atılırlar. Birinci fazda oluşan polar metabolitler, endojen maddelerle birleşerek inaktif şekilde eliminasyona uğrarlar [51].

1.5. Sitokrom P450

CYP'ler mikrozomal hemoproteinlerden oluşan, çok sayıda izozime sahip, prokaryot ve ökaryotlarda bulunan geniş bir enzim ailesidir. Endojen ve eksojen çok çeşitli bileşiklerin oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında görev alır. Steroidler, vitaminler, yağ asitleri gibi endojen maddelerin metabolizmasında rol oynadıkları gibi ilaçlar, çevresel kirleticiler ve karsinojenlerin biyotransformasyonunda da rol oynarlar [54-57].

CYP enzimleri, olgun eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında tüm memeli hücre tiplerinde bulunan hem-protein ailesidir. Hücrelerin mikrozomlarında bulunan CYP'ler, mikrozomal enzim sisteminin bir üyesidir. Fonksiyonlarını yerine getirmek için bir elektron transfer zincirine ihtiyaç duyar. Bu kaynak NADPH-Sitokrom c (P450) redüktaz enzimidir [58].

1.5.1. Sitokrom P450'lerin Sınıflandırılması

Sitokrom P450 çok sayıda izozime sahiptir ve her biri farklı gen tarafından sentezlenir. CYP enzimlerini kodlayan genler aminoasit dizilimindeki benzerliğe

göre ailelere ve alt ailelere ayrılırlar. Aminoasit dizilimindeki benzerlik %40'tan az ise aynı aileye, %50'den fazla ise aynı alt aileye mensupturlar. Günümüzde bilinen 70 CYP ailesinden 17 tanesi insanlarda mevcuttur [59]. Bu enzim ailelerinden CYP1, CYP2, CYP3 daha çok ilaç ve diğer ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumludurlar. Diğer aileler ise endojen bileşiklerin metabolizmasında görev alırlar [54,59,60].

1.5.1.1. Sitokrom P450 1A1 (CYP1A1)

CYP1A1, CYP1A alt ailesinin iki üyesinden biridir [61]. CYP1A1 genellikle karaciğer dışındaki dokularda bulunmaktadır. CYP1A1, faz I biyoaktivasyonunun anahtar enzimidir [62] ve sigara içmekle ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) tarafından en çok akciğer ve plesentada indüklenir [63]. Baş ve boyun skuamoz epitelyumunda bulunur [64]. CYP1A1 prekarsinojenlerin aktivasyonuna katkıda bulunur ve bu bileşiklerin DNA'ya bağlanmaları sonucunda mutasyonlar meydana gelebilir. Bu özelliği kansere neden olarak gösterilmektedir [65].

1.5.1.2. Sitokrom P450 1B1 (CYP1B1)

Sitokrom P450 enzim ailesinin bir üyesi olan CYP1B1'in [66,67], insan tümörlerinde ekspresyonu yüksektir [68,69]. Murray ve arkadaşları [68], yaptıkları immunohistokimyasal bir çalışmada CYP1B1 proteinini beyin, göğüs, over, kolon gibi farklı organ tümörlerinde göstermişler, fakat normal dokuda saptayamamışlardır. CYP1B1'in fonksiyonel rolü bilinmemesine rağmen, aromatik hidroksilasyon aktivitesi olduğu bilinmektedir [66,71]. PAH aktivasyonundan sorumludur [68].

1.5.1.3. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1)

Sitokrom P450 ailesinin bir üyesi olan CYP2E1, karaciğer hastalığı gelişimiyle ve oksidatif stres ile gelişen karsinogenez ile bağlantılı birçok kimyasal ve fizyolojik durumu indüklemektedir [72]. Karaciğerdeki CYP içeriğinin yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır [73,74]. CYP2E1, lipit peroksidasyon ürünleri [75], ketonlar [76] ve linoleik asit ve araşidonik ait gibi yağ asitleri [77] gibi birçok endojen maddenin metabolizmasına katılır. CYP2E1, nitrozamin aktivasyonu için kritik öneme sahiptir

[78]. Etanol metabolizmasından sorumludur ve etanol oksidasyonunun önemli bir bileşeni olarak kabul edilir [79]. CYP2E1 enzimi baş ve boyun skuamoz epitelyumunda bulunur [64].

1.5.2. Sitokrom P450'lerin Substratları

Sitokrom P450 izozimlerinin spesifik substratları bulunmaktadır. Bunlar; CYP1A1 için 7-etoksiresorufin, benzopiren, CYP1B1 için siklofosfamid, metadondur. Parasetamol, kafein, klorzoksazon, etanol, anilin ve benzen CYP2E1'in önemli substratlarından birkaçıdır. [80].

1.5.3. Sitokrom P450'nin Detoksifikasyondaki Rolü

Birçok prokarsinojen DNA'ya bağlanmadan önce biyotransformasyon ve metabolik aktivasyona ihtiyaç duyar. Bu metabolik aktivasyon genellikle faz I enzimleri tarafından başlatılır [81]. Sitokrom P450 enzimleri, prokarsinojenleri eletrofilik ara ürünlere dönüştüren reaksiyonları katalizler [82].

Sitokrom P450 enzim ailesinden CYP1, CYP2 ve CYP3 ilaç ve ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumludur. Bunlardan bazıları ksenobiyotikleri karsinojenik ürünlere dönüştürür ve aktif ara ürün oluşmasına neden olurlar. Bu aktif ara ürünler, faz II enzimleri yardımıyla polar hale getirilip vücuttan atılırlar; ya da proteinlere veya DNA'ya bağlanarak toksik etki oluştururlar. Diğerleri ise endojen bileşiklerin metabolizmasında görev alırlar [54,59,60].

1.5.4. Sitokrom P450 ve Tiroid Kanseri

Siraj ve arkadaşlarının [83] yapmış oldukları bir çalışmada CYP1A1m1 homozigot allelinin tiroid nodüllerinde ve papiller karsinomada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha sıklıkla bulunduğu tespit edilmiştir. Bazı önemli çalışmalar da tiroid nodülleri ile CYP1A1m1 ve CYP1A1m2 polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir [83,84].

Reis ve arkadaşları [86] 122 tiroid hastası ve 134 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada CYP1A1m1 ve CYP1A1m2 genotiplerinin tiroid kanser riskini arttırdığına dair bir ilişki bulamamışlardır.

Bufalo ve arkadaşları [84], sigara ve diğer metabolitlerin aktivasyonunda görev alan CYP1A1'in guatr ve takiben tiroid kanserinde de rolü olabileceği düşünmüşlerdir, fakat CYP1A1 ile sigara alışkanlığı arasında tiroid kanseri açısından ters bir ilişki bulmuşlardır.

1.6. Glutasyon S-Transferaz

GST'lar hücrel detoksifikasyonda anahtar rol oynayan önemli bir enzim ailesidir [87]. GST enzimleri, bir tripeptit olan glutasyon (GSH) ile elektrofilik fonksiyonel gruplara sahip eksojen ve endojen kimyasalların konjugasyon reaksiyonlarını katalizyerek onların daha polar hale gelmesini sağlar [52,88]. GST enzimlerinin büyük bir kısmı hücrenin sitoplazmasında çözülmüş olarak bulunur, bir kısmı ise endoplazmik retikulumda lokalize olmuştur [51].

1.6.1. Glutasyon S-Transferazların Sınıflandırılması

İnsan sitozolik GST enzimleri substrat spesifikliklerine, immünolojik özelliklerine, izoelektrik noktalarına ve aminoasit dizilerinin benzerliklerine göre sınıflandırılmışlardır [52]. Yapılan sınıflandırmaya göre GST'ler alfa (GST α , GSTA), mü (GST μ , GSTM), pi (GST π , GSTP), teta (GST Θ , GSTT), kappa (GST κ , GSTK), zeta (GSTZ), sigma (GST σ , GSTS), omega (GST ω , GSTO) olmak üzere sekiz sınıfa ayrılmıştır [89,90].

1.6.1.1. Alfa Sınıfı Glutasyon S-Transferazlar

Alfa gen ailesi tarafından eksprese edilen dört GST izoenzimi tanımlanmıştır. GSTA1 ve GSTA2 insan dokularında bol miktarda eksprese edilir; ancak ekspresyon düzeyleri farklı doku ve bireylerde farklılık gösterir [91,92]. Karaciğer, böbrek ve adrenal dokuda bol miktarda eksprese edilir ve insan karaciğerinde total GST'lerin %80'ininden fazlasını kapsar [93].

Alfa sınıfı GST izoenzimlerinin spesifik substratları organik hidrojenperoksitlerdir ve bu bileşiğe karşı selenyumdan bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi gösterirler [94]. İnsan derisinde bulunan GSTA izozimlerinin ise UV ışınlarının yol açtığı oksidatif strese karşı korunmada etkili olabileceği düşünülmektedir [95].

1.6.1.2. Mü Sınıfı Glutatyon S-Transferazlar

GST mü sınıfı, insanlarda M1'den M5'e kadar numaralanan 5 izoenzimden oluşmaktadır [88]. Ekspresyonları dokular arasında varyasyon gösterir. En yaygın eksprese edilen GSTM1'dir ve kemik, beyin, akciğer, paratiroid, kalp, böbrek, over, uterus gibi organlarda bulunur. GSTM2 daha çok iskelet kasında, GSTM3 ise kaslara ilave olarak beyin, akciğer ve testiste bulunur. GSTM4 insan lenfoblastoid hücre soylarında, GSTM5 ise beyinde eksprese edilir [96,97].

1.6.1.3. Pi Sınıfı Glutatyon S-Transferazlar

GST'ler arasında en yaygın olan pi sınıfıdır. Akciğer, özafagus, böbrek, adrenal bez, kalp, beyin ve plesanta gibi birçok organda eksprese edilir [88,98,99]. Pi genleri arasında GSTP1 tanımlanmıştır. GSTP1 geni insanlarda polimorfiktir. GSTP1 varyantı olan bireylerde tiroid kanserine duyarlılığın arttığı bildirilmiştir [100]. Ayrıca GSTP enzimlerinin farklı kanserlerde uygulanan kemoterapi ve radyoterapiye dirençlilik gösterdiği belirtilmiştir [101].

1.6.1.4. Teta Sınıfı Glutatyon S-Transferazlar

İnsanlarda GSTT1 ve GSTT2 olmak üzere iki sınıfı bulunmuştur [102]. GSTT1 239 aminoasitten oluşan bir homodimerdir. Beyin, kolon, kalp böbrek, overler, paratiroid, prostat, tonsil, testis, uterus gibi organlarda ekspresyonu tespit edilmiştir [103]. GSTT1 geninde enzimin fonksiyonel yetersizliğine yol açan gen delesyon polimorfizmi vardır ve bu enzimatik aktivite eksikliğinin kanser riskini artırdığı bildirilmiştir [88,104,105].

1.6.2. Glutasyon S-Transferazların Substratları

GST enzimleri kemoterapatik ilaçlar (sisplatin, fosfomisin, klorambust vb), endojen moleküller (adenin propenal, dopominokren, aminokrom vb) ve çevresel karsinojenler (bütodien, akrolein, etilenoksit vb) olmak üzere ksenobiyotiklerin geniş bir spektrumunu detoksifiye ederler [99].

GSTA için organik hidroperoksitler, GSTP için etakrinik asit, GSTT için 1,2-epoksi-3-(p-nitro feroksi) propen, GSTM için 1,2-dikloro-4-nitrobenzen, GSTZ için z-bütül hidro peroksit, GSTS için ise 1-kloro-2,4-dinitrobenzen GST izozimlerinin spesifik substratlarıdır [106].

1.6.3. Glutasyon S-Transferazların Detoksifikasyondaki Rolü

GST'ler birçok ksenobiyotik, kanserojen ve sitotoksik ajanların metabolizmasından sorumlu enzimlerdir. Bu enzimler, konjugasyon reaksiyonlarında GSH'ın organik bileşiklerle reaksiyona girip tiyoester oluşmasını ya da detoksifikasyonun ilk basamağında yer alarak merkaptürik asit oluşumunu katalizler. Bu reaksiyonlar sonucu merkaptürik asit vücuttan idrarla atılır [107]. Ayrıca GST'ler hücrede lipit peroksidasyon ve serbest radikal oluşumu ile oluşan ürünlerin detoksifikasyonunda da rol alırlar [108].

1.6.4. Glutasyon S-Transferaz ve Tiroid Kanseri

Morari ve arkadaşları [109] tiroid karsinomlu hastalar ve kontrol gruplarıyla yaptıkları çalışmalarında, malign lezyonlarda GSTT1 ve GSTM1 null genotipleri prevalansının benign nodül ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun papiller ve folliküler tiroid kanseri riskinin artmasıyla ilişkili olduklarını göstermişlerdir. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada GSTM1 null genotipinin 40 yaş altı yetişkinlerde tiroid kanser riskinin artışıyla ilişki olduğu belirtilmiştir [110].

Gaspar ve arkadaşları [85], 103 tiroid karsinomlu ve 204 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada GSTM1 null, GSTT1 null ve GSTP1 Ile/Ile polimorfizmlerinin aynı anda bulunduğu durumlarda tiroid kanser riskinin 2 kat arttırdığını tespit etmişlerdir.

Çalışmaların birçoğu GST izozimlerinin polimorfizmlerinin tiroid kanser riskini arttırdığını söylese de Hernández ve arkadaşlarının [111] 134 tiroid karsinomlu hasta ve 116 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmlerinin varlığının tiroid kanser riski ile bir ilişki bulunmamıştır.

Bu çalışmada, nodüler hiperplazi, folliküler adenoma, papiller karsinoma ve folliküler karsinoma dokularında CYP ve GST izozimlerinin immünohistokimyasal ekspresyonları belirlenerek tiroid kanserinin oluşumunda enzimlerin rolü araştırılacaktır. Ayrıca bulgularımız klinik parametrelerle ilişkilerine bakılarak hastalığın gidişatı hakkında kullanılabilirliği değerlendirilecektir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Primer Antikor (GSTP1, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1)
- Sekonder Antikor (Biotinylated secondary antikor), (Santa Cruz)
- TBS buffer (Santa Cruz)
- %30' luk H₂O₂ Solusyonu (Sigma)
- Ksilol (Merck)
- Etanol (Merck)
- Metanol (Merck)
- Sodyum Sitrat (Sigma)
- Sitrik Asit (Sigma)
- Protein Blokajı (Normal Swine Serum, Normal Goat Serum) (Santa Cruz)
- ABC HRP (Avidin Biotin Complex Horse Radish Peroxidase) (Santa Cruz)
- Hematoksilen (Shandon)
- DAB (Diamino benzidin) (Santa Cruz)

2.1.1.1. Solusyonların Hazırlanışı

- I. H₂O₂ Blokajı Solusyonu Hazırlanışı: 30 ml %30' luk H₂O₂ üzerine 470 ml metanol ilave edilerek hazırlandı.
- II. Antijen Retrieval Solusyonunun Hazırlanışı (0,01 M, pH: 6.0): 2,101 gr sitrik asit (A) 100 ml distile suda; 0,1 M 14,7 gr sodyum sitrat (B) 500 ml distile suda çözüldü. 27 ml A solusyonundan, 123 ml B solusyonundan alınarak 1500 ml'ye distile su ile tamamlandı.

III. 0,005 M Tris Tamponunun Hazırlanışı: 60,55 gr tris base, 85,20 gr NaCl 500 ml distile suda çözülür. 370 ml 1 M HCl eklenerek pH: 7,6'ya getirilip 1 lt'ye tamamlanır. (1 ml TBS 100 ml distile suyla dilüe edilerek kullanılır.)

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Etüv
- -20'lik derin dondurucu ve buzdolabı
- pH-metre
- Vortex
- Düdüklü tencere
- Isıtıcı
- Hassa terazi
- Işık mikroskobu
- Fotoğraf makinesi

2.2. Kullanılan Metot

2.2.1. Materyal Kazanımı ve Hazırlanışı

Çalışmada Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul'undan onayı alınan ve adı geçen hastaneye 2009-2012 yılları arasında başvuran, nodüler hiperplazi, folliküler adenoma, papiller karsinoma ve folliküler karsinoma tanısı konmuş 10 erkek (yaş ortalaması $49,6\pm 11,95$) ve 59 kadın (yaş ortalaması $53,08\pm 14,80$) olmak üzere 69 hastadan (yaş ortalaması $52,57\pm 14,40$) alınan tiroid doku örnekleri çalışıldı. Çalışma materyalleri klinisyen tarafından tiroidektomi, boyun diseksiyonu yöntemiyle alındı ve dokulardan patoloji kliniğinde parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan her bir vaka için poly-L-lysin kaplı lamlara 6 kesit alındı. 69 hastanın tamamına GST ve CYP izozimleri uygulandı.

Hastalara ait tümör dokularının klinik evrelendirmesine TNM evreleme sistemi kullanıldı. Bu değerlendirme, tarafımızca yapıldı.

Hastalara ait yaş, cinsiyet, tanı, tümör evre, TSH, sT3, sT4ve sigara kullanım durumu ile ilgili hasta bilgileri Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan hastaların özellikleri (TSH için normal değer aralığı (0,3-3,6), sT3 için normal değer aralığı (2,2-2,4), sT4 için normal değer aralığı (0,65-1,7) idi. Normal değerden düşük olan hasta değerleri için 1, normal değerde olanlar için 2, normal değerden yüksek olanlar için 3 numaralandırılması yapıldı.)

Hasta	Yaş (Cinsiyet)	Tam	Tümör Evre	TSH (mlU/I)	Serbest T3 (pg/mL)	Serbest T4 (ng/dl)	Sigara Kullanımı (yıl)
K.Y.	57 (K)	NH		3	2	2	-
M.D.	33 (K)	NH		2	1	1	-
M.K.	40 (E)	NH		2	1	3	-
Z.S.	67 (K)	NH		2	1	2	-
G.T.	41 (K)	NH		2	1	2	-
D.İ.	43 (K)	NH		1	2	2	-
C.A.	58 (K)	NH		1	2	2	-
F.K.	68 (K)	NH		3	2	2	-
B.K.	32 (K)	NH		2	1	2	-
K.S.	51 (K)	NH		2	2	2	-
B.K.	81 (K)	NH		2	1	1	-
M.S.	63 (K)	NH		3	1	1	-
K.M.	62 (K)	NH		3	2	2	-
B.Y.	54 (K)	NH		3	1	2	30 YIL
H.K.	65 (K)	NH		1	2	2	-
M.A.	17 (K)	NH		2	1	3	-
N.K.	68 (K)	NH		3	1	2	-
E.T.	72 (E)	NH		3	1	2	-
A.T.	47 (K)	NH		2	2	2	-
G.C.	50 (K)	NH		2	2	2	-
S.A.	66 (K)	NH		3	2	2	-
N.B.	38 (K)	NH		2	2	2	-
S.A.	77 (K)	NH		2	2	2	-
F.T.	41 (K)	NH		2	1	3	-
Ü.D.	64 (K)	NH		2	2	2	-
H.Y.	48 (K)	NH		2	2	2	-
G.K.	62 (K)	NH		2	2	2	-
D.Ç.	23 (K)	NH		2	2	2	-
M.K.	56 (E)	FTA		2	1	2	30 YIL
A.Y.	23 (K)	FTA		2	1	1	-
Z.A.	47 (K)	FTA		2	1	1	-
O.K.	57 (E)	FTA		3	2	2	25 YIL
S.C.	45 (K)	FTA		2	2	2	-
D.İ.	69 (K)	FTA		2	1	2	-
H.B.	47 (K)	FTA		2	0	2	-
Y.S.	43 (K)	FTA		2	1	1	-

Çizelge 2.1. (devam)

Hasta	Yaş (Cinsiyet)	Tamı	Tümör Evre	TSH (mIU/l)	Serbest T3 (pg/mL)	Serbest T4 (ng/dl)	Sigara Kullanımı (yıl)
Ş.E.	30 (K)	FTA		2	1	2	-
E.A.	49 (K)	FTA		2	1	2	-
N.G.	49 (K)	FTA		3	2	2	-
E.T.	36 (E)	FTA		3	2	2	-
Z.Y.	50 (K)	FTA		3	1	2	-
C.Ö.	38 (E)	FTA		2	1	2	20 YIL
M.A.	68 (K)	FTA		2	1	2	-
M.G.	56 (E)	FTA		3	1	1	-
H.G.	52 (K)	FTA		2	2	2	-
F.E.	59 (E)	PTK	3	1	1	1	-
Y.Ö.	34 (K)	PTK	1	2	1	3	-
L.Ü.	52 (K)	PTK	2	3	2	1	-
G.K.	58 (K)	PTK	2	2	1	1	-
N.K.	42 (K)	PTK	2	2	1	1	-
H.A.	56 (K)	PTK	1	2	2	2	-
F.Ü.	63 (K)	PTK	3	2	1	3	-
H.S.	41 (E)	PTK	2	2	1	2	-
H.S.	80 (K)	PTK	3	2	2	2	-
F.T.	75 (K)	PTK	3	3	1	1	-
E.A.	41 (K)	PTK	1	2	2	2	-
B.H.	41 (E)	PTK	1	2	1	3	20 YIL
T.Ö.	62 (K)	PTK	1	3	2	2	30 YIL
H.Ö.	44 (K)	PTK	1	1	2	2	-
S.Ç.	58 (K)	PTK	1	3	1	2	-
M.Ö.S.	42 (K)	PTK	1	1	2	2	15 YIL
M.Ç.	56 (K)	PTK	1	3	1	1	35 YIL
A.D.	68 (K)	PTK	1	3	1	1	-
S.G.	80 (K)	FTK	1	1	2	2	-
G.K.	47 (K)	FTK	1	1	2	2	-
A.E.	57 (K)	FTK	2	3	2	2	-
N.Ö.	63 (K)	FTK	3	3	1	2	-
S.Y.	74 (K)	FTK	1	1	2	2	-
N.K.	32 (K)	FTK	2	3	1	2	-

2.2.2. İmmünohistokimya Prosedürü

I. Dokuların Deparafinizasyonu

- 1) Etüvde 70C’de 1 saat bekletildi.
- 2) Isınmış ksilolde yarım saat bekletildi.
- 3) Etüvden çıkarıldıktan sonra soğuma işlemi için oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.
- 4) %90’lık alkolde 1dakika
- 5) %70’lik alkolde 1dakika
- 6) %50’lik alkolde 1dakika
- 7) Distile suda 1-2 dakika bekletildi.

II. Basamak

- 1) H₂O₂ blokajı ile endojen peroksidaz aktivasyonunun inhibisyonu için solusyonda 10dakika bekletildi.
- 2) Çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.
- 3) Antijen Retrieval Solusyonu içinde düdüklü tencerede 3 dakika kaynatıldı.
- 4) Non spesifik boyanma inhibisyonu için “Protein Block Solution” 10 dakika uygulandı.
- 5) Primer antikor uygulandı (60 dakika)
- 6) TBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve her yıkama 5 dakika bekletildi.
- 7) Sekonder antikor uygulandı (15 dakika)
- 8) TBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 9) Streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulandı (20 dakika)
- 10) TBS ile yıkandı (3x5 dakika)
- 11) 10 dakika DAB uygulandı.
- 12) 1 dakika distile suda bekletildi.

III. Basamak: Hematoksilen Boyaması

- 1) Hematoksilende 1 dakika
- 2) Distile suda 1dakika
- 3) %50’lik alkolde 1 dakika
- 4) %70’lik alkolde 1 dakika

- 5) %90'lık alkolde 1 dakika
- 6) Absolü alkol-ksilolde 1dakika
- 7) Ksilolde 10 dakika

Poly-L-lysin kaplı lamlara alınan doku kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra immunohistokimya (IHC) yöntemi ile GSTP1 (1:500), GSTM1 (1:100), GSTT1 (1:500), CYP1A1 (1:50), CYP1B1 (1:300), CYP2E1 (1:300) antikorları bölüm 2.1.3.'de ayrıntılı olarak açıklanan prosedüre göre boyandı. IHC uygulanan preparatlar ışık mikroskopunda boyanma şiddetine bakılarak patolojla birlikte değerlendirme yapıldı ve fotoğrafları çekildi. Değerlendirme boyanma şiddeti için; boyanma olmaması durumun (-), hafif boyanma (+1), orta şiddette boyanma (+2), şiddetli boyanma (+3) olarak değerlendirme yapıldı.

2.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmada kullanılan faz I enzimlerinden CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimleriyle, faz II enzimlerinden GSTP, GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin nodüler hiperplazi, folliküler adenoma, papiller karsinoma ve folliküler karsinoma durumlarında ekspresyonları arasındaki fark ANOVA testi ile belirlendi. Farklılığın hangi değişkenler arasında olduğunu tespit etmek için Multiple Comparisons testlerinden Tukey HSD testi uygulandı. Klinik parametrelerin tanı ve protein ekspresyonları arasındaki farklılıklarını incelemek için Crosstab ve Kruskal Wallis testi uygulandı.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. CYP ve GST İzozimlerinin Nodüler Hiperplazi, Folliküler Adenoma, Papiller Karsinom ve Folliküler Karsinom Dokularındaki Dağılımı

3.1.1. CYP İzozimlerinin Dağılımları

CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin papiller karsinoma, folliküler adenoma, folliküler karsinoma ve nodüler hiperplazili tiroid dokularındaki dağılımları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çalışmada, 28 nodüler hiperplazili hastanın dokularındaki CYP1A1'in dağılımı incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 3.1.'deki gibi bulunmuştur. 28 vakadan 5 (%17,9)'inde negatif, 15 (%53,6)'inde hafif, 7 (%25)'sinde orta şiddet ve 1 (%3,5)'inde şiddetli boyanma göstermiştir (Şekil 3.1.d.).

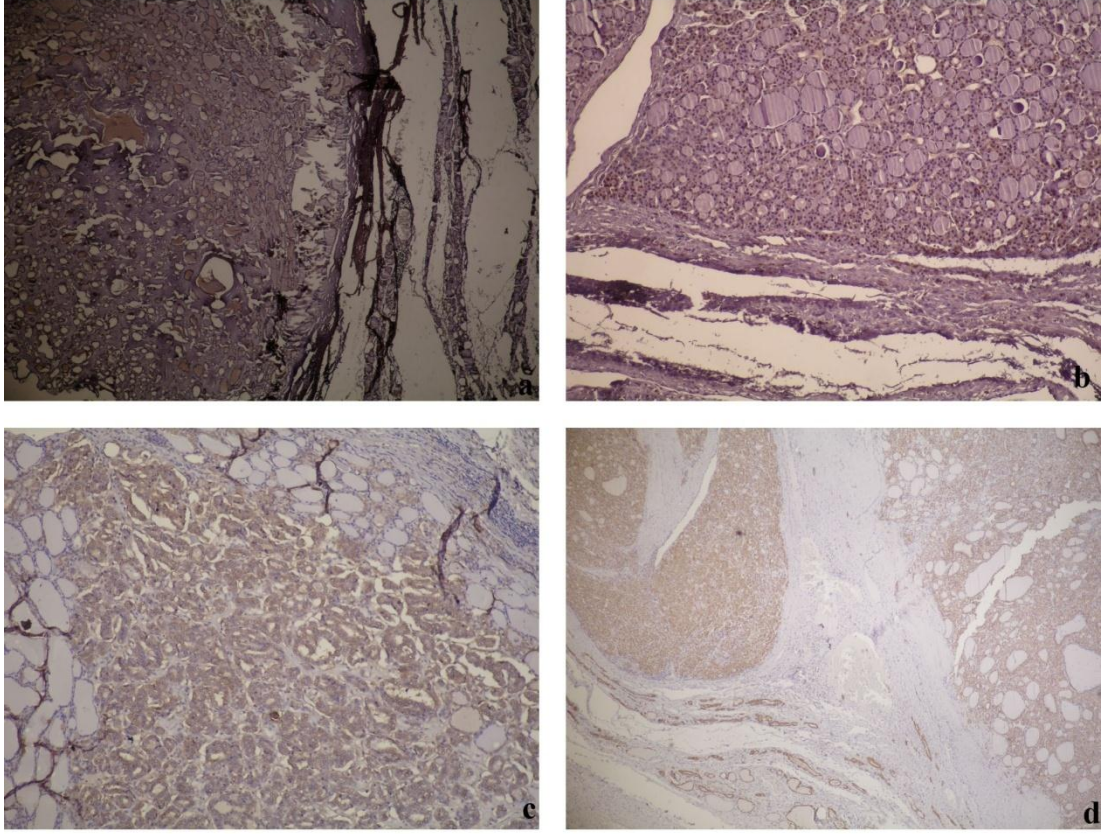
Onyeddi folliküler adenomalı hastanın dokusunda CYP1A1 izoziminin dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Hastalardan 2 (%11,8)'inde negatif boyanma, 10 (%58,8)'unda hafif boyanma, 4 (%23,5)'ünde orta şiddette boyanma (Şekil 3.1.b.), 1 (%5,9)'inde ise şiddetli boyanma görülmüştür.

Onsekiz papiller karsinomlu hastanın dokusunda CYP1A1'in dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Boyanma şiddetine göre CYP1A1, 18 hastadan 11 (%61,1)'inde şiddetli, 2 (%11,1)'sinde orta şiddette (Şekil 3.1.a.), 5 (%27,8)'inde hafif boyanma göstermiş, negatif boyanma gösteren vakaya rastlanmamıştır.

Altı folliküler karsinomlu hastanın dokusunda CYP1A1'in dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Boyanma şiddetine göre CYP1A1, 6 hastadan 5 (%83,3)'inde orta şiddette (Şekil 3.1.c.), 1 (%16,7)'inde hafif boyanma göstermiştir. Negatif ve şiddetli boyanma gösteren vakaya rastlanmamıştır.

Çizelge 3.1. CYP izozimlerinin NH, FTA, PTK ve FTK dokularındaki dağılımı

	CYP1A1						CYP1B1						CYP2E1											
	(-)	%n	(+1)	%n	(+2)	%n	(+3)	%n	(-)	%n	(+1)	%n	(+2)	%n	(+3)	%n	(-)	%n	(+1)	%n	(+2)	%n	(+3)	%n
NH (n=28)	5	%17,9	15	%53,6	7	%25	1	%3,5	18	%64,3	4	%14,3	4	%14,3	2	%7,1	19	%67,9	7	%25	2	%7,1	-	-
FTA (n=17)	2	%11,8	10	%58,8	4	%23,5	1	%5,9	8	%47,1	1	%5,9	3	%17,6	5	%29,4	8	%47,1	6	%35,3	2	%11,7	1	%5,9
PTK (n=18)	-	-	5	%27,8	2	%11,1	11	%61,1	8	%44,4	4	%22,2	5	%27,8	1	%5,6	5	%27,8	10	%55,5	3	%16,7	-	-
FTK (n=6)	-	-	1	%16,7	5	%83,3	-	-	-	-	-	-	3	%50	3	%50	1	%16,7	4	%66,6	1	%16,7	-	-



Şekil 3.1. Hasta dokularında CYP1A1 ile boyanma **a:** Nodüler hiperplazili tiroid dokusunda CYP1A1 ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **b:** Folliküler adenomalı tiroid dokusunda CYP1A1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **c:** Papiller karsinomlu tiroid dokusunda CYP1A1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x10) **d:** Folliküler karsinomlu tiroid dokusunda CYP1A1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20)

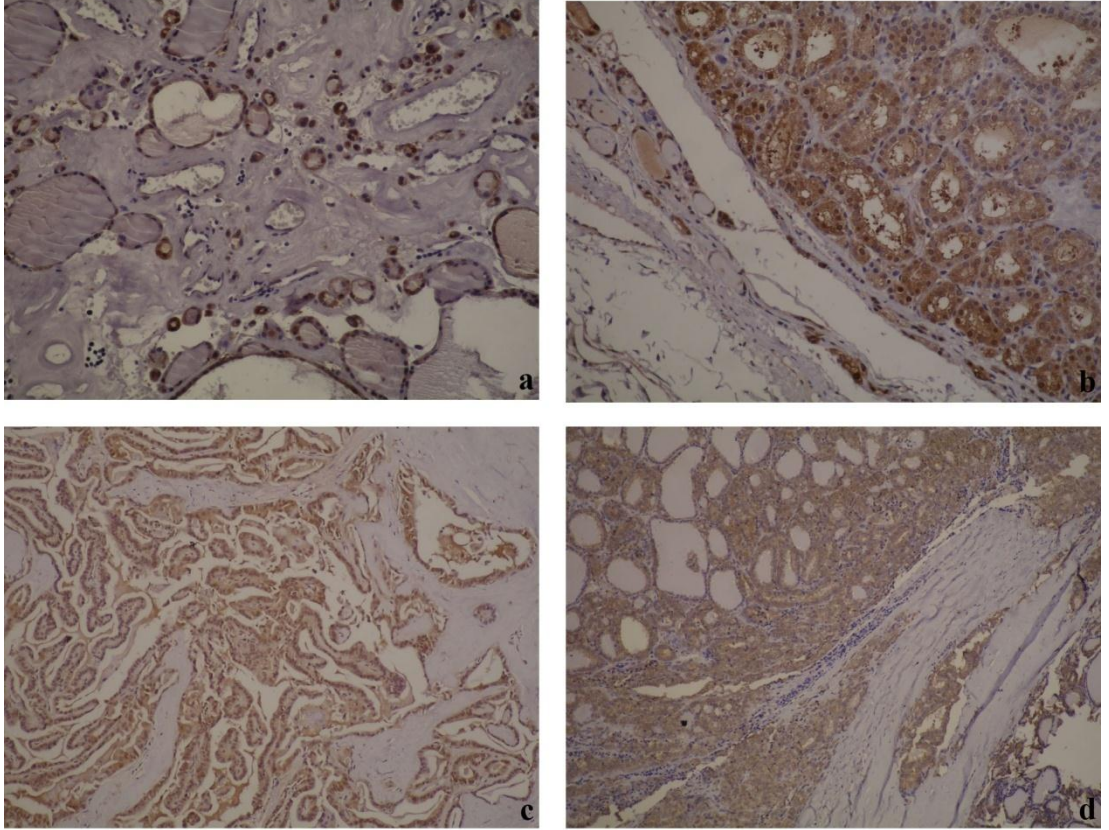
Aynı hasta grubuna ait, nodüler hiperplazi hastalarının dokularındaki CYP1B1'in dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.1.). 28 vakadan 18 (%64,3)'inde negatif boyanma, 4 (%14,3)'ünde hafif boyanma, 4 (%14,3)'ünde orta şiddette boyanma ve 2 (%7,1)'sinde şiddetli boyanma göstermiştir (Şekil 3.2.d.).

Onyeddi folliküler adenomalı hastanın dokularındaki CYP1B1 izoziminin dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Vakalardan 8 (%47,1)'inde negatif, 1 (%5,9)'inde hafif, 3 (%17,6)'ünde orta şiddette (Şekil 3.2.b.) ve 5 (%29,4)'inde şiddetli boyanma görülmüştür.

Onsekiz papiller karsinomlu hastanın dokusunda CYP1B1'in dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Boyanma şiddetine göre CYP1B1, vakaların 8 (%44,4)'inde negatif, 4

(%22,2)'ünde hafif, 5 (%27,8)'inde orta şiddette (Şekil 3.2.a.) ve 1 (%5,6)'inde şiddetli boyanma görülmüştür.

Altı folliküler karsinomlu hastanın dokularındaki CYP1B1'in dağılımına bakılmıştır (Çizelge 3.1.). Boyanma şiddeti açısından negatif ve hafif boyanmaya rastlanılmamışken 6 vakadan 3 (%50)'ünde orta şiddette (Şekil 3.2.c.) ve 3 (%50)'ünde şiddetli boyanma görülmüştür.



Şekil 3.2. Hasta dokularında CYP1B1 izozimi ile boyanma **a:** Nodüler hiperplazili tiroid dokusunda CYP1B1 ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **b:** Folliküler adenomalı tiroid dokusunda CYP1B1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **c:** Papiller karsinomlu tiroid dokusunda CYP1B1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **d:** Folliküler karsinomlu tiroid dokusunda CYP1B1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20)

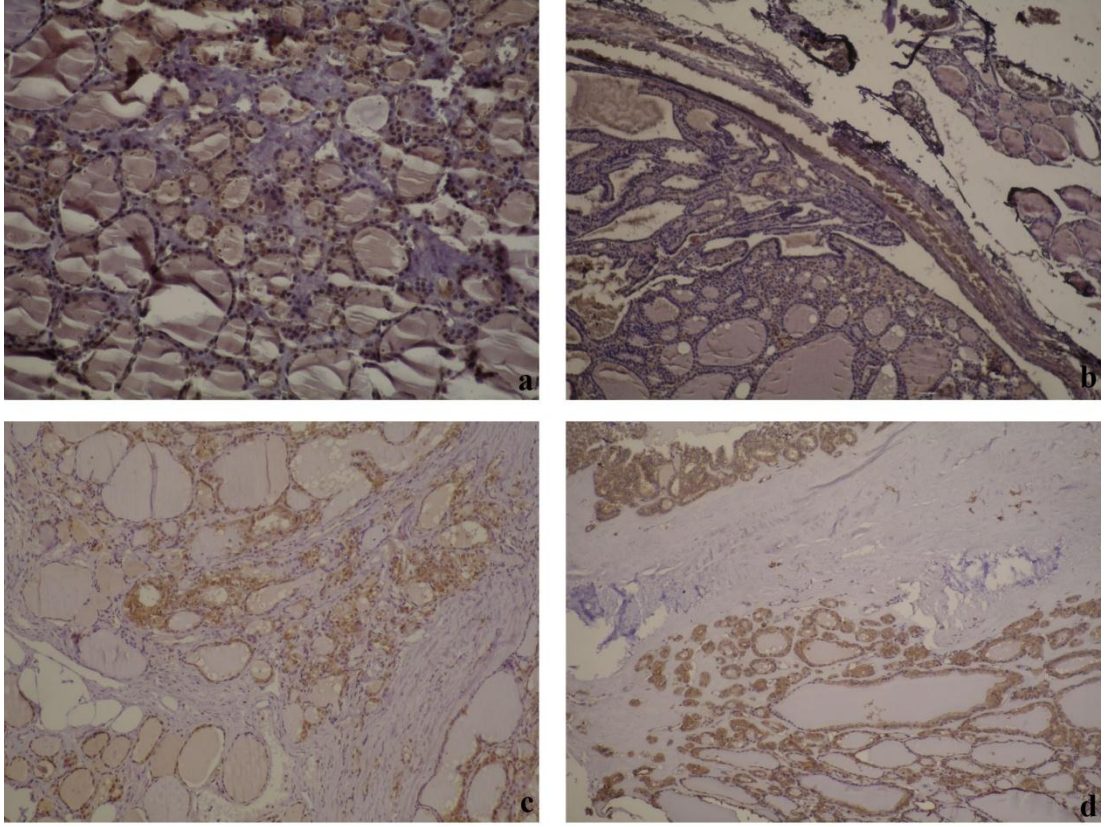
Aynı hasta grubuna ait, 28 nodüler hiperplazi hastasının dokularındaki CYP2E1'in dağılımı incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 3.1.'deki gibi bulunmuştur. Vakaların 19 (%67,9)'unda negatif, 7 (%25)'sinde hafif, 2 (%7,1)'sinde orta şiddette boyanma görülürken (Şekil 3.3.d.), şiddetli boyanma gösteren vakaya rastlanmamıştır.

Onyeddi folliküler adenomalı hastanın dokularındaki CYP2E1'in dağılımları incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Boyanma şiddetine göre folliküler adenomalı hastalardan 8 (%47,1)'inde negatif, 6 (%35,3)'sında hafif, 2 (%11,7)'sinde orta şiddette (Şekil 3.3.b.) ve 1 (%5,9)'inde şiddetli boyanma görülmüştür.

Onsekiz papiller karsinomlu hastanın dokularındaki CYP2E1 izoziminin dağılımları incelenmiştir (Çizelge 3.1.). Tümörlü dokularda şiddetli boyanmaya rastlanmamıştır. Tümörlü vakaların 5 (%27,8)'inde negatif boyanma şiddeti; 10(%55,5)'unda hafif (Şekil 3.3.a.) ve 3 (%16,7)'ünde orta şiddette boyanma göstermiştir.

Altı folliküler karsinomlu dokularındaki CYP2E1 izoziminin dağılımlarına bakılmıştır (Çizelge 3.1.). Folliküler karsinomlu hasta grubunda şiddetli boyanma görülmemiştir. Vakaların 4 (%66,6)'ünde hafif şiddette, 1 (%16,7)'inde orta şiddette boyanma (Şekil 3.3.c.), 1 (%16,7)'inde negatif boyanma göstermiştir.

CYP izozimleri hastalık gruplarında farklı ekspresyon göstermiştir. Nodüler hiperplazili dokularda CYP1A1 %53,6 hafif şiddette, CYP2E1 %67,9 ve CYP1B1 %64,3 negatif boyanma görülmüştür. Folliküler adenomalı dokularda CYP1A1 %58,8 hafif şiddette, CYP2E1 ve CYP1B1 %47,1 negatif boyanma görülmüştür. Papiller karsinomlu dokularda CYP1A1 %61,1 şiddetli, CYP2E1 %55,5 hafif şiddette, CYP1B1 %44,4 negatif boyanma görülmüştür. Folliküler karsinomlu dokularda CYP1B1 %50 şiddetli, CYP1A1 %83,3 orta şiddette, CYP2E1 %66,6 hafif şiddette boyanma görülmüştür.



Şekil 3.3. Hasta dokularında CYP2E1 izozimi ile boyanma **a:** Nodüler hiperplazili tiroid dokusunda CYP2E1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **b:** Folliküler adenomalı tiroid dokusunda CYP2E1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **c:** Papiller karsinomlu tiroid dokusunda CYP2E1 ile hafif şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **d:** Folliküler karsinomlu tiroid dokusunda CYP2E1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20)

3.1.2. GST İzozimlerinin Dağılımları

GSTP, GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin papiller karsinoma, folliküler adenoma, folliküler karsinoma ve nodüler hiperplazili dokulardaki dağılımları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Yirmisekiz nodüler hiperplazi hastasının dokularında GSTP dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Vakalardan 1 (%3,6)'i negatif, 3 (%10,7)'ü hafif şiddette, 14 (%50)'ü orta şiddette, 10 (%35,7)'ü şiddetli boyanma göstermiştir (Şekil 3.4.d.).

Çizelge 3.2. GST izozimlerinin NH, FTA, PTK ve FTK dokularındaki dağılımı

	GSTP						GSIMI						GSTTI											
	(-)	%an	(+1)	%an	(+2)	%an	(+3)	%an	(-)	%an	(+1)	%an	(+2)	%an	(+3)	%an	(-)	%an	(+1)	%an	(+2)	%an	(+3)	%an
NH (n=28)	1	%3,6	3	%10,7	14	%50	10	%35,7	4	%14,3	13	%46,4	11	%39,3	-	-	-	-	2	%7,2	5	%17,8	21	%75
FTA (n=17)	1	%5,9	2	%11,8	6	%35,3	8	%47	1	%5,9	1	%5,9	13	%76,4	2	%11,8	3	%17,6	2	%11,8	1	%5,9	11	%64,7
PTK (n=18)	-	-	-	-	3	%16,7	15	%83,3	3	%16,6	3	%16,6	9	%50	3	%16,6	3	%16,6	2	%11,1	1	%5,6	12	%66,7
FTK (n=6)	-	-	4	%66,6	1	%16,7	1	%16,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	%16,7	1	%16,7	4	%66,6

Onyeddi folliküler adenomalı hastanın dokularındaki GSTP'in dağılımları incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Folliküler adenomalı hastalardan 8 (%47)'i şiddetli, 6 (%35,3)'sı orta şiddette (Şekil 3.4.b.), 2 (%11,8)'si hafif, 1 (%5,9)'i ise negatif boyanma göstermiştir.

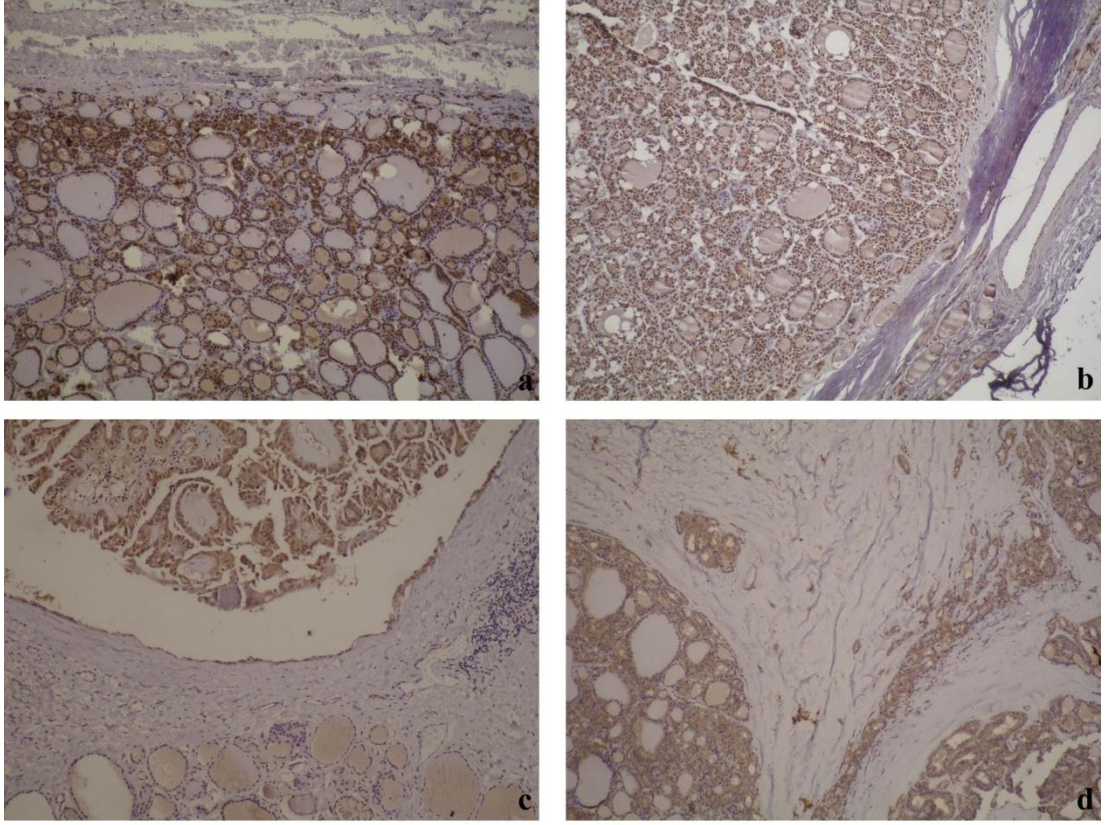
Çalışmada,18 papiller karsinomlu hastanın dokusunda GSTP izoziminin dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Boyanma şiddetine göre tümörlü dokulardan 15 (%83,3)'i şiddetli (Şekil 3.4.a.), 3 (%16,7)'ü orta şiddette boyanma göstermiş, hafif şiddette ve negatif boyanmaya rastlanmamıştır.

Altı folliküler karsinomlu hastanın dokusunda GSTP'in dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Boyanma şiddetine göre tümörlü dokulardan 4 (%66,6)'ü hafif şiddette, 1 (%16,7)'i orta şiddette (Şekil 3.4.c.) ve 1 (%16,7)'i şiddetli boyanma göstermiş, negatif boyanmaya rastlanmamıştır.

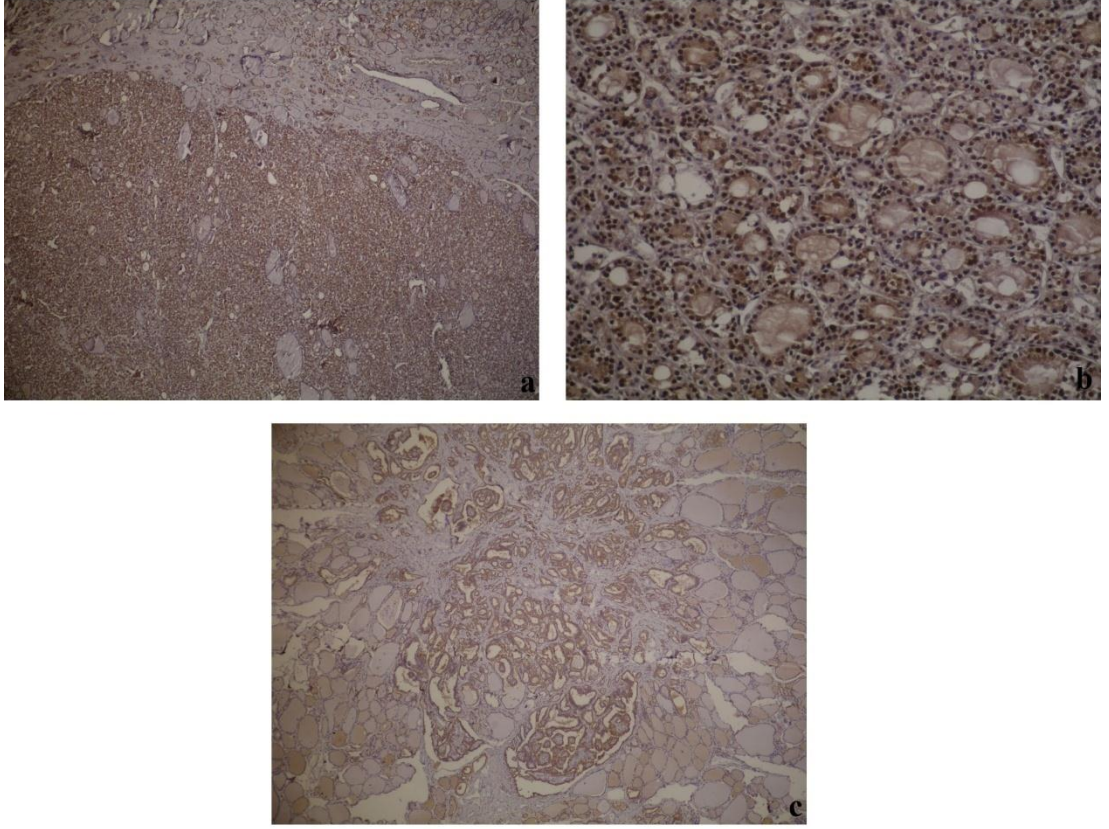
Aynı hasta grubuna ait 28 nodüler hiperplazi hastasının dokularındaki GSTM1 dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). 28 vakadan 4 (%14,3)'ü negatif, 13 (%46,4)'ü hafif şiddette, 11 (%39,3)'i orta şiddette boyanma şiddeti gösterirken (Şekil 3.5.c.), şiddetli boyanma gösteren vakaya rastlanmamıştır.

Onyeddi folliküler adenomalı hastanın dokularındaki GSTM1'in dağılımları incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Folliküler adenomalı hastalardan 2 (%11,8)'sinde şiddetli (Şekil 3.5.b.), 13 (%76,4)'ünde orta şiddette, 1 (%5,9)'inde hafif şiddette ve 1 (%5,9)'inde negatif boyanma görülmüştür.

Onsekiz papiller karsinomlu hastanın dokusunda GSTM1 izoziminin dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Tümörlü dokulardan 3 (%16,6)'ünde şiddetli boyanma, 9 (%50)'unda orta şiddette (Şekil 3.5.a.), 3 (%16,6)'ünde hafif şiddette boyanma ve 3 (%16,6)'ünde negatif boyanma görülmüştür.



Şekil 3.4. Hasta dokularında GSTP izozimi ile boyanma **a:** Nodüler hiperplazili tiroid dokusunda GSTP ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **b:** Folliküler adenomalı tiroid dokusunda GSTP ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **c:** Papiller karsinomlu tiroid dokusunda GSTP ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **d:** Folliküler karsinomlu tiroid dokusunda GSTP ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20)



Şekil 3.5. Hasta dokularında GSTM1 izozimi ile boyanma **a:** Nodüler hiperplazili tiroid dokusunda GSTM1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x10) **b:** Folliküler adenomalı tiroid dokusunda GSTM1 ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **c:** Papiller karsinomlu tiroid dokusunda GSTM1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20)

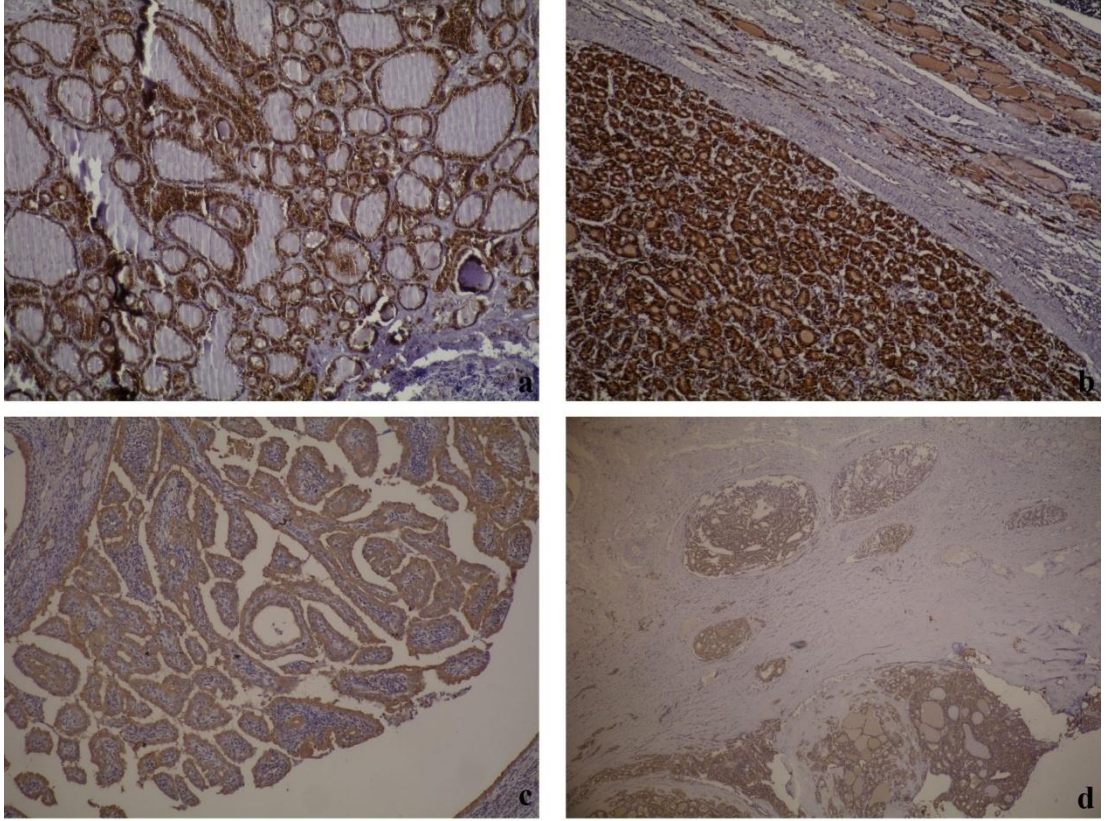
Aynı hasta grubuna ait nodüler hiperplazi hastalarının dokularındaki GSTT1 dağılımları incelenmiştir (Çizelge 3.2.). 28 vakanın hiçbirinde negatif boyanmaya rastlanmamıştır. 28 vakanın 2 (%7,2)'si hafif şiddette, 5 (%17,8)'i orta şiddette, 21 (%75)'i şiddetli boyanma göstermiştir (Şekil 3.6.d.).

Onyeddi folliküler adenomalı hastanın dokularındaki GSTT1'in dağılımları incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Folliküler adenomalı hastalardan 3 (%17,6)'ünde negatif, 2 (%11,8)'sinde hafif şiddette, 1 (%5,9)'inde orta şiddette ve 11 (%64,7)'inde şiddetli boyanma görülmüştür (Şekil 3.6.b.).

Onsekiz papiller karsinomlu hastanın dokusunda GSTT1 izoziminin dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Boyanma şiddetine göre papiller karsinomlu hastalardan

12 (%66,7)'sinde şiddetli, 1 (%5,6)'inde orta şiddette (Şekil 3.6.a.), 2 (%11,1)'sinde hafif şiddette ve 3 (%16,6)'ünde negatif boyanma görülmüştür.

Altı folliküler karsinomlu hastanın dokusunda GSTT1 izoziminin dağılımı incelenmiştir (Çizelge 3.2.). Folliküler karsinomlu hastalarda negatif boyanmaya rastlanmazken vakalardan 1 (%16,7)'inde hafif şiddette, 1 (16,7)'inde orta şiddette, 4 (%66,6)'ünde şiddetli boyanma görülmüştür (Şekil 3.6.c.).



Şekil 3.6. Hasta dokularında GSTT1 izozimi ile boyanma **a:** Nodüler hiperplazili tiroid dokusunda GSTT1 ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **b:** Folliküler adenomalı tiroid dokusunda GSTT1 ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x20) **c:** Papiller karsinomlu tiroid dokusunda GSTT1 ile orta şiddette immünohistokimyasal boyanma (x20) **d:** Folliküler karsinomlu tiroid dokusunda GSTT1 ile şiddetli immünohistokimyasal boyanma (x10)

GST izozimleri hastalık gruplarında farklı ekspresyon göstermiştir. Nodüler hiperplazili dokularda GSTT1 %75 şiddetli, GSTP %50 orta şiddette ve GSTM1 %46,4 hafif şiddette boyanma görülmüştür. Folliküler adenomlu dokularda GSTT1 %64,7 şiddetli, GSTP %47 şiddetli, GSTM1 %76,4 orta şiddette boyanma

görülmüştür. Papiller karsinomlu dokularda GSTP %83,3 şiddetli, GSTT1 %66,7 şiddetli, GSTM1 %50 orta şiddette boyanma görülmüştür. Folliküler karsinomlu dokularda GSTT1 %66,6 şiddetli, GSTP %66,6 hafif şiddette boyanma görülmüştür.

Bu çalışmada, GSTP, GSTM1, CYP1A1, CYP1B1 izozimlerinin ($p=0,01;0,016;0,000; 0,002<0,05$) hastalık grupları arasında farklı eksprese olduğu istatistiksel olarak %95'lik güvenilirlik düzeyinde anlamlı bulundu. (Çizelge3.3.).

Çizelge 3.3. GSTP, GSTT1, GSTM1, CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin hastalık grupları arasındaki ekspresyon farklılıklarının karşılaştırılması

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GSTP	Between Groups	9,443	3	3,148	5,818	,001*
	Within Groups	35,166	65	,541		
	Total	44,609	68			
GSTM1	Between Groups	5,364	2	2,682	4,447	,016*
	Within Groups	36,191	60	,603		
	Total	41,556	62			
GSTT1	Between Groups	3,623	3	1,208	1,242	,302
	Within Groups	63,189	65	,972		
	Total	66,812	68			
CYP1A1	Between Groups	17,839	3	5,946	9,830	,000*
	Within Groups	39,321	65	,605		
	Total	57,159	68			
CYP1B1	Between Groups	18,467	3	6,156	5,378	,002*
	Within Groups	74,402	65	1,145		
	Total	92,870	68			
CYP2E1	Between Groups	3,818	3	1,273	2,468	,070
	Within Groups	33,515	65	,516		
	Total	37,333	68			

Not: CYP ve GST izozimlerinin hastalık grupları arasındaki ekspresyon farklılıkları. * %95'lik güvenilirlik düzeyinde $p<0,05$ için sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

İzozimlerin ekspresyonlarının hastalık grupları arasındaki farklılıklarının hangi yönde olduğunu belirlemek için Tukey HSD testi uygulandı. Buna göre;

CYP1A1 izozimi papiller karsinomlu hastalarda, nodüler hiperplazili ve folliküler adenomalı hastalara göre fazla eksprese edildiği ($p=0,000;0,001<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge3.4.).

Foliküler karsinomlu hastalarda CYP1B1 izozimi, papiller karsinomlu ve nodüler hiperplazili hastalara göre fazla eksprese edildiği ($p=0,015;0,001<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge3.4.).

Papiller karsinomlu hastalarda GSTP izozimi, noduler hiperplazili ve foliküler karsinomlu hastalar göre daha fazla eksprese edildiği ($p=0,023;0,002<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge3.4.).

GSTM1 izozimi, folliküler adenomlu hastalarda nodüler hiperplazili hastalara göre daha fazla eksprese edildiği ($p=0,014<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.4.).

GSTT1 ve CYP2E1 izozimlerinin hastalık grupları arasındaki ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$).

3.2. CYP ve GST İzozimlerinin Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

Nodüler hiperplazi, folliküler adenoma, papiller karsinoma ve folliküler karsinomlu hastaların TSH, sT3, sT4, sigara kullanımı, cinsiyet ve yaşları bilinmektedir. Folliküler karsinoma vakalarında 3 adet evre 1, 2 adet evre 2, 1 adet evre 3; papiller karsinoma vakalarında ise 10 adet evre 1, 4 adet evre 3 özelliği göstermiştir. Hastalardan 8'inin 15 yıldan fazla süreyle sigara içtiği, 61'inin ise hiç kullanmadığı bilinmektedir. (Çizelge 3.3).

Yapılan çalışmada, CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonları yaşa (Çizelge 3.5.) ve cinsiyete (Çizelge 3.6) bağlı olarak bir farklılık göstermedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.4. GSTP, GSTM1, GSTT1, CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2E1 izozimlerinin papiller karsinomlu, folliküler adenomlu, nodüler hiperplazili ve folliküler karsinomlu dokularındaki ekspresyonlarının karşılaştırılması

Dependent Variable	(I) Tani	(J) Tani	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
GSTP	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	,598	,249	,086	-,06	1,25
		Nodüler Hiperplazi	,655*	,222	,023	,07	1,24
		Folliküler Karsinom	1,333*	,347	,002	,42	2,25
	Folliküler Adenom	Papiller Karsinom	-,598	,249	,086	-1,25	,06
GSTM1	Folliküler Adenom	Papiller Karsinom	,057	,226	,994	-,54	,65
		Nodüler Hiperplazi	,735	,349	,162	-,19	1,66
		Folliküler Karsinom	-,655*	,222	,023	-1,24	-,07
	Nodüler Hiperplazi	Papiller Karsinom	-,057	,226	,994	-,65	,54
GSTT1	Folliküler Karsinom	Folliküler Adenom	,679	,331	,180	-,19	1,55
		Nodüler Hiperplazi	-1,333*	,347	,002	-2,25	-,42
		Papiller Karsinom	-,735	,349	,162	-1,66	,19
	CYP1A1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	-,679	,331	,180	-1,55
CYP1B1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	-,275	,263	,552	-,91	,36
		Nodüler Hiperplazi	,417	,235	,186	-,15	,98
		Folliküler Karsinom	,275	,263	,552	-,36	,91
CYP2E1	Folliküler Adenom	Papiller Karsinom	,691*	,239	,014	,12	1,27
		Nodüler Hiperplazi	-,417	,235	,186	-,98	,15
		Folliküler Karsinom	-,691*	,239	,014	-1,27	-,12
CYP1A1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	,046	,333	,999	-,83	,92
		Nodüler Hiperplazi	-,456	,298	,425	-1,24	,33
		Folliküler Karsinom	-,278	,465	,932	-1,50	,95
	Folliküler Adenom	Papiller Karsinom	-,046	,333	,999	-,97	,83
CYP1B1	Folliküler Adenom	Nodüler Hiperplazi	-,502	,303	,355	-1,30	,30
		Folliküler Karsinom	-,324	,468	,900	-1,56	,91
		Papiller Karsinom	,456	,298	,425	-,33	1,24
	Nodüler Hiperplazi	Papiller Karsinom	,502	,303	,355	-,30	1,30
CYP1A1	Folliküler Adenom	Folliküler Karsinom	,179	,444	,978	-,99	1,35
		Papiller Karsinom	,278	,465	,932	-,95	1,50
		Folliküler Karsinom	,324	,468	,900	-,91	1,56
	CYP1A1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	-,179	,444	,978	-1,35
CYP1A1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	1,098*	,263	,001	,40	1,79
		Nodüler Hiperplazi	1,190*	,235	,000	,57	1,81
		Folliküler Karsinom	,500	,367	,526	-,47	1,47
	Folliküler Adenom	Papiller Karsinom	-1,098*	,263	,001	-1,79	-,40
CYP1A1	Folliküler Adenom	Nodüler Hiperplazi	,092	,239	,980	-,54	,72
		Folliküler Karsinom	-,598	,369	,375	-1,157	,38
		Papiller Karsinom	-1,190*	,235	,000	-1,81	-,57
	Nodüler Hiperplazi	Papiller Karsinom	-,092	,239	,980	-,72	,54
CYP1A1	Folliküler Adenom	Folliküler Karsinom	-,690	,350	,209	-1,61	,23
		Papiller Karsinom	-,500	,367	,526	-1,47	,47
		Folliküler Adenom	,598	,369	,375	-,38	1,57
	CYP1B1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	,690	,350	,209	-,23
CYP1B1	Papiller Karsinom	Folliküler Adenom	-,350	,362	,769	-1,30	,60
		Nodüler Hiperplazi	,302	,323	,787	-,55	1,15
		Folliküler Karsinom	-1,556*	,504	,015	-2,89	-,23

Çizelge 3.4. (devam)

	Foliküler Adenom	Papiller Karsinom Nodüler Hiperplazi Foliküler Karsinom	-350 .651 -1,206	,362 ,329 ,508	,769 ,206 ,092	-,60 -,22 -2,55	1,30 1,52 ,13
	Nodüler Hiperplazi	Papiller Karsinom Foliküler Adenom Foliküler Karsinom	-,302 -,651 -1,857*	,323 ,329 ,481	,787 ,206 ,001	-1,15 -1,52 -3,13	,55 ,22 -,59
	Foliküler Karsinom	Papiller Karsinom Foliküler Adenom Nodüler Hiperplazi	1,556* 1,206 1,857*	,504 ,508 ,481	,015 ,092 ,001	,23 -,13 ,59	2,89 2,55 3,13
CYP2E1	Papiller Karsinom	Foliküler Adenom Nodüler Hiperplazi Foliküler Karsinom	,124 ,496 -,111	,243 ,217 ,338	,956 ,092 ,001	-,52 -,08 -1,00	,76 1,07 ,78
	Foliküler Adenom	Papiller Karsinom Nodüler Hiperplazi Foliküler Karsinom	-,124 ,372 -,235	,243 ,221 ,341	,956 ,340 ,901	-,76 -,21 -1,13	,52 ,95 ,66
	Nodüler Hiperplazi	Papiller Karsinom Foliküler Adenom Foliküler Karsinom	-,496 -,372 -,607	,217 ,221 ,323	,112 ,340 ,247	-1,07 -,95 -1,46	,08 ,21 ,24
	Foliküler Karsinom	Papiller Karsinom Foliküler Adenom Nodüler Hiperplazi	,111 ,235 ,607	,338 ,341 ,323	,988 ,901 ,247	-,78 -,66 -,74	1,00 1,13 1,46

Not: CYP ve GST izozimlerinin hastalıklar arasındaki ekspresyon farklılıklarının yönü.* %95'lik güvenilirlik düzeyinde $p < 0,05$ için sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

Çizelge 3.5. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının yaşa göre karşılaştırılması

Ranks

	yas1	N	Mean Rank
GSTP	0-20 yas arasi	1	23,50
	21-40 yas arasi	11	32,55
	41-60 yas arasi	35	35,90
	61 ve üstü	22	35,32
	Total	69	
GSTM1	0-20 yas arasi	1	42,00
	21-40 yas arasi	10	33,90
	41-60 yas arasi	33	30,85
	61 ve üstü	19	32,47
	Total	63	
GSTT1	0-20 yas arasi	1	45,50
	21-40 yas arasi	11	42,95
	41-60 yas arasi	35	32,03
	61 ve üstü	22	35,27
	Total	69	
CYP1A1	0-20 yas arasi	1	47,50
	21-40 yas arasi	11	35,23
	41-60 yas arasi	35	35,23
	61 ve üstü	22	33,95
	Total	69	
CYP1B1	0-20 yas arasi	1	51,00
	21-40 yas arasi	11	44,50
	41-60 yas arasi	35	31,60
	61 ve üstü	22	34,93
	Total	69	
CYP2E1	0-20 yas arasi	1	17,00
	21-40 yas arasi	11	38,09
	41-60 yas arasi	35	37,50
	61 ve üstü	22	30,30
	Total	69	

Test Statistics^{a,b}

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	,681	,657	4,203	,513	4,755	3,400
df	3	3	3	3	3	3
Asymp.Sig.	,878	,883	,240	,916	,191	,334

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: yas1

Çizelge 3.6. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının cinsiyete göre karşılaştırılması

Ranks

	Cinsiyet	N	Mean Rank
GSTP	Kadin	59	34,28
	Erkek	10	39,25
	Total	69	
GSTM1	Kadin	53	30,34
	Erkek	10	40,80
	Total	63	
GSTT1	Kadin	59	35,72
	Erkek	10	30,75
	Total	69	
CYP1A1	Kadin	59	35,43
	Erkek	10	32,45
	Total	69	
CYP1B1	Kadin	59	34,54
	Erkek	10	37,70
	Total	69	
CYP2E1	Kadin	59	35,42
	Erkek	10	32,50
	Total	69	

Test Statistics^{a,b}

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	,628	3,284	,795	,214	,245	,219
df	1	1	1	1	1	1
Asymp.Sig.	,428	,070	,373	,644	,621	,640

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Cinsiyet

Yapılan çalışmada, CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonları TSH(Çizelge 3.7.) ve sT4 seviyelerine (Çizelge 3.8.) bağlı bir farklılık göstermedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.7. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının TSH seviyesine göre karşılaştırılması

Ranks			
	TSHmlUi	N	Mean Rank
GSTP	Az	9	29,06
	Normal	38	35,68
	Cok	22	36,25
	Total	69	
GSTM1	Az	6	34,75
	Normal	38	31,16
	Cok	19	32,82
	Total	63	
GSTT1	Az	9	35,33
	Normal	38	35,30
	Cok	22	34,34
	Total	69	
CYP1A1	Az	9	37,56
	Normal	38	33,36
	Cok	22	36,80
	Total	69	
CYP1B1	Az	9	33,83
	Normal	38	34,75
	Cok	22	35,91
	Total	69	
CYP2E1	Az	9	37,56
	Normal	38	37,25
	Cok	22	30,07
	Total	69	

Test Statistics ^{a,b}

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	1,100	,303	,053	,653	,094	2,356
df	2	2	2	2	2	2
Asymp.Sig.	,577	,859	,974	,721	,954	,308

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: TSHmlUi

Çizelge 3.8. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının sT4 seviyesine göre karşılaştırılması

		Ranks	
	SerbestT4ngdln	N	Mean Rank
GSTP	Az	14	36,64
	Normal	49	35,09
	Cok	6	30,42
	Total	69	
GSTM1	Az	14	35,36
	Normal	43	31,55
	Cok	6	27,42
	Total	63	
GSTT1	Az	14	32,43
	Normal	49	35,02
	Cok	6	40,83
	Total	69	
CYP1A1	Az	14	36,57
	Normal	49	32,89
	Cok	6	48,58
	Total	69	
CYP1B1	Az	14	45,57
	Normal	49	32,56
	Cok	6	30,25
	Total	69	
CYP2E1	Az	14	41,82
	Normal	49	33,06
	Cok	6	34,92
	Total	69	

Test Statistics a,b

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	,488	1,044	1,117	3,823	5,726	2,504
df	2	2	2	2	2	2
Asymp.Sig.	,783	,593	,572	,148	,057	,286

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: SerbestT4ngdln

Yapılan çalışmada, CYP1B1 izozimi sT3'e bağlı ekspresyon farklılığı gösterirken ($p < 0,05$), CYP1A1, CYP2E1, GSTP, GSTM1, GSTT1 izozimlerinin ekspresyonları sT3 seviyesine bağlı bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$) (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının sT3 seviyesine göre karşılaştırılması

Ranks			
	SerbestT3pgMl	N	Mean Rank
GSTP	Az	36	35,49
	Normal	32	33,39
	Total	68	
GSTM1	Az	34	34,65
	Normal	28	27,68
	Total	62	
GSTT1	Az	36	32,29
	Normal	32	36,98
	Total	68	
CYP1A1	Az	36	36,92
	Normal	32	31,78
	Total	68	
CYP1B1	Az	36	40,14
	Normal	32	28,16
	Total	68	
CYP2E1	Az	36	35,88
	Normal	32	32,95
	Total	68	

Test Statistics a,b

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	,227	2,729	1,431	1,300	7,162	,447
df	1	1	1	1	1	1
Asymp.Sig.	,634	,099	,232	,254	,007*	,504

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: SerbestT3pgMl

Yapılan çalışmada, CYP1A1 izozimi sigara içimine bağlı ekspresyon farklılığı gösterirken ($p < 0,05$), CYP1B1, CYP2E1, GSTP, GSTM1, GSTT1 izozimlerinin ekspresyonları sigara içimine bağlı bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$) (Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.10. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının sigara içimine bağlı karşılaştırılması

		Ranks	
	sigarakodlu	N	Mean Rank
GSTP	Kullanmıyor	61	35,24
	Kullanıyor	8	33,19
	Total	69	
GSTM1	Kullanmıyor	55	30,88
	Kullanıyor	8	39,69
	Total	63	
GSTT1	Kullanmıyor	61	36,16
	Kullanıyor	8	26,13
	Total	69	
CYP1A1	Kullanmıyor	61	36,80
	Kullanıyor	8	21,31
	Total	69	
CYP1B1	Kullanmıyor	61	35,63
	Kullanıyor	8	30,19
	Total	69	
CYP2E1	Kullanmıyor	61	35,11
	Kullanıyor	8	34,19
	Total	69	

Test Statistics ^{a,b}

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	,088	1,932	2,682	4,765	,603	,018
df	1	1	1	1	1	1
Asymp.Sig.	,766	,165	,101	,029*	,438	,894

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sigarakodlu

Yapılan çalışmada, CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonları tümör evreye bağlı bir farklılık göstermedi ($p>0,05$) (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.11. CYP ve GST izozimlerinin dokulardaki ekspresyonlarının tümör evreye bağlı karşılaştırılması

Ranks			
	Tumorevresi	N	Mean Rank
GSTP	Birinci Evre	13	10,96
	İkinci Evre	6	14,83
	Ucuncu Evre	5	13,70
	Total	24	
GSTM1	Birinci Evre	10	8,60
	İkinci Evre	4	8,75
	Ucuncu Evre	4	12,50
	Total	18	
GSTT1	Birinci Evre	13	12,00
	İkinci Evre	6	12,17
	Ucuncu Evre	5	14,20
	Total	24	
CYP1A1	Birinci Evre	13	12,15
	İkinci Evre	6	9,33
	Ucuncu Evre	5	17,20
	Total	24	
CYP1B1	Birinci Evre	13	10,50
	İkinci Evre	6	14,50
	Ucuncu Evre	5	15,30
	Total	24	
CYP2E1	Birinci Evre	13	12,58
	İkinci Evre	6	11,83
	Ucuncu Evre	5	13,10
	Total	24	

Test Statistics a,b

	GSTP	GSTM1	GSTT1	CYP1A1	CYP1B1	CYP2E1
Chi-Square	2,031	1,883	,524	3,982	2,509	,116
df	2	2	2	2	2	2
Asymp.Sig.	,362	,390	,769	,137	,285	,944

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Tumorevresi

Yapılan bu çalışmada, TSH (Çizelge 3.12.), sT3 (Çizelge 3.13.) ve sT4 seviyeleri(Çizelge 3.15.), hastalıkların tanısı arasında bir farklılık göstermedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.12. Hastalıklar arasındaki TSH dağılımı

Crosstab

Count		TSHmIUl			Total
		Az	Normal	Cok	
Tani	Papiller Karsinoma	3	9	6	18
	Foliküler Adenom	0	12	5	17
	Nodüler Hiperplazi	3	17	8	28
	Foliküler Karsinom	3	0	3	6
Total		9	38	22	69

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig. ^c
Interval by Interval Pearson's R	-,051	,144	-,415	,680 ^c
Ordinal by Ordinal Spearman Correlation	-,040	,139	-,325	,746 ^c
N of Valid Cases	69			

- a. Not assuming the null hypothesis.
- b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.
- c. Based on normal approximation.

Çizelge 3.13. Hastalıklar arasındaki sT3 dağılımı

Crosstab

Count		SerbestT3pgMl			Total
		0	Az	Normal	
Tani	Papiller Karsinoma	0	11	7	18
	Foliküler Adenom	1	11	5	17
	Nodüler Hiperplazi	0	12	16	28
	Foliküler Karsinom	0	2	4	6
Total		1	36	32	69

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig. ^c
Interval by Interval Pearson's R	,205	,112	1,717	,091 ^c
Ordinal by Ordinal Spearman Correlation	,216	,115	1,813	,074 ^c
N of Valid Cases	69			

- a. Not assuming the null hypothesis.
- b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.
- c. Based on normal approximation.

Çizelge 3.14. Hastalıklar arasındaki sT4 dağılımı

Crosstab

Count		SerbestT4ngdİnd			Total
		Az	Normal	Cok	
Tani	Papiller Karsinoma	7	8	3	18
	Foliküler Adenom	4	13	0	17
	Nodüler Hiperplazi	3	22	3	28
	Foliküler Karsinom	0	6	0	6
Total		14	49	6	69

Symmetric Measures

	Value	Asy mp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval Pearson's R	,189	,125	1,575	,120 ^c
Ordinal by Ordinal Spearman Correlation	,211	,126	1,764	,082 ^c
N of Valid Cases	69			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Tiroid kanseri, tüm endokrin kanserlerinin %90'dan fazlasını oluştururlar [5]. Son yıllarda ülkemizde tiroid kanserlerinin görülme sıklığında bir artış olmuştur [7]. İnsidansın artmasına karşın mortalite azalmıştır, bunun nedeni ise erken tanı ve gelişmiş tedavi yöntemleri olarak görülmektedir [16]. Tiroid kanseri görülme sıklığı yaşa ve cinsiyete göre değişmektedir. Kadınlarda erkeklere göre 2-4 kat daha fazla görülmektedir [17,18]. Tiroid kanseri en sık 30-70 yaş arasında görülmektedir [18]. Nodüler hiperplazi, tiroid bezinin büyümesidir [38] ve en sık rastlanan endokrin patolojidir [39]. Folliküler adenoma, en sık görülen tiroid neoplazisidir [42]. Papiller karsinom, tüm tiroid kanserlerinin %85'ini [45,46], folliküler karsinom ise %10-15'ini oluşturmaktadır [49].

Çoğu prokarsinojen DNA'ya bağlanabilmek için biyotransformasyon ve metabolik aktiviteye ihtiyaç duyar. Bu metabolik aktivasyonu da faz I enzimleri sağlar [94]. Faz I enzimlerine ait olan CYP enzim ailesi, prokarsinojenleri genotoksik elektrofilik ara ürünlere dönüşmeleri için aktivasyonlarını sağlarlar [95]. CYP1A1, PAH metabolizmasında ilk basamakta yer almaktadır. Ayrıca, östrojen metabolizmasında görev alarak östradiol oluşumunu katalizlemektedir [76].

Biyotransformasyonun ikinci basamağında yer alan faz II enzimlerinin bir üyesi olan GST ise, faz I reaksiyonlarıyla oluşan genotoksik elektrofilik ara ürünleri inaktive eden reaksiyonları katalizler [95]. GST enzimleri, elektrofilik bileşikler ve reaktif oksijen türlerinin glutatyon ile konjugasyon reaksiyonlarını katalizleyerek bunların hidrofilik metabolitlere dönüşümünü sağlar [95,99,100]. Bu enzimlerin yoksunluğu yüksek kanser riski ile ilişkili bulunmuştur [97,98]. GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 hidrokarbon diolepoksitleri, steroidleri ve genotoksik lipoperoksidasyon ürünleri gibi potansiyel karsinojenik bileşiklerin detoksifikasyonundan sorumludur [102]. GSTM1, PAH ve diğer mutajenlerin detoksifikasyonunda görev almaktadır ve GSTM1-null hücrelerin DNA'ları bu ajanların verdikleri hasara karşı daha hassastırlar [101]. GSTT1 yabancı-tip enzimi etilen oksit gibi daha küçük reaktif hidrokarbon ara ürünleri detoksifiye eder [103].

Bufalo ve arkadaşları [84] sigara içimi, klinik bilgiler ile GST ve CYP genotipleri arasında bir ilişki bulamamıştır. Iribarren ve arkadaşlarının [112] ve Navarro ve

arkadaşlarının [113] yaptığı benzer çalışmalarda da sigara içimi ile tiroid kanseri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Mack ve arkadaşları [22], 2725 tiroid kanser vakası ve 4776 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada sigara içiminin, TSH seviyesini düşürerek [114,115] ve antiöstrojen etki göstererek [116,117] tiroid kanser riskini azalttığını öne sürmüştür. Kreiger ve arkadaşları [23] tarafından yapılan başka bir çalışmada tiroid kanser riski ile sigara içimi arasında negatif korelasyon bulunmuşlardır.

Reis ve arkadaşları [86], 122 nodüler hiperplazi hastası ve 134 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada, CYP1A1m1 ve CYP1A1m2 genotiplerinin nodüler hiperplazi hastalığıyla ilişkisini bulamamışlardır. Aynı çalışmada GSTM1 ve GSTT1 null genotiplerinin nodüler hiperplazi hastalarında baskın olarak bulunduğunu, bundan dolayı bu hastaların tiroid hastalıklarına yatkın olabileceğini belirtmişlerdir. Siraj ve arkadaşları [83], CYP1A1m1 homozigot allelinin nodüler hiperplazi ve papiller karsinomda kontrol grubuna kıyasla daha sık görüldüğünü saptamışlardır. Epitel hücre kökenli meme kanserinde Basil ve arkadaşlarının [118] yaptıkları çalışmada, CYP1A1 ve CYP2E1 ekspresyonları tümör dokusunda normal dokuya göre daha düşük eksprese olduğu bulunmuştur. Huang ve arkadaşları [119] CYP izozimleriyle yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada, CYP1A1 ve CYP1B1 izozimlerinin ekspresyonlarını tümör dokusunda ve normal dokuda anlamlı bir farklılık yaratmadığını saptamışlardır. Oğuztüzün ve arkadaşları [120] GSTA, GSTM1 ve GSTP enzimlerin normal meme epitelde invazif tümör dokularına göre daha şiddetli boyanma gösterdiğini bulmuştur ($p < 0,05$). Ancak, istatistiksel olarak normal ve meme tümör epitel hücrelerinde GSTT1 ekspresyonlarında bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Morari ve arkadaşları [109], tiroid karsinomlu hastalar ve kontrol gruplarıyla yaptıkları çalışmalarında GSTT1 ve GSTM1 null genotipleri prevalansını araştırmışlardır. GSTT1 ve GSTM1 null genotiplerinin papiller ve folliküler tiroid karsinomlarında, nodüler hiperplazi ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Buradan yola çıkarak, bu genotiplerin papiller ve folliküler tiroid kanseri riskinin artmasıyla ilişkili olduklarını öne sürmüşlerdir. Canbay ve arkadaşlarının [110] yaptığı bir çalışmada GSTM1 null genotipinin 40 yaş altı yetişkinlerde tiroid kanser riskinin artışıyla ilişkisi olduğu belirtilmiştir. Gaspar ve

arkadaşları [85], 103 tiroid karsinomlu ve 204 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada GSTM1 null, GSTT1 null ve GSTP1 Ile/Ile polimorfizmlerinin aynı anda bulunduğu durumlarda tiroid kanser riskinin 2 kat arttırdığını tespit etmişlerdir. Çalışmaların birçoğu GST izozimlerinin polimorfizmlerinin tiroid kanser riskini arttırdığını gösterse de Hernández ve arkadaşlarının [111] 134 tiroid karsinomlu hasta ve 116 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 polimorfizmlerinin varlığının tiroid kanser riski ile bir ilişki bulunmamıştır.

Bu çalışmada CYP ve GST izozimleri immunohistokimyasal metotla çalışılmıştır. Bu metotla dokuda kanserin olduğu epitel hücrelerinde izozimlerin ekspresyonları farklı iki kişi tarafından değerlendirilmiş ve protein miktarları semikantitatif olarak tespit edilmiştir. Literatürdeki diğer çalışmalarda kanser hastalarının perifer kanından PCR ile polimorfizm çalışmaları yapılmıştır. Çalışmamızda bizzat hastalığın geliştiği kanser dokusunda çalışılmıştır.

Yapılan bu çalışmada nodüler hiperplazi, folliküler adenoma, papiller karsinom ve folliküler karsinom hastalarının dokularındaki CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonları karşılaştırıldı. Buna göre CYP1A1, CYP1B1 GSTP ve GSTM1 izozimlerinin hastalık grupları arasında farklılık yarattığı ($p < 0,05$) fakat CYP2E1 ve GSTT1 izozimlerinin farklılık yaratmadığı ($p > 0,05$) görüldü.

Papiller karsinomlu dokularda CYP1A1 izoziminin nodüler hiperplazili ve folliküler adenomalı dokulara göre daha fazla eksprese edildiği ($p < 0,05$) görüldü. CYP1B1 izozimini ise folliküler karsinomlu dokularda nodüler hiperplazili ve papiller karsinomlu dokulara göre daha fazla eksprese olduğu ($p < 0,05$) tespit edildi. Papiller karsinomlu hastalarda GSTP izoziminin nodüler hiperplazili ve folliküler karsinomlu hastalara göre fazla eksprese olduğu ($p < 0,05$) görüldü. CYP2E1 ve GSTT1 izozimlerinin hastalık grupları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p > 0,05$) görüldü.

Bu çalışmada, CYP ve GST izozimlerinin ekspresyonları hastalık durumlarında yaşa, cinsiyete, tümör evre, sigara içimi, TSH, sT3 ve sT4 seviyelerinde farklılık göstermedi ($p > 0,05$). Fakat CYP1B1 izoziminin ekspresyonu sT3 seviyesinde ve CYP1A1 izoziminin ekspresyonu sigara içimine göre farklılık gösterdi ($p < 0,05$). Ayrıca hastalıkların tanısıyla TSH, sT3 ve sT4 seviyelerinde farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$).

Sonuç olarak yapılan bu tez çalışmasında, bilindiği kadarıyla literatürde tiroid kanserlerinde CYP1A1, CYP1B1, CYP2E1, GSTP, GSTM1 ve GSTT1 izozimlerinin immunohistokimyasal ekspresyonları ilk kez çalışılmıştır. Bulgularımız, CYP1B1 ve GSTP izozimlerinin papiller ve folliküler kanserini istatistiksel olarak hem birbirinden ayırt edebilmiş, hem de CYP1A1 papiller karsinomu folliküler adenom ve nodüler hiperplaziden istatistiksel olarak ayırt edebilmiştir. Bu bulgulara göre GSTP, CYP1A1 ve CYP1B1 tiroid kanserinde diagnostik açıdan önemlidir.

İleriki çalışmalarda vaka sayısı artırılarak CYP1A1, CYP1B1, GSTP izozimlerinin tiroid kanserinde tümör belirleyici olarak kullanılabilirliği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Stewart B.W., Kleihues P., World Cancer Report. 11-21. International Agency For Research On Cancer Publications, 2003.
- [2] Boyle P., Levin B., World Cancer Report. 42-56. International Agency For Research On Cancer Publications, 2008.
- [3] Hernández A., Céspedes W., Xamena N., Surrallés J., Creus A., Galofré P., et al., Glutathione S-Transferase Polymorphisms in Thyroid Cancer Patients. *Cancer Lett.* 190, 37–44, 2003.
- [4] Tang H., Zhao C., Zheng R., Liu Z., Wei Q., et al., Glutathione S-Transferase Polymorphisms and Risk of Differentiated Thyroid Carcinomas. *Arch Otolaryngol Head and Neck Surg.* 132, 756-761, 2006.
- [5] Akslen L.A., Haldorsen T., Thoresen S.O., Glatte E., Survival and causes of death in thyroid cancer: a population-based study of 2479 cases from Norway. *Cancer Res.* 51, 1234-1241, 1991.
- [6] Sağlık Bakanlığı Kanserele Savaş Dairesi Başkanlığı, 2005 yılı Türkiye kanser istatistikleri. 2006.
- [7] İşgör A., Tiroid Fizyolojisi. Tiroid Hastalıkları ve Cerrahisi. 69-122. Ed: by A. İşgör. Avrupa Tıp Kitapçılık, İstanbul, 2000.
- [8] Galanti M.R., Sparén P., Karlsson A., Grimelius L., Ekbom A., Is residence in areas of endemic goiter a risk factor for thyroid cancer? *Int. J. Cancer* 61;615-621, 1995.
- [9] Oyar O., Boyun Ultrasonografisi. 161-168. E.Ü.Basımevi, İzmir,2000.
- [10] Ziessman H.A., O'Malley J.P., Thrall J.H., The Requisites Nuclear Medicine. 71-112. Mosby Elsevier, Philadelphia, 2006.

- [11] Kierszenbaum A.L., Endokrin Sistem. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. 449-527. Ed: by R. Demir. Palme Yayıncılık, Ankara, 2006.
- [12] Skandalakis, J.E., Skandalakis, P.N., Skandalakis, L.J., Anatomy Of The Thyroid Gland. Surgical Anatomy And Technique.31-44. Springer-Verlag, New York, 1995.
- [13] Sadler G.P., Clark O.H., VonHeerden J.A., Forley D.A., Thyroid and Parathyroid. Principles of Surgery. 1661-1713. Ed: by S.I. Schwartz, G.T Shires., F.C. Spencer. Mc Graw-Hill, New York, 1999.
- [14] Schneider A., Ron E., Carcinoma of Follicular Epithelium. The Thyroid. 875-886. Ed: by L.E. Braverman, R.D. Utiger. Werner & Ingbar's, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000.
- [15] LiVolsi V.A., Pathology Of Thyroid Diseases. The Thyroid. 488-587. Ed: by L.E. Braverman, R.D. Utiger. Werner & Ingbar's, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000.
- [16] Mazzaferri E.L., Thyroid cancer. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolizm. 382-402. Ed: by K.L. Becker, J.P. Bilezikian, W.J. Bremner. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001.
- [17] Hussain H.K., Britton K.E., Grossman A.B., Reznik R.H., Thyroid cancer. Imaging in Oncology. 669-709. Ed: by J.E. Husband, R.H. Reznik. Taylor and Francis. London, UK, 2004.
- [18] Ries L.A.G., Melbert D., Krapcho M., et al. SEER Cancer Statistic Review 1975-2005. National Cancer Institute, Bethesda, 2008.
- [19] Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 1178-1180. Pennsylvania Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005.
- [20] DeLellis R.A., Williams E.D., Thyroid and parathyroid tumours. Pathology and Genetics of Tumors of Endocrine Organs.51-56. Ed: by R.A DeEllis., R.V. Lloyd, P.U Heitz., C.Eng. IARC Press, Lyon, 2004.

- [21] Wenig B.M., Heffess C.S., Adair C.F., Atlas of Endocrin Pathology, W.B.Saunders Company 8;83-160, 1997.
- [22] Agundez J.A., Cytochrome P450 gene polymorphism and cancer. *Curr. Drug Metab.* 5; 211-224, 2004.
- [23] Figge J.J., Jennings T., Gerasimov G., Kartel N., Yarmolinsky D., Ermak G., Thyroid Cancer: A Comprehensive Guide to Clinical Management. 63-83. Ed: by L. Wartofsky, D. Van Nostrand. Humana Press, New Jersey, 2006.
- [24] Mack W.J., Preston-Martin S., Dal Maso L., Galanti R., Xiang M., Franceschi S., Hallquist A., Jin F., Kolonel L., La Vecchia C. Et al., Apooled analysis of case-control studies of thyroid cancer: cigarette smoking and consumption of alcohol, coffee and tea. *Cancer Causes Control.* 14; 773-785, 2003.
- [25] Kreiger N., Parkers R., Cigarette smoking and the risk of thyroid cancer. *European Journal of Cancer.* 36; 1969-1973, 2000.
- [26] Schneider A.B., Ron E., Carcinoma of Follicular epithelium. Werner and Ingbar's the Thyroid. 878-886. Ed: by L.E. Braverman, R.D. Utiger. 2000.
- [27] Alagöl F., Tiroid Nodülü ve Tümörleri. *Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları.* 146-153. Ed: by E.Sencer. 2001.
- [28] Schlumberger M.J., Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *N. Eng. J. Med.* 338; 297-302, 1998.
- [29] Negri E., Ron E., Franceschi S., Dal Maso L., Mark S.D., Preston-Martin S., et al., A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. I. *Methods. Cancer Causes Control* 10; 131-142, 1999.
- [30] Negri E., Dal Maso L., Ron E., La Vecchia C., Mark S.D., Preston-Martin S., et al., A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. II.

Menstrual and reproductive factors. *Cancer Causes Control* 10; 143–155, 1999.

- [31] Di Pasquale M., Rothstein J.L., Palazzo J.P., Pathologic Features of Hashimoto's Associated Papillary Thyroid Carcinomas. *Hum. Pathol.* 32; 24-30, 2001.
- [32] Holm L.E., Blomgren H., Lowhagen T., Cancer risks in patients with chronic lymphocytic thyroiditis. *N. Engl. J. Med.* 312; 601-604, 1985.
- [33] Hall P., Holm L., Radiation-associated with thyroid cancer-facts and fictions. *Acta. Oncol. (Madr)* 37; 325-30, 1998.
- [34] Gimm O., Thyroid Cancer, Mini–review. *Cancer Lett.* 163; 143-156, 2001.
- [35] Henry J.F., Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and rekürrent and external laryngeal nerves. *Textbook of Endocrine Surgery*. Ed: by O.H.Clark, Q.Y. Duh. WB Saunders. Philadelphia, 2; 8-14, 1999.
- [36] Hundahl S.A., Fleming I.D., Fremgen A.M., Menck H.R., A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer* 83; 2638-2648, 1998.
- [37] Smallridge R.C., Marlow L.A., Copland J.A., Anaplastic thyroid cancer: molecular pathogenesis and emerging therapies. *Endocr Relat Cancer*, 16; 17-44, 2009.
- [38] Wiersinga W.M., Management of non-toxic multinodular goiter. *Endocrinology and diabetes*. 557–564. Ed: by J.A.H. In Wass & S.M. Shalet. Oxford University Press, New York, 2000.
- [39] Voltzke H., Ludemann J., Robinson D.M., Spieker K.W., Schwahn C.S., Kramer A., John U., Meng W., *Thyroid*. 13, 803, 2003.

- [40] Stark D.D., Clark O.H., Gooding G.A., Moss A.A., High-Resolution Ultrasonography and Computed Tomography of Thyroid Lesions in Patients with Hyperparathyroidism. *Surgery*, 94 (6): 863-8, 1983.
- [41] Baloch Z.W., LiVolsi V.A., Pathology of Thyroid and Parathyroid Disease. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 557-619. Ed: by S.E. Mills. Lippincott Williams & Wilkins, Vol 1, 2004.
- [42] Rosai J., Thyroid gland. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 515-594. Ed: by J. Rosai. Mosby, Vol 1, 2004.
- [43] Fast S., Nielsen V.E., Bonnema S.J., and Hegedus L., review Time to reconsider nonsurgical therapy of benign non-toxic multinodular goitre: focus on recombinant human TSH augmented radioiodine therapy. *European Journal of Endocrinology* 160; 517-528, 2009.
- [44] Chan J.K.C., Hirokawa M., Evans H., Williams E.D., Osamura Y., Cady B., Follicular adenoma. *Pathology and Genetics of Tumors of Endocrine Organs*. 98-103. Ed: by R.A DeEllis., R.V. Llyod, P.U Heitz., C.Eng. IARC Press, Lyon, 2004.
- [45] LiVolsi V.A., Albores-Saavedra J., Asa S.L., Baloch Z.W., Sobrino-Simoes M., Wenig B., Papillary carcinoma. *Pathology and Genetics of Tumors of Endocrine Organs*. 57-66. Ed: by R.A DeEllis., R.V. Llyod, P.U Heitz., C.Eng. IARC Press, Lyon, 2004.
- [46] Oertel Y.C., Oertel J.E.: *Thyroid Cancer: A Comprehensive Guide to Clinical Management*. 263-270. L. Wartofsky, D. Van Nostrand. Humana Press, New Jersey, 2006.
- [47] Mills S.E., *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. Vol I, 564-572. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2004.
- [48] Amico P., Lanzafame S., Li Destri G., et al., Warthin tumor-like papillary thyroid carcinoma with a minor dedifferentiated component: Report of a

case with clinicopathologic considerations. *Case Reports in Medicine*. 495281, 2010.

- [49] Sobrinho-Simoes M., Asa S.L., Kroll T.G., Nikiforov Y., DeEllis R., Farid P., Follicular carcinoma. *Pathology and Genetics of Tumors of Endocrine Organs*. 67-72. Ed: by R.A DeEllis., R.V. Lloyd, P.U Heitz., C.Eng. IARC Press, Lyon, 2004.
- [50] Wartofsky L., *Thyroid Cancer: A Comprehensive Guide to Clinical Management*. 517-522. Ed: by L. Wartofsky, D. Van Nostrand. Humana Press, New Jersey, 2006.
- [51] Vural N., *Toksik maddelerin metabolizması*. Ankara Üniv. Yayınevi, 2005.
- [52] Mannervik B., The isoenzymes of glutathione S-transferase. *Adv. Enzymol.* 57; 357-417, 1985.
- [53] Guengerich F.P., Characterization of human microsomal P450 enzymes. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 29; 241, 1989.
- [54] Nelson D.R., Koymans L., Kamataki T., Stegeman J.J., Feyereisen R., Waxman D.J., Waterman M.R., Gotoh O., Coon M.J., Estabrook R.W. et al., P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, and nomenclature. *Pharmacogenetics*. 6; 1-42, 1996.
- [55] Rendic S. and DiCarlo F.J., Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug Metab. Rev.* 29; 413-580, 1997.
- [56] Rifkind A.B., Lee C., Chang T.K. and Waxman D.J., Arachidonic acid metabolism by human cytochrome P450s 2C8, 2C9, 2E1, and 1A2: regioselective oxygenation and evidence for a role for CYP2C enzymes in arachidonic epoxygenation in human liver microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 320; 380-389, 1995.

- [57] Harder D.R., Campbell W.B. and Roman R.J.: Role of cytochrome P450 enzymes and metabolites of arachidonic acid in the control of vascular tone. *J. Vasc. Res.* 32; 79-82, 1995.
- [58] Graham S.E., Peterson J.A., How similar are P450s and what can their differences teach us? *Arch. Biochem. Biophys.* 369: 24-29, 1999.
- [59] Coleman M.D., *Human Drug Metabolism*. John Wiley&Sons,Ltd. 2005.
- [60] Nelson D.R., Cytochrome P450 and individuality of species. *Arch. Biochem. Biophys.* 369; 1-10, 1999.
- [61] Raunio H., Pasanen M., Maenpaa J., Hakkola J., Pelkonen O., Expression of extrahepatic cytochrome P450 in humans. *Advances in Drug Metabolism in Man.* 234-287. Ed: by G.M. Pacifici, G.N. European Commission, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1995a.
- [62] Nebert D.W., McKinnon R.A., Puga A., Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol.* 15; 273-280, 1996.
- [63] Pelkonen O, Maenpaa J., Taavitsainen P., Rautio A., Raunio H., Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Xenobiotica* 28; 1203-1253, 1998.
- [64] Farin F.M., Bigler L.G., Oda D., McDougall J.K., Omiecinski C.J., Expression of cytochrome P450 and microsomal epoxide hydrolase in cervical and oral epithelial cells immortalized by human papillomavirus type 16 E6/E7 genes. *Carcinogenesis.* 16; 1670, 1995.
- [65] Masson L.F., Sharp L., Cotton S.C., Little J., Cytochrome P-450 1A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer. A Huge review. *Am. J. Epidemiol.* 161; 901-915, 2005.

- [66] Spink D.C., Hayes C.L., Young N.R., Christou M., Sutter T.R., Jefcoate C.R., Gierthy J.F., The effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on estrogen metabolism in MCF-7 breast cancer cells: evidence for induction of a novel 17 β -estradiol 4-hydroxylase. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 51; 251-258, 1994.
- [67] Sutter T.R., Tang Y.M., Hayes C.L., Wo Y.Y.P., Jabs E.W., Li X., Yin H., Cody C.W., Greenlee W.F., Complete cDNA sequence of a human dioxin-inducible messenger RNA identifies a new gene subfamily of cytochrome-P450 that maps to chromosome-2. *J. Biol. Chem.* 269; 13092-13099, 1994.
- [68] McKay J.A., Melvin W.T., Ahsee A.K., Ewen S.W.B., Greenlee W.F., Marcus C.B., Burke M.D., Murray G.I., Expression of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer. *FEBS Lett.* 374; 270-272, 1995.
- [69] McFadyen M.C.E., Breeman S., Payne S., Stirk C., Miller I.D., Melvin W.T., Murray G.I., Immunohistochemical localization of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer with monoclonal antibodies specific for CYP1B1. *J. Histochem. Cytochem.* 47; 1457-1464, 1999.
- [70] Murray G.I., Taylor M.C., McFadyen M.C.E., McKay J.A., Greenlee W.F., Burke M.D., Melvin W.T., Tumor specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res.* 57; 3026-3031, 1997.
- [71] Hayes C.L., Spink D.C., Spink B.C., Cao J.Q., Walker N.J., Sutter T.R., 17 β -estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93; 9776-9781, 1996.
- [72] Ingelman-Sundberg M., Johansson I., Yin H., Terelius Y., Eliasson E., Clot P., Albano E., Ethanol-inducible cytochrome P4502E1 genetic polymorphism, regulation, and possible role: the etiology of alcohol-induced liver disease. *Alcohol* 10; 447-452, 1993.
- [73] Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y., Guengerich F.P., Interindividual variation in human liver cytochrome P450 enzymes

involved in oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270; 414-23, 1994

- [74] Imaoka S., Yamada T., Hiroi T., Hayashi K., Sakaki T., Yabusaki Y., Funae Y., Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*, systematic characterization and comparison with those of the rat. *Biochem. Pharmacol.* 51; 1041-1050, 1996.
- [75] Terelius Y., Ingelman-Sunberg M., Metabolism of n-pentane by ethanol-inducible cytochrome P450 in liver microsomes and reconstituted membranes. *Eur. J. Biochem.* 161; 303-308, 1986.
- [76] Koop D.R., Cassazza J.P., Identification of ethanol-inducible P-450 isozyme 3a as the acetone and acetol monooxygenase of rabbit microsome. *J. Biol. Chem.* 260; 13607, 1985.
- [77] Laethem R.M., Balazy M., Falck J.R., Laethem C.L., Koop D.R., Formation of 19(S)-, 19(R)-, and 18(R)-hydroxyeicosatetraenoic acids by alcohol-inducible cytochrome P450 2E1. *J. Biol. Chem.* 268; 12912-12918, 1993.
- [78] Kadlubar F.F., Hammons G.J., Role of cytochrome P-450 in metabolism of chemical carcinogens. *Mammalian Cytochromes P-450. Vol.2.* 81-130. Ed: by F.P. Guengerich. CRC Press, Boca Raton FL, 1987.
- [79] Lieber, C.S., DeCarli, L. M., Hepatic microsomal ethanol-oxidizing system: In vitro characteristics and adaptive properties in vivo. *J. Biol. Chem.* 245; 2505-2512, 1970.
- [80] Cytochrome P450 Drug Interaction Table, Indiana University Department of Medicine, 2003.
- [81] Levitz J.S., Bradley T.P., Golden A.L., Overview of smoking and all cancers. *Medical Clinics of North America.* 88; 1655-1675, 2004.

- [82] Vineis S., The relationship between polymorphisms of xenobiotic metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Toxicology*. 182; 457-462, 2002.
- [83] Siraj A.K., Ibrahim M., Al-Rasheed M., Abubaker J., et al., Polymorphisms of selected xenobiotics genes contribute to the development of papillary thyroid cancer susceptibility in Middle Eastern population. *B.M.C. Med. Genet.* 9; 61, 2008.
- [84] Bufalo N.E., Leite J.L. Guilhem A.C.T., Morari E.C., Granje F., Assumpcao L.V.M., Ward L.S., Smoking and susceptibility to thyroid cancer: an inverse association with CYP1A1 allelic variants. *Endocrine-Related Cancer* 13; 1185-1193, 2006.
- [85] Gaspar J., Rodrigues S., Gil O.M., et al., Combined effects of glutathione S-transferase polymorphisms and thyroid cancer risk. *Cancer Genet. Cytogenet.* 151; 60-67, 2004.
- [86] Reis A.A.S., Silva D.M., Curado M.P., Cruz A.D., Involvement of CYP1A1, GST, 72TP53 polymorphisms in the pathogenesis of thyroid nodules. *Genet. Mol. Res.* 4; 2222-2229, 2010.
- [87] Strange R.C., Spiteri M.A., Ramachandran S., Fryer A., Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutat. Res.* 482; 21-26, 2001.
- [88] Hayes J.D., Pulford D.J., The glutathione S-transferase super gene family: regulation of GST and the contribution of isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30; 445-600, 1995.
- [89] Mannervik B., Awasthi Y.C., Board P.G., Hayes J.D., Di Ilio C., Ketterer B., et.al., Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem. J.* 282; 305-308, 1992.

- [90] Board P.G., Coggan M., Chelvanayagam G., Easteal S., Jermin L.S., Schulte G.K., et. al., Identification, characterization and crystal structure of omega class glutathione transferases. *J. Biol. Chem.* 275; 24798-24806, 2000.
- [91] Stocman P.K., Mclellen L.I., Hayes J.D., Characterization of the basic glutathione s transferase B1 and B2 subunits from human liver. *Biochem. J.* 244; 55, 1987.
- [92] Amad H., Singhal S.S., Saxena M., Awasthi Y.C., Characterization of two novel subunits of the alpha class glutathione s transferase of human liver. *Biochem. Biophys. Acta.* 116; 333, 1993.
- [93] Seidgard J., Ekstöm G., The role of human GST's and epoxide hydrolases in metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect.* 105 (4): 791, 1997.
- [94] Benson A.M., Talalay P., Role of reduced glutathione in the keto steroid isomerase reaction of liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 6; 1073, 1976.
- [95] Kimura J., Hayakari M., Kumano T., Nakano H., Satah K., Tsuchida S., Altered Glutathione transferase in rat skin inflamed due to Alpha-class subunit. *Biochem. J.* 335; 605, 1998.
- [96] Strange R.C., Fyer A.A., Matteredo B., Zhao L., Broome J., Campille D., Jones P., Pastor I., Singh R., The glutathione S-transferase: comparison of isoenzymes expression in normal and astrocytoma brain. *Biochem. Biophys. Acta.* 1139; 222, 1992.
- [97] Takahashi Y., Champbel E.A., Hirida Y., Takayama T., Listowsky I., The basis of differentiating among the multiple human mu-glutathione S-transferase and molecular cloning of brain GST M5. *J. Biol. Chem.* 268; 8893, 1993.
- [98] Hirvonen A., Polymorphisms of xenobiotic-metabolizing enzymes and susceptibility to cancer. *Environ Health Prospect.* 107; 37-47, 1999.

- [99] Eaton D.L., Bammler T.K., Concise review of glutathione S-transferase and their significance to toxicology. *Toxicological Sciences*. 49; 156-164, 1999.
- [100] Granja F., Morari J., Morari E.C., Correa L.A.C., Assumpção L.V.M., Ward L.S., GST profiling may be useful in the screening for thyroid nodule malignancy. *Cancer Lett*. 209; 129-137, 2004.
- [101] A. Özaydın, Glutatyon S-Transferaz GST-M1 ve GST T-1 polimorfizmlerinin glutatyonla ilişkili detoksifikasyon sistemlerine etkisi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2000.
- [102] Coggan M., Whitbread A., Whittington A., Board P., Structure and organization of the human theta-class glutathione s-transferase and D-dopachrom tautomerase gene complex. *Biochem. J*. 334; 617, 1998.
- [103] Mainwaring G.W., et al., The distribution of theta class glutathione transferase in the liver and lung of Mouse rat and human. *Biochem. J*. 318; 297, 1996.
- [104] Clapper M.L., Genetic polymorphism and cancer risk. *Curr. Oncol. Rep*. 2; 251-256, 2000.
- [105] Knudsen L.E., Loft S.H., Autrup H., Risk assessment: the importance of genetic polymorphisms in man. *Mutat. Res*. 482; 83-88, 2001.
- [106] Blackburn A.C., Woollat E., Sutherland G.R., Board P.G., Characterization and chromosome location of the gene GSTZ1 encoding in human zeta class glutathione transferase and maleylacetoacetate isomerase. *Cytogenet. Cell Genet*. 83; 109-114, 1998.
- [107] Rushmore T.H., Pickett C.B., Glutathione S-Transferases, Structure, Regulation and Therapeutic Implications. *J. Biol. Chem*. 268; 11475, 1993.
- [108] Berhane K., Widersten M., Engstrom A., Kazarich J.W., Manrevrik B., Detoxication of base propenals and other alpha, beta unsaturated aldehyde

products of radical reactions and lipid peroxidation by human glutathione transferases. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91 (4): 1480, 1994.

- [109] Morari E.C., Granja F., Leite J.L.P., Assumpção L.V.M., Ward L.S., The null genotype of glutathione S-transferase M1 and T1 locus increases the risk for thyroid cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 11; 1485-1488, 2002.
- [110] Canbay E., Dokmetas S., Canbay E.I., Sen M., Bardakci F., Higher glutathione transferase GSTM1 0/0 genotype frequency in young thyroid carcinoma patients, *Curr. Med. Res. Opin.* 19; 102-6, 2003.
- [111] Hernández A., Cespedes W., Xamena N., et al., Glutathione S-transferase polymorphisms in thyroid cancer patients. *Cancer Lett.* 190; 37-44, 2003.
- [112] Iribarren C., Haselkorn T., Tekawa I.S., Friesman G.D., Cohort study of thyroid cancer in a San Francisco Bay area population. *International Journal of Cancer.* 93; 745-750, 2001.
- [113] Navarro Silvera S.A., Miller A.B., Rohan T.E.; Risk factors for thyroid cancer: a prospective cohort study. *International Journal of Cancer.* 116; 433-438, 2005.
- [114] Henderson B.E., Ross R.K., Pike M.C., Casagrande J.T., Endogenous hormones as a major factor in human cancer. *Cancer Res.* 42; 3232–3239, 1982.
- [115] Williams E.D., TSH and thyroid cancer. *Horm. Metab. Res.* 23; 72-75, 1990.
- [116] Baron J.A., LaVecchia C., Levi F., The antiestrogenic effect of cigarette smoking in women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 162; 502–514, 1990.

- [117] Grady D., Ernster V.: Endometrial Cancer. 1058–1089. Ed: by D. Schottenfeld, J. Fraumeni. Cancer Epidemiology and Prevention. Oxford University Press, New York, 1996.
- [118] El-Rayes B.F., Ali S., Heilburn L.K., Lababidi S., Bouwman D., Visscher D., Philip P.A., Cytochrome P450 and Glutathione Transferase Expression in Human Breast Cancer. Clin. Cancer Res. 9: 1705-1709, 2003.
- [119] Huang Z., Fasco M.J., Figge H.L., Keyomarsi K., Kaminsky L.S., Expression of cytochromes P450 in human breast tissue and tumors. Drug Metab. Dispos. 24:889-905, 1996.
- [120] Oguztuzun S., İşcan M., Ozhavzalı M., Sak Dizbay S., Comparison of GST Isoenzyme Expression in Normal and Neoplastic Breast Tissue: Correlation with Clinical and Prognostic Factors. Turk J. Biol. 33; 89-100, 2009.