



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI BİLİM DALI

**ANAPLASTİK TİROİD KANSERİ HÜCRE KÜLTÜRÜNDE
RHO-KİNAZ İNHİBİTÖRÜ OLAN Y-27632 İLE
PRAVASTATİN VE ATORVASTATİN'İN TEK VE
KOMBİNE KULLANIMLARININ ANTİTÜMÖRAL
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Selver ÇOR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali ARICAN

MERSİN – 2013



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI BİLİM DALI

**ANAPLASTİK TİROİD KANSERİ HÜCRE KÜLTÜRÜNDE
RHO-KİNAZ İNHİBİTÖRÜ OLAN Y-27632 İLE
PRAVASTATİN VE ATORVASTATİN'İN TEK VE
KOMBİNE KULLANIMLARININ ANTİTÜMÖRAL
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Selver ÇOR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali ARICAN

Bu tez, BAP-TF DTB (SÇ) 2013-1 TU kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir

MERSİN – 2013

TEŐEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince her türlü desteğini esirgemeyen ve deneyimlerimden çok yararlandığım, başta Tez Danıőmanım ve İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof Dr Ali Arıcan'a, Prof Dr Ali Arıcan nezdinde bütün hocalarıma, tezimin laboratuvar aşamasında yardımını ve güler yüzünü esirgemeyen başta Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof Dr Kansu Büyükaşar'a, Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç Dr Nalan Tiftik'e, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yard Doç Dr Zuhal Mert Altıntaş'a, İç Hastalıkları yandal asistan ve asistan doktor arkadaşlarıma, eğitimim süresince sabrını ve manevi desteğini esirgemeyen eşim Cumali Çor'a, kızım Ayőe Sena'ya ve her zaman yanımda olan ailemin tüm bireyelerine,

Teőekkürlerimi sunarım

Dr Selver ÇOR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
I. GİRİŞ VE AMAÇ	8
II. GENEL BİLGİLER	9
2.1.Tarihçe	9
2.2. Embriyoloji ve Histoloji	9
2.3. Anatomi	10
2.4.Fizyoloji	11
2.4.1. Tiroid Hormonlarının Fizyolojik Etkileri	12
2.5.Tiroid Hastalıkları Tanı Yöntemleri	13
2.5.1.Biyokimyasal Yöntemler	13
2.5.1.1.Tiroid Fonksiyon Testleri	13
2.5.1.1.1.Sensitiv Tiroid Uyarıcı Hormon	14
2.5.1.1.2.Total Tiroksin	15
2.5.1.1.3.Serbest Tiroksin	15
2.5.1.1.4.Total Triiyodotironin	15
2.5.1.1.5. Serbest Triiyodotironin	16

2.5.1.2.Tiroid Otoantikorları	16
2.5.2.Görüntüleme Yöntemleri	16
2.5.2.1.Direkt Grafi	16
2.5.2.2. Ultrasonografi	16
2.5.2.3.Renkli Doppler Ultrasonografi	17
2.5.2.4.Bilgisayarlı Tomografi	17
2.5.2.5.Manyetik Rezonans Görüntüleme	18
2.5.2.6.Sintigrafi	18
2.5.3. İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi	18
2.6.Tiroid Kanseri	19
2.6.1.Onkogenez	19
2.6.1.1.Sinyal Proteinleri	20
2.6.1.2.Sinyal Reseptör Proteinleri	21
2.6.1.3.Hücre İçi Sinyal Aktarım Proteinleri	21
2.6.2.Tanım ve Epidemiyoloji	22
2.6.3.Etyoloji ve Risk Faktörleri	24
2.6.4.Evreleme	25
2.6.5. Tiroid Karsinomu Sınıflaması	30
2.6.5.1.Papiller Tiroid Karsinomu	30
2.6.5.2.Foliküler Tiroid Karsinomu	30
2.6.5.3.Medüller Tiroid Karsinomu	31
2.6.5.4. Anaplastik Tiroid Karsinomu	31
2.6.5.4.1. Epidemiyoloji ve Moleküler Biyoloji	32

2.6.5.4.2. Prezentasyon	32
2.6.5.4.3. Klinik Bulgular	32
2.6.5.4.4. Tanı	33
2.6.5.4.5. Görüntüleme	34
2.6.5.4.6. Prognostik Faktörler	34
2.6.5.4.7. Tedavi	34
2.6.5.4.7.1. Tiroide Lokalize Tümör	34
2.6.5.4.7.1.1. Cerrahi	34
2.6.5.4.7.1.2. Adjuvan Tedavi	35
2.6.5.4.7.2. Lokal İlerlemiş İnoperabil Hastalık	35
2.6.5.4.7.2.1. Radyoterapi	35
2.6.5.4.7.2.2. Kemoterapi	35
2.6.5.4.7.2.3. Kombine Modalite Terapi	36
2.6.5.4.7.3. Metastatik Hastalık	36
2.7. Düşük Molekül Ağırlıklık G Proteinleri	36
2.7.1. Rho Proteinleri	36
2.7.1.1. Rho Aktivitesinin düzenlenmesi	37
2.7.1.2. Rho Protein Eftörleri	38
2.7.1.2.1. Rho-kinaz	39
2.7.1.3. Tümör hücresi ve Metastaz Üzerine Etkileri	41
2.7.1.4. Y-27632 Rho Kinaz İnhibitörü	41
2.8. Statin Grubu İlaçlar	42

III. GEREÇLER VE YÖNTEM	47
3.1. İstatistiksel Analiz	49
IV. BULGULAR	50
V. TARTIŞMA	58
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	62
VII. KAYNAKLAR	63
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	87
GRAFİK VE ŞEKİLLER DİZİNİ	90
TABLolar DİZİNİ	91

ÖZET

Anaplastik tiroid kanseri prognozu kötü olan agresif tümörlerdendir. Tedavi seçenekleri arasında tümör büyüklüğüne ve yayılımına göre cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi rejimleri bulunmaktadır; ancak özellikle metastatik vakalarda uygulanan tedavi protokolleri etkin değildir. Vakaların yaklaşık %90'ı tanı anında yerel veya uzak yayılım göstermektedir ve tanıdan sonra ortalama sağkalım 2-6 ay civarındadır. Bu nedenle günümüzdeki tedavi protokollerinden farklı olarak, özellikle hedefe yönelik tedavi rejimlerinin araştırılması gerekmektedir.

Statinler, 3-hidroksi-3 metilglutaril-koenzimA (HMG-KoA) redüktaz inhibitörleri olup HMG-KoA'nın mevalonata dönüşümünü inhibe ederler. Mevalonat yolağının inhibisyonu ile Ras prenilasyonu ve böylece tümör büyümesi inhibe olabilir. Rho/Rho kinaz yolağı da kanser hücre proliferasyonu ve metastazında önemli role sahiptir. Tümör metastazında ROCK aktivitesi artmaktadır ve ROCK'un fazla sunumu tümör invazyonuna öncülük etmektedir. Bu çalışmada, HMG-KoA redüktaz inhibitörü olan statin grubu ilaçlardan pravastatin ve atorvastatin ile Rho kinaz inhibitörü olan Y-27632'nin, anaplastik tiroid kanseri hücre kültüründe hücre proliferasyonunu baskılayarak antitümöral etkinliği araştırıldı. Pravastatinin 20 mikromol (μM) ve 60 μM , atorvastatinin 10 μM ve 30 μM , Y-27632'nin 10 μM ve 30 μM konsantrasyonlardaki solüsyonlarına ek olarak; pravastatin 20 μM ile Y-27632 10 μM , pravastatin 60 μM ile Y-27632 30 μM , atorvastatin 10 μM ile Y-27632 10 μM , atorvastatin 30 μM ile Y-27632 30 μM konsantrasyonlarında kombinasyonları elde edildi. Anaplastik tiroid kanser hücre kültürü, hazırlanan bu ilaç solüsyonları ile muamele edildi. Suda çözünürlüğü fazla olan pravastatin doz ve zaman bağımlı bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptı. Ancak yağda çözünürlüğü fazla olan atorvastatine göre etkinliği çok daha az saptandı. Atorvastatin belirgin bir şekilde proliferasyonu baskılayarak, hücre indeksinde azalma yaptı. Y-27632 doz ve zaman bağımlı bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptı. Y-27632'nin pravastatin ve atorvastatin kombinasyonlarında, aditif, sinerjik veya antagonistik bir etkileşme görülmedi.

Anahtar kelimeler: anaplastik tiroid kanseri, Rho-kinaz inhibitörü, statin.

ABSTRACT

The Investigation of Antitumor Activity of both Single and Combine Use of Y27632 which is Rho Kinase Inhibitor together with Pravastatin and Atorvastatin at Anaplastic Thyroid Cancer Cell Culture

Anaplastic thyroid cancers (ATCs) are aggressive tumor and have a poor prognosis. According to tumor size and extend, various therapy regimens are applied to ATCs; that are surgery, radiotherapy and chemotherapy. Although, any therapeutic regimen is not effective, especially at metastatic case. Also about ninety percent of ATCs have regional or distant metastasis at time of diagnosis and prognosis is very poor. Median survival is approximately two-six months. For this reason, more investigation needed for distinct therapy modalities, especially targeted therapy.

Statins are inhibitors of HMG-CoA reductase that inhibit the conversion of HMG-CoA to mevalonate. Inhibition of mevalonate pathway provide the inhibit Ras prenylation and thus tumor growth. Rho/Rho kinase pathway has an important role in cancer cell proliferation and metastasis. ROCK activity is increased in tumor metastasis. ROCK overexpression is leading to tumor invasion. In this study, we investigate to suppressing of cell proliferation and antitumoral activity of statin group of drugs, that are pravastatin, atorvastatin and Rho-kinase inhibitor, that is Y-27632, at the anaplastic thyroid cancer cell line. Drugs are prepared at the various concentrations. Pravastatin 20 μM and 60 μM , atorvastatin 10 μM and 30 μM , Y27632 10 μM and 30 μM also, combinations with pravastatin 20 μM and Y27632 μM , pravastatin 60 μM and Y27632 30 μM , atorvastatin 10 μM and Y27632 10 μM and finally atorvastatin 30 μM and Y27632 30 μM . Solutions are prepared with these drugs concentrations and combinations. Anaplastic thyroid cancer cell culture was treated with these solutions. Water soluble pravastatin is dose and time-dependent reduction at the cell index. However, efficacy of pravastatin is much less compared to lipid soluble atorvastatin. Atorvastatin is decreased the cell index markedly, by suppressing cell proliferation significantly. Y-27632 is dose and time-dependent reduction at the cell index. Additive, synergistic or

antagonistic interactions are not observed between combinations of Y-27632 with atorvastatin and Y-27632 with pravastatin.

Key words: anaplastic thyroid cancer, Rho-kinase inhibitor, statin.

GİRİŞ VE AMAÇ

Anaplastik tiroid kanseri prognozu kötü olan agresif tümörlerdendir ve ortalanca sağkalım 2-6 ay arasındadır.^{1,2} Bazı hastalara cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapi uygulansa da sağkalım değişmemektedir^{3,4}. Bu nedenle yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç vardır.

Statin, HMG-KoA redüktaz inhibitörüdür. Hiperkolesterolemi ve ilişkili kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılır^{5,6,7}. Atorvastatin yağda, pravastatin ise suda çözünebilir statinlerdir. Atorvastatin ve pravastatin yarışmalı olarak HMG-KoA redüktazı inhibe ederler. Böylece HMG-KoA'nın mevalonata dönüşümü inhibe olur. Mevalonat inhibisyonu kan kolesterol seviyesinin düşürülmesine ek olarak, farnesil pirofosfat (FPP) ve geranilgeranil-pirofosfat (GGPP) gibi nonsterol isoprenoidlerin azalmasını sağlar^{8,9}. İsooprenoidler, Ras ve Rho gibi küçük GTPaz proteinlerinin post translasyonel modifikasyonunda rol oynarlar. Membran translokasyonu Ras ve Rho ailesinin aktivasyonu için çok önemlidir^{10,11}. Farnesilasyon ve geranilgeranilasyon inhibisyonu Ras ve Rho inaktivasyonuna neden olur¹². Rho proteinlerinin kanser hücre gelişimi ve progresyonunun, hücre siklus düzenlenmesi, gen ekspresyonu ve apoptosis gibi birçok basamağında rol oynadığı bilinmektedir. ROCK proteinleri ise bir Rho alt efektörü olarak görev alan Rho kinaz proteinleridir. Rho-ROCK sinyal yolağı kanser hücre motilitesi ve kanser hücrelerinin anjiyojenik aktivitesinde rol oynamaktadır. ROCK sinyal yolağının aktivasyonu tümör hücre proliferasyonunu indükler^{13,14,15}. Y-27632, ROCK selektif inhibitörü olup, ROCK'un kinaz aktivitesini, ATP ile yarışmalı bir şekilde kinaz bölgesine bağlanarak inhibe etmektedir. Böylece ROCK proteinini, dolayısıyla Rho-ROCK sinyal yolağını inhibe ederek kanser hücrelerinin büyümesini inhibe eder^{16,17,18}.

Bu çalışmada yağda çözünebilir atorvastatin, suda çözünebilir pravastatin ve Y-27632'nin tekli ve statinler ile Y-27632'nin kombine solüsyonlarının anaplastik tiroid kanseri hücrelerinde proliferasyonu baskılayarak, antitümöral aktivitesinin gösterilmesi amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Tiroid kelimesi Grekçe'deki kalkan şekil anlamındaki thyreoides kelimesinden türemiştir. Tiroid bezini ilk olarak Galen tarif etmiştir. Tiroid ismi ise Thomas Wharton tarafınca Adenographia adlı eserinde 1656 yılında kullanılmıştır. 19. yüzyıla kadar tiroid hastalarının tanı ve tedavisinde ilerleme olmamıştır. Patolojik anatominin gelişmediği dönemlerde tüm tiroid kanserleri sarkomatöz dejenarasyon olarak adlandırılmıştır. Primer tiroid kanserinin tarifini ilk olarak 1811'de Burns Issı tarafınca yapılmıştır. Tiroid kanser hücrelerini ilk olarak 1862 yılında Paris'te Gosselin ortaya koymuştur. Soliter nodül ile tiroid kanseri arasındaki ilişki 1932 yılında anlaşılmıştır^{19,20,21}.

2.2.Embriyoloji ve Histoloji

Tiroid boyunda, larinksin anterolateralinde ve trakeanın önünde bulunan iki loblu endokrin organdır. Loblar isthmus denilen ince bir bant şeklindeki tiroid dokusu ile birbirlerine bağlanırlar. Tiroid bezi ince bağ dokudan oluşan kapsülle çevrelenir. Kapsül, tiroid bezine trabeküller göndererek lob ve lobülleri oluşturur. Lobüller, fonksiyonel birim olan folliküllerden oluşur. Follikül, sferoid şekilli kist benzeri, duvarı yassı veya küboidal hücreleri içeren folliküler epitelden oluşan yapılardır. Erişkin tiroid bezi yaklaşık 3×10^6 follikül içerir. Çapları 0,2-1,0 mm arasında değişir. Lümeni kolloid denilen ve içerisinde tiroid hormonlarının protein prekürsörü olan tiroglobulin içeren jel benzeri yapı ile doludur²². Folliküler hücreleri polarizedir, yani bazolateral yüzey kan akımına apikal yüzey ise folliküler lümenine doğrudur²³.

Tiroid bezi primitif farenksin tabanından gestasyonun üçüncü haftası süresince gelişmeye başlar. Dil tabanında foramen cecumdan, tiroglassal kanal boyunca göç eder ve boyundaki son yerleşim yerine gelir. Bu göç nadir görülen lingual tiroidi ve tiroglassal kanal kistlerinin varlığını açıklar. Hormon yapımı normalde gestasyonun 11. haftasında başlar. Gelişim transkripsiyon faktörleri tarafınca kontrol edilir. Tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1), tiroid transkripsiyon faktör-2 (TTF-2) ve paired homeobox-8 (PAX-8) özgün olmamakla birlikte selektif olarak tiroid bezinde eksprese olur. Bu faktörler tiroid

hücre gelişimini düzenler ve tiroglobulin (Tg), tiroid peroksidaz (TPO), sodyum iyot simporter (NIS), tiroid stimulan hormon reseptörü (TSH-R) gibi tiroide özel genlerin indikasyonunu yönetirler. Transkripsiyon faktörlerindeki veya hedef genlerdeki mutasyonlar tiroid agenezisi veya dishormonogenezin nadir sebepleri arasında olmakla birlikte konjenital hipotiroidiye de sebep olabilirler²³.

Tiroid bezinde farklı embriyolojik orijinlerden kaynaklanan üç ana hücre tipi bulunmaktadır. Folliküler hücre (A hücresi) endoderm kökenlidir. Tiroid hormonları olan tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) yapım ve salgılamasından sorumludur. Tiroid stimule edici hormon (TSH) etkisi altındadır. B hücresi (askanazy, onkosit, hürthle hücre) serotonin toplar, TSH reseptörü içerir ve tiroglobulin sentezi yapar ancak fonksiyonu net olarak bilinmemektedir. Parafolliküler (medüler, C) hücre ise ultimobrankiyal yapıdan köken alan nöral krest artıklarıdır ve kalsiyum düşürücü hormon olan kalsitonin salgılar. C hücreleri TSH kontrolünde değildir. APUD (amin prekürsör uptake dekarboksilaz) sisteminin bir parçasıdır. C hücreleri tiroid bezi boyunca dağılım gösterirler^{23,24}.

2.3. Anatomi

Tiroid bezi; C5-T1 vertebra seviyesinde, sternotiroid ve sternohyoid kaslarının altında bulunur. Larinksin anterolateralinde, trakeanın önünde sağ ve sol lob olmak üzere iki lobu bulunmaktadır. İsthmus denilen bir yapı ile 2. ve 3. trakeal halkaların önünde loblar birbirlerine bağlanırlar. İnce fibröz bir kapsülle çevrelenmiştir. Kapsül beze septalar gönderir. Krikoid kartilaj ve süperior trakeal halkaya bağ doku ile bağlanır.

Tiroid bezinin vaskülaritesi fazladır. Süperior ve inferior tiroid arterler ile beslenir. Süperior tiroid arter genellikle eksternal karotid arterin ilk dalıdır. Süperior tiroid arter her iki lobun üst polünü besler. Derin servikal fasyanın pretrakeal tabakasını geçince anterior ve posterior olmak üzere iki dala ayrılır. Süperior tiroid arterin anterior dalı daha geniştir. Ön sınır boyunca aşağıya doğru iner ve orta hatta sağ ve sol anterior dallar anastomoz yapar. Süperior tiroid arterin posterior dalı arka yüzey boyunca aşağıya ilerler ve arka yüzeyde inferior tiroid arterle anastomoz yapar. Inferior tiroid arter subklavian arterden çıkan tiroservikal gövdenin en kalın dalıdır ve bezin inferior polünü besler.

Bezin üst, orta ve alt pollerini sırasıyla süperior tiroid ven, orta tiroid ven ve inferior tiroid ven drene eder. Süperior ve orta tiroid venler inferior juguler vene drene olur. İnfierior tiroid ven ise brakiosefalik vene drene olur.

Tiroid bezin lenfatik damarları, tiroidi besleyen arterlerin etrafında interlobüler bağ dokusu içindedirler. Lenfatik damarlar birbirleri ile kapsüler bir ağ sayesinde bağlantı halindedirler. Lenfatik damarlar buradan prelarinjyal, pretrakeal ve paratrekeal lenf nodlarından geçer. Lateralde de lenfatik damarlar, süperior tiroid ven boyunca ilerleyip inferior derin servikal lenf noduna gelir. Bazı lenfatik damarlar brakiosephalik lenf noduna veya torasik kanala drene olur.

Tiroid bezi besleyen sinirler süperior, orta ve inferior servikal sempatik ganglionlardan çıkar. Tiroid arterler eşliğinde kardiak, süperior, inferior tiroid perirarteryal pleksus ile beze ulaşır. Vazomotor etki gösterir. Sekretomotor etki yani hormonal düzenleme hipofiz bezi kontrolündedir²⁵.

2.4. Fizyoloji

Tiroid hormonları büyük bir iyodinize glikoprotein olan tiroglobulinden elde edilir. Hormon yapımı için gerekli madde iyottur. İyot tutulması (uptake) tiroid hormonu sentezinde birinci aşamadır. Oral alınan iyot albümin başta olmak üzere serum proteinlerine bağlanır. İyodun önerilen oral alım dozu yetişkinler için 150 mg /gün, gebeler için 200 mg/gündür. İyodun serbest kısmı idrarla atılır. İyot tutulumu folliküler hücrelerinin bazolateral membranında eksprese olan NIS aracılığı ile olur. NIS, tiroid bezinde fazla olmakla birlikte az oranda tükrük bezleri, süt veren meme bezleri ve plasentada da eksprese olur. NIS diyetle alınan iyot miktarına göre düzenlenir. NIS genindeki mutasyon konjenital hipotiroidinin nadir nedenlerinden birisidir²³. İyodür pompası normal bezde iyodürü kandaki konsantrasyonunun 30 katına kadar yükseltebilir. İyot tutulmasının hızı TSH etkisi altındadır²⁶. İyot uptake edildikten sonra, organifikasyon reaksiyonunun yapılacağı folliküler hücrelerinin apikal membranına taşınır. İyodür iyonları iyodun inorganik halidir. Peroksidaz enzimi hidrojen peroksit ile birlikte inorganik iyodu, okside (organik) iyoda dönüştürür. Tiroid follikül hücrelerinde endoplazmik retikulum ve golgi apereyi birlikte tiroglobulini sentezler. Tiroglobülin molekülü 70 tirozin aminoasidi içerir. Tirozin aminoasidi tiroid hormonu oluşturmak üzere iyotla birleşen ana maddedir. Peroksidaz enzimi apikal membranda bulunur. Bunun sebebi golgi apereyinden

çıkıp kolloide depolanmak üzere giden tiroglobülinin tam bu noktada iyotlanmasını sağlamaktır ve bu olaya tiroglobulinin organifikasyonu yani organik iyotla iyotlanması denir. İyodinaz enzimi ile iyot tiroglobulin içindeki tirozin aminoasidine bağlanır. Tirozin iyodinasyonundan sonra, tirozin önce monoiyodotirozine (MIT) daha sonra diiyodotirozine (DIT) iyotlanır. İki DIT birleşimi ile T4 hormonu ve bir MIT bir DIT birleşimi ile T3 hormonu oluşur. Tiroid hormon sentezi tamamlandıktan sonra her bir tiroglobulinde otuz T4 ve az miktarda T3 bulunur. Hormonlar folikülde vücudun normal ihtiyacını 2-3 ay karşılayacak kadar depo edilir. Tiroid hücrelerinin apikal yüzeyi kolloide yalancı ayaklar gönderir. Bunlar pinositik vezikülleri oluşturur. Lizozomlar bu vezikülle birleşerek proteinazlar ile tiroglobulin molekülünü sindirir. Tiroksin ile triiyodotironini serbestleştirir. Daha sonra difüzyon ile tiroid hormonları kapillere geçer ve kana serbestleşmiş olur. Tiroglobulindeki iyotlanmış tirozinin büyük bir kısmı tiroid hormonu haline gelmez. MIT ve DIT olarak kalır. Bu moleküller kana salgılanmaz ve içindeki iyot deiyodinaz enzimi ile koparılıp tekrar tiroid hormonu yapılmak üzere tiroid bezinde kullanılır. Salgılanan hormonun yaklaşık %93'ü T4 %7'si T3'dür. Ancak daha sonra T4 deiyodine olarak T3'e dönüşür. Dokularda kullanılan hormonun büyük kısmı T3'dür. Tiroid hormonlarının %99'u kanda plazma proteinlerine bağlanarak taşınır. En fazla tiroksin bağlayıcı globüline (TBG), daha az olarak da albümin ve transtiretine (TTR, eski adıyla tiroksin bağlayıcı prealbumin, TBPA) bağlanır. Metabolik aktiviteden serbest haldeki hormonlar sorumludur. T4, daha potent olan T3'ün prekürsörü gibidir. T4 deiyodinaz enzimleri ile T3 e dönüştürülür. Tip I deiyodinaz tiroid, karaciğer ve böbrekte yerleşmiş olup T4 için düşük afiniteye sahiptir. Tip II deiyodinaz, T4 için daha yüksek afiniteye sahiptir ve hipofiz bezi, tiroid bezi, kahverengi yağ dokusu ve beyinde bulunur. Tip II deiyodinaz tiroid hormonları ile düzenlenir. Tip III deiyodinaz T4 ve T3'ü inaktive eder ve reverse T3 için kaynak oluşturur^{26,27}.

2.4.1. Tiroid Hormonlarının Fizyolojik Etkileri

Tiroid hormonları çekirdek reseptörlerini aktive eder ve çok sayıda genin transkripsiyonunu arttırlar. Mitokondrilerin sayısını ve aktivitesini arttırarak, hücresel metabolik aktiviteyi hızlandırır. Tiroid hormonları Na-K-ATPaz enzimini arttırarak, hücre zarında iyonların aktif transportunu arttırlar. Tiroid hormonu iskelet sisteminin büyüme hızını etkiler. Fetal hayat sırasında ve

doğumdan sonraki ilk yıllarda beynin büyüme ve gelişmesini sağlar. Tiroid hormonlarının glikozun hücreler tarafından kullanılmasında artış, glikolizde, glikoneojenezde ve insülin salgılanmasında artış gibi karbonhidrat metabolizmasında uyarıcı etkisi vardır. Yağ metabolizması tiroid hormonlarının etkisiyle hızlanır. Serbest yağ asidi konsantrasyonu ve hücrelerde serbest yağ asidi oksidasyonu artar. Serbest yağ asitleri artmasına rağmen plazma kolesterol, trigliserit, fosfolipid miktarları azalır. Tiroid hormonları bazal metabolizma hızını artırır ve vücut ağırlığında azalma meydana getirirler. Kardiyovasküler sistemde pozitif inotropik ve pozitif kronotropik etkileri bulunmaktadır. Kan akımı, kalp hızı ve kalbin atım gücünde artış yapmaktadır. Solunum derinliğini ve hızını artırır. Gastrointestinal motilitede artış yapar. Merkezi sinir sisteminde eksitator etkisi bulunmaktadır. Tiroid hormonları diğer endokrin bezlerin çoğunda salgı hızını arttırmakla birlikte hormona olan gereksinimi de artırırlar. Normal seksüel işlev için tiroid salgısının normal olması gerekmektedir. Tiroid hormon düzensizliği erkeklerde libido kaybı veya impotansa neden olurken, kadınlarda menstrüel düzensizliklere neden olmaktadır²⁶.

2.5.Tiroid Hastalıkları Tanı Yöntemleri

Tiroid hastalıklarının tanı yöntemleri arasında noninvaziv olarak biyokimyasal yöntemler, ultrasonografi, tiroid sintigrafisi, daha nadir ve seçilmiş vakalarda da bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme yöntemleri ile minimal invaziv yöntem olarak da ince iğne aspirasyon biyopsisi bulunmaktadır.

2.5.1.Biyokimyasal Yöntemler

2.5.1.1.Tiroid Fonksiyon Testleri

Tiroidin fonksiyonel bozukluğu popülasyonda %5 sıklıkta görülmektedir. Yaşla birlikte bu oranda artış olur. Tiroid fonksiyonlarını direkt olarak gösteren en değerli test serum tiroid hormon düzeyi veya doku hormon konsantrasyonudur²⁸.

Tiroid hastalıkları için laboratuvar ve radyolojik tetkikler birkaç düzeyde ve aşamalı olarak yapılmalıdır. Bu amaçla ilk olarak, duyarlılığı yüksek, yaygın

kullanılabilen maliyeti düşük bir test olarak serum TSH düzeyi kullanılabilir. İkinci aşamada tiroid fonksiyon bozukluğunun ciddiyetini ve altta yatan nedeni tanımlayabilecek test olarak serbest T4 konsantrasyonu ölçülebilir. Üçüncü aşamada ise ilk sıra testlerde bozukluk doğrulanmışsa tedavi planlamak için daha gelişmiş çalışmalar endike olabilir. Bu amaçla kullanılan biyokimyasal testler Tablo-1’de verilmiştir.

Tablo 1: Tiroid Hastalıklarına Yönelik Yapılan Biyokimyasal Testler²⁹

in vitro testler	in vivo testler
Total T4 (TT4)	Radyoaktif iyot tutulumu (RAIU)
Serbest T4 (FT4)	Tirotropin uyarıcı hormon (TRH)
Serbest T4 İndeksi (FT4i)	TSH uyarı testi
T3 Resin Uptake (T3RU)	T3 supresyon testi
Total T3 (TT3)	
Serbest T3 (FT3)	
Serbest T3 İndeksi (FT3i)	
Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH)	
Serolojik Testler	
Tiroid peroksidaz antikorları (Anti-TPO)	
Antimikrozomal antikor (AMA)	
Anti Tiroglobulin antikorlar (Anti-Tg)	
TSH reseptor antikorları	
Tiroid stimulan immunglobulin (TSİ veya TSAb)	
Tiroid bloke edici antikorlar (TB Ab)	
Tiroglobulin	
Kalsitonin	

2.5.1.1.1.Sensitiv Tiroid Uyarıcı Hormon (sTSH)

Non-izotop immunometrik TSH analizi ile hipertiroidizmdeki en düşük düzeyden sağlıklı popülasyondaki konsantrasyona kadar olan değerler gösterilebilmektedir. Bu nedenle Amerikan Tiroid Hastalıkları Topluluğu 1993 yılında sTSH testini tiroid disfonksiyonu için tek tarama testi olarak önermiştir. Yüksek duyarlılıktaki bu modern analiz tekniği hipertiroidili hastalardaki suprese düzeyler ile ötiroid bireylerdeki normal TSH düzeylerini güvenilir bir şekilde ayırt edip, 0,001 mU/l’ye kadar duyarlı olarak ölçebilmektedir.

Ötiroid durumun sürdürülmesi, kana uygun miktarda tiroksin salınımı ve bunun hipofiz tarafından kontrolü ile gerçekleşir. Hipotalamus-hipofiz eksenini normal çalıştığı sürece TSH düzeyini tiroid hormonunun hipofizdeki etkinliği belirler ve bireylerin ötiroid durumda tutulmasını sağlar. Özellikle FT4 düzeyindeki küçük bir değişim TSH'nın büyük oranlarda artmasına veya azalmasına neden olur.

Tiroid hormonlarının endojen artışlarında görülen düşük TSH, hipofizden TSH sekresyonunun inhibe edilmesine ve hipotalamik TRH sekresyonunun azalmasına bağlıdır. Hipertiroidili hastalarda TSH, duyarlı yöntemle ölçüldüğünde serum TSH'sının baskılandığı belirlenir. Dolayısıyla sTSH hipertiroidizmin tanısını önemli ölçüde kolaylaştırmıştır. sTSH, primer hipotiroidizm ve sublinik hipertiroidizm tanısında, tiroid hormon replasman (hipotiroidizm) ve supresyon tedavilerini değerlendirmede ideal bir testtir. Klinik olarak tiroid disfonksiyonu bulunmadığını gösteren en etkin tek laboratuvar testi sTSH'dır. Tiroid disfonksiyon olasılığı klinik olarak yüksek olan hastalarda eğer hipotiroidizmden şüpheleniliyorsa sTSH ve FT4, eğer hipertiroidizmden şüpheleniliyorsa ek olarak FT3 ya da total T3 düzeylerinin bilinmesi gereklidir^{28,29}.

2.5.1.1.2.Total Tiroksin (TT4)

Serum TT4 düzeyi tiroid fonksiyonunu göstermede çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. TT4 sadece T4 bağlanma anomalilerini göstermede güvenilirdir²⁸.

2.5.1.1.3.Serbest Tiroksin (FT4)

Proteine bağlanmayan bu fraksiyon hücrelere girer ve burada T3'e dönüşür. Aynı zamanda tiroid hormonunun hipofizdeki negatif geri besleme etkisini oluşturur. Klinik olarak hiper ya da hipotiroidizm gibi fonksiyonel tiroid hastalığı bulunan ve diğer hastalıklarla komplike olmamış bireylerde, tüm FT4 testlerinin tanısal kesinliği %90-100 dolaylarındadır^{28,29}.

2.5.1.1.4.Total Triiyodotironin (TT3)

TT3, proteine bağlı ve serbest T3'den oluşur. T3 de en çok TBG'ye bağlanır. TBG düzeyindeki değişiklikler TT3 değerlerinin de değişmesine neden olur. T3, replasman tedavisindeki hastaların izlenmesinde güvenilir bir test

değildir ve tiroid dışı hastalıklarda düzeyi değişebilmektedir. Ancak Graves hastalığında erken rekürrensten şüpheleniliyorsa TT3, TT4'den daha yararlı bir testtir^{28,29}.

2.5.1.1.5. Serbest Triiyodotironin (FT3)

FT3'de TBG'ye bağlı bir değişme yoktur. Hipertiroidili hastalarda FT3 ölçümü yapmak yararlı olmaktadır²⁸.

2.5.1.2. Tiroid Otoantikörleri

Tiroid otoantikörlerinin ölçümü, otoimmün tiroid hastalığı tanısını koymada yardımcı olur. Hipotiroidisi olan veya yaygın guatrı olan hastalarda otoimmün tiroidit tanısını koymak için serum anti-TPO veya daha az duyarlı olan anti-Tg antikörleri kullanılabilir. Eski bir test olan AMA'nın duyarlılığı orta derecededir. Bu antikörler otoimmün tiroidit için tipik olmakla birlikte graves hastalığında da önemli bir oranda saptanmaktadır. TSH reseptör uyarıcı, bağlayıcı ve bloke edici antikörler da bazı durumlarda tesbit edilebilir³⁰.

2.5.2. Görüntüleme Yöntemleri

2.5.2.1. Direkt Grafi

Tiroid bezinin değerlendirilmesinde fazla bir yeri yoktur. İndirekt bulgular yol gösterici olabilir. Başka bir nedenle çekilmiş boyun anteroposterior (AP) ve lateral grafilerde opasite artışı veya posteroanterior (PA) akciğer grafilerinde retrosternal bölgeye uzanan opasite artışı guatrı düşündürebilir. Tiroid lojundaki yumurta şeklinde kalsifikasyon kalsifiye bir kisti, küçük kalsifikasyonlar ise psammoma cisimciklerini düşündürebilir³¹.

2.5.2.2. Ultrasonografi (USG)

Sesin farklı dokularda farklı hızda yayılabilme özelliğinden faydalanılarak yapılan, yüksek frekanslı ses dalgalarının kullanılması ile oluşturulan dinamik bir görüntüleme yöntemidir. Tiroid usg'si cihazın özellikleri ve yapan kişinin deneyimine bağlı olmakla birlikte en fazla bilgi verici radyolojik yöntemdir.

Tiroid, usg olarak her iki ana karotis arter ve juguler ven arasında trakeanın ön ve yanında yerleşmiş, usg'nin gri tonlarında homojen görünümde

ve düzgün sınırları olan bir yapıdır. Amerika standartlarına göre kalınlığının 2 santimetre (cm) üzerinde, Avrupa standartlarına göre de 1,7 cm'nin üzerinde olması durumuna büyümüş tiroid yani guatr denir. Usg tiroidin büyüklüğü, hacmi ve parenkim özelliği hakkında bilgi verir. Büyüme varsa diffüz veya nodüllere bağlı olup olmadığı, nodül varlığında nodülün sayısı, boyutu, eko özelliği ve boyun lenf düğümleri hakkında bilgi verir. Usg'de tesbit edilen nodüller eko yapısına göre solid, kistik ve mikst olmak üzere üçe ayrılır. Parankim ekosu ile aynı ekoda olan nodüller izoekoik, parankimden daha yüksek ekoda olan nodüller hiperekoik, parankimden daha düşük ekoda olan nodüller hipoekoik, kistik yapıda olan nodüller ise ekosuz olup anekoik alan olarak görülürler. Gerçek nodüllerin haricinde subakut tiroiditin son evrelerinde ve Hashimoto tiroiditinde olan psödonodüller de görülebilir. Bunlar sınırları düzensiz ve parankimden net ayıramayan hipoekoik alanlar olarak görülür ve gerçek nodüller ile karıştırılabilirler. Nodüllerin malign-benign ayrımında usg fikir verebilir. İçinde mikrokalsifikasyon ve solid yapı içermeyen, anekoik, kenarları düzenli, etrafında ince hipoekoik halosu olan nodüller genellikle benign olarak değerlendirilebilirken, mikrokalsifikasyonları olan, düzensiz kenarlı, solid yapıdaki nodüllerde de malignite riski fazladır. Nodülün belirgin olarak ekstratiroidal uzanım göstermesi malignite için en önemli bulgulardan biridir³¹.

2.5.2.3.Renkli Doppler Usg

Ses dalgalarını kullanmasının yanı sıra, damar içindeki eritrositlerin akımını, damardaki akım hızı ve damar direnci gibi kriterleride değerlendirir. Tiroid nodüllerinin vaskülarite paterni Lagella sınıflamasına göre üçe ayrılmıştır ve malign-benign ayrımında fikir vericidir. Tip1 akımda nodülde periferik veya santral vaskülarizasyon yoktur. Tip 2 akımda periferik vaskülarizasyon vardır. Tip 3 akımda hem santral hem periferik vaskülarizasyon vardır. Karsinomların %90'ında tip 3 akım görülebilmekle beraber selim nodüllerde de bazen tip 3 akım görülebilmektedir³¹.

2.5.2.4.Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Konjenital anomalilerin belirlenmesinde, karsinom invazyonlarının ve retrosternal guatrın saptanmasında önemlidir.

2.5.2.5. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

Kullanım alanı BT'ye benzer. Multiplanar görüntüleme sağlaması önemli avantajıdır.

2.5.2.6. Tiroid Sintigrafisi

Sintigrafik görüntüleme, radyoaktif maddelerden yayılan ışınların özel tarayıcılarla algılanıp, çeşitli sistemlerden geçirildikten sonra özel bir yazıcı ile film veya kağıt üzerinde çizilen noktacıklar halinde ya da bilgisayar ekranında gösterilmesidir. Gama kameralarla iki boyutlu görüntüleme yapılır. Sintigrafisi tiroidin hem fonksiyonel hem de morfolojik durumu hakkında bilgi verir. Tiroid sintigrafisi yorumlanırken, hastanın anamnezi, fizik muayenesi, tiroid fonksiyon testleri ve usg sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir. Tiroid sintigrafisinde genelde teknesyum-99m (Tc-99m), iyot-123 (I-123) ve iyot-131 (I-131) olarak üç madde kullanılmaktadır. Madde seçimi hastaya ve endikasyona bağlıdır. En ideal madde I-123'tür. Ancak yarıömrü kısadır ve depolanma sorunu vardır. I-131 ise hem tanı hem de tedavide kullanılabilir. En çok kullanılan madde Tc-99m'dir. Bazı özel durumlarda Gallium-67 (Ga-67) ve Tallium-201 (TI-201) de kullanılmaktadır. TI-201 malign ve benign tiroid nodül ayırımında yardımcı olabilir. Normal tiroid sintigrafisinde verilen izotop madde tiroid parankiminde global olarak homojen bir dağılım gösterir. Her iki lob simetrik ve kelebek kanadı şeklinde görünüm verirler. Her iki lobun birleştiği kısım olan istmus ise sıklıkla görülmez. Yine normal sintigrafide tutulum yer yer heterojen olabilir. Nodüler guatlarda görüntü sıcak nodül, soğuk nodül ve ılık nodül olarak adlandırılır. Soğuk (hipoaktif) nodül, radyoaktif izotop hiç tutmaz. Sıcak (hiperaktif) nodülde radyoaktif izotop etraf tiroid dokusundan daha fazla tutulur. Ilık (normoaktif) nodülde ise, etraf tiroid dokusu ile aynı oranda tutulum olur. Malignite insidansları sıcak nodülde %1-2, ılık nodülde %2-8, soğuk nodülde ise %6-20 arasında değişir. Nodül tespit etmede I-131, Tc-99'a göre daha duyarlıdır^{32,33}.

2.5.3. İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi (İİAB)

Nodülün benign-malign ayırımında en iyi yöntem İİAB'dir. İİAB, uygun aseptik yöntemle, hasta uyanık haldeyken yapılan hospitalizasyon gerektirmeyen minör bir işlemdir. Lokal anestezi gerekli olabilir veya olmayabilir.

İİAB, kistik lezyonların boşaltılmasında yararlı olabilir. Tiroid nodüllerinde sitolojik tanı, %95-98 duyarlılık ve % 95 özgünlük ile doğru sonuç vermektedir³⁰.

Usg'de 1 cm'den büyük her nodüle biyopsi yapılmalıdır. Solid hipoeoik ≥ 1 cm veya >5 mm ve risk grubundaki hasta veya şüpheli usg bulguları olan nodüller biyopsi gerektirir. Saf kistik nodül biyopsi gerektirmez, çok büyükse kist boşaltılmalıdır. Multinodüler vakalarda, en büyük nodül ve usg olarak şüpheli diğer nodüllerden biyopsi alınmalıdır. Çocukluk ve adolesan dönemde boyuna radyoterapi alanlar, iyonize radyasyona maruz kalanlar (nükleer kazalar, sızıntılar), birinci derece akrabalarında papiller tiroid kanseri (PTK), medüller tiroid kanseri (MTK) veya MEN 2 (multiple endokrin neoplazi 2) olanlar, daha önce kanser nedeniyle tiroid cerrahisi geçirenler ve yüksek kalsitonin düzeyi saptananlar risk grubu hastalardır ve nodül boyutu ne olursa olsun biyopsi yapılmalıdır. Sintigrafide görülen sıcak nodüllere biyopsi uygulanmamalıdır³⁴.

2.6.Tiroid Kanseri

2.6.1.Onkogenezi

Folikül hücrelerinin uyarılara cevap olarak büyüme (hipertrofi) ve çoğalma (hiperplazi) yetenekleri vardır. Büyüme uyarısı iyot yetersizliğine bağlı TSH artışı, büyüme uyarıcı immunglobulinler ve diğer bazı büyüme uyarıcı faktörlerden gelebilir. Büyüyen tiroid dokusuyla da nodül gelişimi arasında hemen hemen değişmez bir ilişki vardır. Büyüme ve nodül gelişimini uyarıcı en önemli faktör olan TSH'nın normal olduğu vakalarda nodül gelişimi farklı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Burada kalıtsal olarak veya genetik mutasyonlarla bazı tiroid hücrelerinin TSH etkisine daha fazla duyarlılık kazanması nodül gelişiminde sorumlu tutulmuştur. Tiroid hücrelerinin büyümeleri birçok hormon, nörotransmitter ve büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir. Bu faktörlerin hücredeki özgül reseptörlere bağlanmaları hücre içi sinyal aktarım sistemlerinin aktivasyonuna neden olur. Hücre içi sistemlerden ilki adenilat siklaz (AS)-siklik adenosin monofosfat (cAMP)-protein kinaz A (PKA), diğerleri ise fosfolipaz C (PLC)-protein kinaz C (PKC) ve büyüme faktörü-tirozin kinaz (TRK) sistemleridir^{35,37,38}.

Tiroid hücrelerinin büyüme ve fonksiyonlarını uyarıcı en önemli faktör TSH olup, TSH'nın hücre membranındaki TSH reseptörlerine bağlanması AS ve

PLC sistemlerini aktive eder. TSH reseptörlerinde oluşacak nokta mutasyonlar reseptörlerin ligandan bağımsız olarak uyarılmasına yol açar. Buna bağlı olarak da ailesel hipertiroidizm ve hiperfonksiyone tiroid adenomları ortaya çıkabilir^{20,35}.

Vücuttaki diğer hücrelerde olduğu gibi tiroisitlerin yaşam döngüsü de hücre bölünmesi, farklılaşması ve ölümü (apoptozis) şeklindeki aşamalardan oluşur. Bu döngü bazı proteinler tarafından yönetilir. Bu proteinleri kodlayan genlere protoonkogenler, tümör supressör genler ve mutator genler adı verilir³⁹.

Proto-onkogenler, biyolojik olayların önemli düzenleyicisidirler. Proto-onkogenler nokta mutasyonu ile onkogen haline gelirler. Sinyal transdüksiyon sisteminde oluşan mutasyonlar bu proto-onkogenleri onkogene dönüştürür. Onkogenler anormal ve kontrol edilemeyen hücre çoğalmasına yol açarlar^{35,38,40}.

Tümör supresör genler ise normalde hücre bölünmesini önleyen ve hücrenin apoptozise gitmesini sağlayan proteinleri kodlarlar. Bu genlerde oluşan nokta mutasyonlar sonucu genin proteinleri düzenleyici fonksiyonları bozulur⁴⁰.

Mutator genler ise bölünme sırasında olan mutasyonları düzeltirler. Her hücrede bölünme sırasında yaklaşık 6000 spontan mutasyon olmaktadır. Bu mutasyonların %99'dan fazlası DNA onarım sisteminde bulunan bir grup mutator genin eksprese ettiği proteinler tarafından hemen düzeltilir. Bu genlerdeki mutasyon sonucu ise hücrelerdeki mutasyon hızı artar⁴⁰.

Tiroid tümörlerinin oluşumunda ras, ret, gsp, TRK, PTC, TSH-reseptör onkogenleri ve p53 tümör supresör geninin rol oynadığı gösterilmiştir³⁵.

Gerek proto-onkogenler gerekse tümör supresör genlerin kodladığı proteinler; sinyal proteinleri, sinyal reseptör proteinleri, hücre içi sinyal aktarımını sağlayan proteinler, transkripsiyon faktörleri ve diğer düzenleyici proteinler olarak ayrılabilir.

2.6.1.1.Sinyal Proteinleri

TSH'nın tiroisitler üzerindeki etkisi bifazik olup düşük konsantrasyonlarda stimulan etki, yüksek konsantrasyonlarda ise inhibitör etki gösterir.

TSH-R → AS → cAMP → PKA yolunda TSH'nın uyardığı AS aktivitesi, tiroid neoplazmlarında normal dokuya göre fazladır³⁷. Diğer sinyal proteinlerinden en önemlisi bir antikor olan tiroid uyaran immunoglobulinlerdir (TSİ veya TSAb).

TSİ, bir otoimmün hastalık olan Graves hastalığında, B lenfositlerdeki genlerin mutasyonu sonucu kodlanmaktadır. TSİ, tirositlerde TSH-R reseptörüne bağlanarak, TSH sinyal yolunu aşırı uyarır ve sonuçta diffüz toksik guatr gelişir. Bazı Graves hastalıklı olgularda, TSİ uyarımına bağlı tiroid kanseri gelişebileceğini bildirmişlerdir. Büyüme faktörlerinden EGF (epidermal büyüme faktörü) de tiroid hücrelerinde reseptörlere sahiptir ve diferansiye tiroid kanserleri normal tiroid dokusuna göre EGF'yi daha çok bağlar. EGF, bazı tiroid kanserlerinde büyüme ve invazyonu arttırıcı etkiye sahiptir⁴⁰.

2.6.1.2.Sinyal Reseptör Proteinleri

Tiroid hücresinde, sinyal aktarım sistemlerinin aktive olabilmesi için uyarıların, bazal membranda bulunan reseptörlere bağlanması gerekir. Tiroid onkogenezinde rol oynayan en önemli reseptörler, TSH-R ve TRK reseptörleridir^{41,42}. C-met onkogeni, reseptörlerin tirozin kinaz kısmını kodlamaktadır. Tiroid tümörlerinde bu onkogenin fazla ekspresyonu saptanmıştır. TRK geninin yeni adı NTRK1 olup, reseptörün tirozin kinaz kısmını kodlar. TRK aktivasyonuna bazı tiroid kanserlerinde rastlanmasına karşın prognostik faktör olarak kullanılabilmesi için elde yeterli veri yoktur. Ret protoonkogeni tirozin kinaz aktivitesini arttıran ret reseptörünü kodlar. Bu gendeki nokta mutasyonlar, ailevi medüller tiroid kanserlerinde, MEN-2B, MEN-2A sendromlarında ve Hirschsprung hastalığında görülür. PTK'da ret/PTK olarak adlandırılan ret protoonkogen aktivasyonunun genel ortalaması %16 olarak bildirilmiştir. PTK'da en sık saptanan protoonkogen ret/PTK1'dir^{38,40}.

2.6.1.3.Hücre İçi Sinyal Aktarım Proteinleri

Gsp genindeki mutasyon sonucu onkogen hale gelen Gs proteininin kontrolsüz aktivitesi sonucu cAMP yapımı artar. Bu yolla çekirdeğe gelen sinyaller tirositlerde proliferasyon ve fonksiyon artışına yol açar. Diğer bir deyişle sıcak nodül gelişebilir. Bu mutasyonun görülme oranı yaklaşık %30'dur. Gsp gen mutasyonları, tiroidin hipofonksiyonel adenom ve karsinomlarında da ortaya çıkabilmektedir. Ras proteininin, tirozin kinaz sisteminde, hücre içi sinyal aktarımında önemli rolü mevcuttur. Nokta mutasyonu sonucu tirositlerde artan cAMP hücre bölünmesini uyarır. Tiroidin adenom ve folliküler karsinomlarında mutant K-ras, hiperplazi ve papiller karsinomlarında mutant H-ras ekspresyonu

fazladır^{38,40,41,43,44}. Sinyal aktarımının çekirdeğe ulaşması sonucu burada bulunan transkripsiyon faktörleri aktive edilir. Tiroid onkogeninde rol oynayan en önemli transkripsiyon faktörleri aynı isimli protoonkogenlerce eksprese edilen myc, jun, fos proteinleridir. Bu protoonkogenlerde oluşan mutasyonlar sonucu, düzenleyici proteinlerin aşırı üretimi olmakta ve neoplazi ile sonuçlanmaktadır. Diğer bir transkripsiyon faktörü olan p53 proteinini kodlayan p53 geni, aynı zamanda bir tümör supresor gendir. Bu protein hücre homeostazisinde önemli rol oynar. Hasarlı DNA'nın onarılmasında ve hücrelerin apoptozisini düzenleyici etkileri vardır. Genin nokta mutasyonlarında bu protein inaktive olur. Özellikle anaplastik ve kötü diferansiye tiroid kanserlerinde bu mutasyonlara sık rastlanır^{38,43,45,46}.

Retinoblastom geni (Rb), 13q kromozomunda yerleşir ve hücre döngüsünü kontrol eder. Tiroid karsinomlarının yaklaşık %55'inde Rb alellerinde mutasyon saptanmıştır. 5q21 kromozomunda bulunan APC (adenomatöz polipozis koli) genindeki germinal mutasyon ailevi polipozis koli'ye neden olur. Rolü tam olarak bilinmemekle birlikte ailevi polipozisli (Gardner sendromu) hastalarda tiroid kanser insidansı artmış olarak bulunmuştur^{32,36}. Tiroid neoplazisindeki genetik değişiklikler Tablo-2 de gösterilmiştir.

2.6.2.Tanım ve Epidemiyoloji

Tiroid dokusu histolojik olarak folliküler ve parafolliküler hücre tipinden oluşur. Folliküler hücreler, iodini konsantre edip tiroid hormon üretiminin yapıldığı alanlardır. Follikül hücreleri iyi diferansiye kanserlere ve anaplastik tiroid kanserlerine dönüşebilir. Parafolliküler veya C hücreleri, kalsitonin hormonu üretirler ve medüller tiroid karsinomunun orjinini oluştururlar. Lenfoma ve sarkom oluşumundan ise immun ve stromal hücreler sorumludur. Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl 33.500 yeni tiroid kanseri vakası tanımlanmaktadır. Bu vakaların yaklaşık olarak %90'ı iyi diferansiye kanserler, %5-9'u medüller, %1-2 anaplastik, %1-3'ü lenfoma, %1'den azı sarkom ve diğer nadir tümörlerden oluşmaktadır⁴⁷. Tiroid karsinomları en sık görülen endokrin karsinomdur⁴⁸. İyi diferansiye tiroid karsinomlar; papiller, folliküler ve ikisinin değişik oranlarda karışımından oluşan papiller folliküler mikst tümörlerdir.

Tablo 2: Tiroid Neoplazisindeki Genetik Değişiklikler²³

Gen/protein	Gen tipi	Kromozom. lokasyonu	Genetik anormallik	Hastalık
TSH reseptörü	GPCR reseptörü	14q31	Nokta mutasyon	Toksik adenom, diferansiyel karsinomlar
Gsa	G protein	20q13.2	Nokta mutasyonu	Toksik adenom, diferansiyel karsinomlar
RET/PTK	Reseptör tirozin kinaz	10q11.2	Yeniden düzenleme PTK1: inv(10)q11.2q21 PTK2: t(10,7)(q11.2;q23) PTK3: -ELE1/TK	PTK
RET	Tirozin kinaz reseptörü	10q11.2	Nokta mutasyon	MEN2, medüller tiroid kanseri
TRK	Tirozin kinaz reseptörü	1q23-24	Yeniden düzenleme	Multinodüler guatr, papiller tiroid kanseri
RAS	Sinyal transdüksiyon, p21	Hras, 11p15.5 Kras, 12p12.1 Nras, 1p3.2	Nokta mutasyon	Diferansiyel tiroid karsinomu, adenomlar
P53	Tümör supresör, Hücre siklus kontrolü, apoptozis	17p13	Nokta mutasyon, Delesyon, insersiyon	Anaplastik kanser
APC	Tümör supresör, adenomatöz poliposis coli geni	5q21-q22	Nokta mutasyon	Anaplastik kanser ayrıca familial poliposis coli ile ilişkili
P16	Tümör supresör, hücre siklus kontrolü	9p21	Delesyon	Diferansiyel tiroid karsinomu
P21/WAF	Tümör supresör, hücre siklus kontrolü	6p21.2	overekspresyon	Anaplastik kanser
MET	Tirozin kinaz reseptörü	7q31	overekspresyon	Foliküler tiroid kanseri
c-MYC	Tirozin kinaz reseptörü	8q24.12-13	overekspresyon	Diferansiyel tiroid karsinomu
PTEN	Fosfataz	10q23	Nokta mutasyon	Cowden sendromunda PTK
Heterozigotluğun kaybı (LOH)	Tümör supresörleri	3p; 11q13	delesyonlar	Diferansiyel tiroid karsinomları, anaplastik kanser
PAX8-PPARγ1	Transkripsiyon faktör, nükleer reseptör füzyon	T(2;3)(q13;p25)	translokasyon	Foliküler adenom veya karsinom

Papiller folliküler karsinom kombinasyonunda hastalığın prognostik özellikleri genellikle papiller karsinomla uyumlu olmaktadır. İyi diferansiye tiroid karsinomlarının diğer grubu Hürtle hücreli veya onkositik karsinomdur. İyi diferansiye tiroid karsinomlarının dağılımı %80-85 papiller, %10-15 folliküler, %3-5 Hürtle hücreli karsinomlardır. Klinisyenler ve patoloğlar tarafından kullanılan sınıflama iyi, orta ve kötü şeklinde diferansiasyon derecesine göre yapılan sınıflamadır. Diferansiasyon derecesine göre tiroid karsinomlarının sınıflandırılması Tablo-3'de belirtilmiştir⁴⁷.

Tablo3: Diferansiasyon Derecesine Göre Tiroid Karsinomlarının Sınıflandırılması⁴⁷

İyi Diferansiye	Orta Diferansiye	Kötü Diferansiye (Yüksek gradeli malignensi)
<ul style="list-style-type: none"> -Klasik papiller tiroid karsinomu -Mikrokarsinom <1cm -Papiller tiroid karsinomun follikuler varyantı -Klasik folliküler tiroid karsinomu -Hürtle hücreli (oksifilik, onkositik) karsinomlar 	<ul style="list-style-type: none"> -Medüller tiroid karsinomu -Papiller tiroid karsinomun sklerozan varyantı -Insular Karsinom -Papiller karsinomun uzun hücreli varyantı 	<ul style="list-style-type: none"> -Anaplastik (Andiferansiye) karsinoma

2.6.3.Etyoloji ve Risk Faktörleri

Çocukluk döneminde radyasyon maruziyeti diferansiye tiroid karsinomu gelişiminde en önemli risk faktörüdür. Radyasyona maruziyet şekilleri, medikal olarak çocukluk döneminde tedavi nedeniyle olabileceği gibi atom bombası veya nükleer kazalar sonucu da olabilmektedir⁴⁹. Çocukluk döneminde timik bölgeye radyasyon alan adölesan dönemde akne nedeniyle veya Hodgkin lenfoma tanısıyla radyoterapi alan çocuklarda görülme sıklığı artmıştır^{50,51}. Radyasyona maruziyet sonucu gelişen papiller tiroid karsinomu daha agresif ve nüks etmeye eğilimli olmakla birlikte prognozu diğer papiller karsinomlardan farklı değildir⁵². Diyetel faktörler, seks hormonları, çevresel maruziyet, genetik faktörler gibi radyasyon maruziyeti dışındaki faktörler üzerinde çalışılmış fakat karışık sonuçlar saptamış net korelasyon gösterilememiştir. İyottan yoksun diyetler veya iyot alımını bloke eden sebzelerden oluşan diyetler TSH'yı stimüle ederek guatrojenik rol oynar. Kabuklu deniz hayvanları tüketimi ve dolayısıyla iyot alımı fazla olan ülkelerde papiller tiroid kanseri fazla görülmektedir. Ancak

son zamanlarda yapılan çalışmalarda balık tüketiimi ile tiroid kanseri arasında ilişki saptanmamıřtır⁵³. Epidemiyolojik çalışmalarda birinci derece akrabalarında tiroid kanseri olan hastalarda tiroid kanseri gelişmesinde 4-10 kat artış saptanmıştır. Tiroid kanseri, papiller renal neoplazi ile birlikte olan papiller tiroid karsinomu, familyal nonmedüller tiroid karsinomu, hücre oksifilisi ile birlikte olan familyal tiroid karsinomu, familyal adenomatöz polipozis, Cowden (Multipl Hamartom) sendromu gibi genetik geçişli bazı ailevi hastalıklarla birlikte görülebilir^{47,54}.

2.6.4.Evreleme

Tiroid kanserlerinde papiller, folliküler, medüller ve anaplastik gibi birbirinden oldukça farklı histolojik tipler olmakla birlikte evreleme sistemlerini etkileyen önemli özellikler bulunmaktadır. Medüller ve anaplastik tipler önemli ölçüde farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar histolojik tip, klinik seyir, tiroid dışı yayılım ve toplam sağkalım ile ilişkilidir⁵⁵⁻⁵⁷. Prognoz tayininde yaş oldukça önemli olup 45 yaş altı iyi prognoz ile ilişkilidir. Bu yaş altındaki papiller ve folliküler tiroid karsinomlu hastalar TNM sisteminde sadece Evre I ve II'ye dahil edilebilir⁵⁸. 1965–2005 yılları arasında birbirine benzer özellikler bulunduran ve evrensel olarak kabul edilen TNM evreleme sistemi de dahil olmak üzere çok sayıda prognostik faktörler, risk grupları ve skorlama sistemleri tanımlanmıřtır⁵⁹.

European Organization for Research on Treatment of Cancer (EORTC), 1979 yılında multivaryasyon analizine dayanan prognostik indeks tanımlanmıştır. Farklı biyolojik davranışları olan diferansiye, medüller ve anaplastik kanserler beraber değerlendirildiği için bu sistem yaygın biçimde kullanılmamıştır. Bu sınıflamanın değişkenleri; yaş, cinsiyet, histolojik tip, anaplastik karsinom varlığı, tümör stage ve metastatik odaklardır⁶⁰. 1987'de Mayo Kliniği'nden Hay ve ark tarafından önerilen AGES sisteminde; yaş (Age), derece (Grade), yaygınlık (Extension) ve tümör büyüklüğü (Size) kullanılmıřtır⁶¹. 1988'de Lahey kliniğinde Cady ve Rossi'nin tanımladığı AMES sisteminde; yaş, metastaz, yaygınlık ve tümör büyüklüğü (Age, Metastaz, Extension, Size) kullanılmıřtır⁶². AGES sistemine alternatif olarak MACİS sınıflamasında ise metastaz, yaş, rezeksiyonun yeterliliği, invazyon, tümör büyüklüğü kriterleri bulunmaktadır⁶³. Tablo 4'de EORTC, AGES, AMES ve MACIS evreleme sistemlerinin risk hesaplama metotları ve sağkalım oranları verilmiştir. Hastalar

bu sınıflamalara göre preoperatif olarak değerlendirildikten sonra yine aynı kriterler göz önünde bulundurularak postoperatif olarak tekrar değerlendirilmelidir. Diferansiye tiroid kanserli tüm hastaların bu sınıflama sistemlerine göre nüks riskleri hesaplanmaktadır^{64,65}. TNM sınıflamasında; tümör boyutu ve çevreye invazyonu, lenf bezi tutulumu, metastaz varlığı bulunmaktadır. TNM skora sistemi kurumlar arası tiroid kanser olgularını klinik ve patolojik açıdan karşılaştırmak için uygulanan bir yöntemdir. TNM evrelemede üç ana histopatolojik tipe göre ayrı evrelendirme yapılmıştır. American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından 2002 yılında yapılan altıncı revizyonda diferansiye karsinomlarda 45 yaş baz alınarak hastanın yaşına göre evreleme sistemi düzenlenmiştir⁵⁸. En son 2010 yılında yapılan yedinci revizyonda T1, T1a ve T1b olarak ikiye ayrılıp; rezeke edilebilir tanımı ılımlı ilerlemiş, rezeke edilemez tanımlanması çok ilerlemiş olarak değiştirilmiştir ve MTK için T3N0M0 Evre III'den Evre II'ye indirilmiştir. AJCC'nin 7.revizyon TNM kılavuzundaki "T", "N", "M" tanımları ve evreleme grupları sırası ile Tablo 5 ve Tablo 6'da verilmiştir⁶⁶. Bu son revizyon da dahil olmak üzere MTK için önemli prognostik faktörler mevcut değildir. Yaş değerlendirmeye alınmamıştır halbuki 40 yaş öncesi MTK tanısı almış hastalarda 5 ve 10 yıllık sağ kalımlar sırası ile %95 ve %75 iken; 40 yaş sonrası sırası ile %65 ve %50'dir^{67,68}.

Tablo 4: Tiroid Kanserlerinde EORTC, AGES, AMES ve MACIS Evreleme Sistemlerinin Risk Hesaplama Metotları ve Sağkalım Oranları^{60,61,62,63}

Evreleme sistemi Orijinal Ad/ Kısaltma	Risk hesaplama	Toplam sağkalım	Risk grupları
European Organizatin for Research and Treatment of Cancer (EORTC)	Toplam skor: Hastanın yaşı +12 (erkek) +10 (az diferansiye FTK) +15 (kapsül invazyonu +) +15(bir uzak metastaz +) +30(iki veya fazla uzak metastaz +)	5 yıllık sağkalım %95 %80 %51 %33 %5	Grup 1:<50 Grup 2: 50-65 Grup 3:66-83 Grup 4: 84-108 Grup 5 : >108

Tablo 5:Tiroid Karsinomları TNM Evreleme Sistemi (AJCC, 2010)⁶⁶

TNM evreleme
<p><u>Primer tümör (T) tüm sınıflar soliter (s) ve multifokal (m) olarak ayrılabilir.</u></p> <p>Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor</p> <p>T0: Primer tümöre ait kanıt yok</p> <p>T1: Tiroid ile sınırlı en büyük çapı 2 cm ve altı tümör</p> <p>T1a: Tiroid ile sınırlı 1 cm ve altı tümör</p> <p>T1b: Tiroid ile sınırlı 1 cm üzeri, 2 cm ve altı tümör</p> <p>T2: Tiroid ile sınırlı 2 cm üstü, 4 cm ve altı tümör</p> <p>T3: Tiroid ile sınırlı 4 cm ve altı tümör veya minimal tiroid dışı yayılım (sternotiroid kasa veya peritiroid yumuşak dokuya yayılım gibi)</p> <p>T4a: İlimli ilerlemiş hastalık (herhangi bir boyuttaki tümörün tiroid kapsülü dışına çıkarak subkütan yumuşak dokuya, larinkse, trakeaya, özafagusa veya reküren laringeal sinire yayılımı)</p> <p>T4b: Çok ilerlemiş hastalık (tümörün prevertebral fasyaya yayılımı/ve ya karotid arter /mediastinal damarları kapaması)</p>
<p><u>Tüm anaplastik kanserler T4 olarak kabul edilir.</u></p> <p>T4a: İntratiroidial anaplastik karsinom</p> <p>T4b: Belirgin tiroid dışı yayılımla anaplastik karsinom</p>
<p><u>Bölgesel lenf nodları (N)</u></p> <p>Nx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor</p> <p>N0: Bölgesel lenf nodlarında metastaz yok</p> <p>N1: Bölgesel lenf nodlarında metastaz var</p> <p>N1a: Seviye 6 de metastaz (pretrakeal, paratrekeal, prelaringeal/delfian lenf nodları</p> <p>N1b: Unilateral, bilateral, kontralateral servikal (seviye 1,2,3,4,5) veya retrofarengial veya üst mediastinal (seviye 7) lenf nodlarına metastaz</p>
<p><u>Uzak yayılım (M)</u></p> <p>M0: Uzak metastaz yok</p> <p>M1: Uzak metastaz var</p>

Tablo.6 TNM Sınıflamasının Evre Grupları (AJCC, 2010)⁶⁶

Evre	Histopatolojik tip		
	Papiller/foliküler (<45 yaş)	Medüller	Anaplastik
Evre I	T ve N ye bakılmaz M0	Yaş gruplaması yok.	Yaş gruplaması yok. Tüm anaplastik karsinomlar evre IV kabul edilir.
Evre II	T ve N ye bakılmaz M1		
	Papiller /foliküler (≥45 yaş)		
Evre I	T1N0M0	T1 N0M0	
Evre II	T2N0 M0	T2 N0M0 T3N0M0	
Evre III	T3N0M0 T1N1a M0 T2N1a M0 T3N1a M0	T1N1aM0 T2N1aM0 T3N1aM0	
Evre IVA	T4a N0M0 T4aN1a M0 T1N1b M0 T2N1b M0 T3N1b M0 T4a N1b M0	T4a N0M0 T4aN1a M0 T1N1b M0 T2N1b M0 T3N1b M0 T4a N1b M0	T4a herhangi N M0
Evre IVB	T4b herhangi N M0	T4b herhangi N M0	T4b herhangi N M0
Evre IVC	T ve N'e bakılmaz M1	T ve N'e bakılmaz M1	T ve N'e bakılmaz M1

2.6.5.Tiroid Karsinomu Sınıflaması

2.6.5.1.Papiller Tiroid Karsinomu

Papiller karsinom (PTK) tiroid kanserleri içinde %80'lık bir oranla en sık görülenidir²⁰. Etiolojide eksternal radyasyonun önemli bir rolü vardır. Radyasyonla karşılaşmayı takiben beşinci yıldan itibaren en çok da 10-25 yıl sonra görülmektedir. Radyasyona maruz kalmış kişilerin yaklaşık olarak %10'nunda tiroid kanseri gelişmektedir. ABD'de selim hastalıklar nedeniyle boyunlarına radyasyon uygulanmış hastalarda yıllar içinde gelişen tiroid adenom ve karsinom vakaları bildirilmiştir⁶⁹⁻⁷². Papiller tiroid karsinomlarının çeşitli patolojik alt tipleri mevcuttur⁴⁷. Folliküler varyant, PTK'nın %10 oranında en sık görülen varyantıdır. Bu tümörler küçük-orta boyutta folliküler yapılar içerirler. Sitolojik olarak tipik papiller karsinom özellikleri sergilerler. Hipodens kromatin içeren üst üste binmiş geniş nükleuslar, nükleer psödoinklüzyonlar ve psammoma cisimcikleri içerirler. Folliküler varyant klasik papiller karsinomdan daha küçüktür, bölgesel lenf nodu metastaz riski daha düşüktür. Ancak genel sağkalım ve rekürrens oranları aynıdır^{73,74}. Uzun hücreli varyant, klasik papiller tipten çok daha agresiftir. Papiller kanserlerin yaklaşık %1'i kadardır. Primer tümör boyutu daha büyüktür, daha invazivdir, tanı anında lokal ve uzak metastaz yapmıştır⁴⁷. Papiller mikrokarsinom, bir cm altındaki kitlelere mikrokarsinom adı verilir. Prognozu iyidir. Diffüz Sklerozan Tip, çocuk ve genç yaş grubunda daha sık görülür. Yaygın yassı hücreli metaplazi, skleroz alanları, çok sayıda psammoma cisimcikleri ve yaygın lenfositik infiltrasyon görülür. Ekstratiroid yayılım ve uzak metastaz çok görüldüğü için agresif bir alt tiptir⁴⁷. Kolumnar tip, bu alt tipte belirgin köşeli hücreler görülür. Erkeklerde daha sık olup %90 oranında uzak metastaz yapar⁴⁷.

2.6.5.2.Folliküler Tiroid Karsinomu

Tiroid epitelinin iyi diferansiye tümürüdür. Papiller tiroid kanserinden sonra ikinci sıklıktadır. Histolojisi; folliküler gelişim ve kolloid olan iyi diferansiye epitelyumdan, folliküllerin olmadığı solid büyüme gösteren belirgin nükleer atipisi olan geniş vasküler ve/veya kapsüler invazyonun olduğu kötü diferansiye forma kadar değişim göstermektedir⁷⁵. Diğer diferansiye tiroid kanserlerine göre daha yaşlı popülasyonda gözlenir. Sıklıkla 40-60 yaşları arasında pik yapar;

papiller tiroid karsinomuna göre daha geç bir piktir. Folliküler tiroid kanseri kadınlarda erkeklere göre üç kat daha fazladır⁷⁶.Kapsüler invazyon durumuna göre iki büyüme paterni gösterir. Minimal invaziv folliküler kanser, vasküler invazyon olmaksızın tümör kapsülüne mikroskobik penetrasyon gösterir. Geniş invaziv folliküler kanser ise tümör kapsülünü geçerek damarlara ve çevre tiroid parankime yayılır^{75,77}. Daha az sıklıkla gözlenen patolojik tipler folliküler karsinomun varyantları olarak adlandırılmaktadır. Hürtle hücreli karsinom, Dünya Sağlık Örgütü tarafından folliküler karsinomun varyantı olarak sınıflandırılmaktadır. Bu varyant onkosit denilen hücre popülasyonunu içermektedir. İnsular tiroid karsinomu, folliküler tiroid karsinomunun alt tipi olarak sınıflandırılmaktadır ve kötü diferansiasyon, agresif klinik davranış göstermekle birlikte kötü prognoza sahiptir⁷⁸.

2.6.5.3.Medüller Tiroid Karsinomu

Meduller tiroid karsinomu (MTK), parafolliküler C hücrelerinin malign lezyonu olup tüm tiroid malignitelerinin yaklaşık %10'unu oluşturur. Herediter ve sporadik olmak üzere iki klinik formu bulunmaktadır. Herediter formu, MEN-2 sendromunun bir parçasıdır veya ailevi non-MEN formu olabilir. MTK'da kalsitonin düzeylerinin ölçülmesinin iki ana nedeni vardır. Birincisi, serum kalsitonin düzeyi tanıyı destekler. Palpe edilebilen tiroid tümörü varlığında, bazal kalsitonin konsantrasyonu çoğunlukla 1000 pg/l'den fazladır. Tümör büyüklüğü ve bazal kalsitonin konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır. İkincisi, cerrahi öncesi bazal kalsitonin düzeyini saptayarak postoperatif dönemde cerrahinin yeterliliğini, yerel yenilemeyi veya metastazları değerlendirmek açısından önemlidir. Sporadik ve herediter MTK arasında yaşam süresindeki farklılıklar, tümörün biyolojik davranışındaki kalıtsal farklılıklara değil hastalığın yakalandığı evreye bağlıdır. Serum kalsitonin, CEA düzeyleri, DNA plöidisi ve somatostatin immünohistokimyası prognozla korelasyon gösterir⁷⁹.

2.6.5.4.Anaplastik Tiroid Karsinomu

Anaplastik tiroid kanseri tiroid folliküler epitelinden kaynaklanan diferansiye olmamış tümördür. Diferansiye tiroid kanserlerinin aksine, anaplastik

kanserler aşırı agresif özellik göstermekle birlikte hastalığa özel mortalite %100'e yakındır.

2.6.5.4.1.Epidemiyoloji ve Moleküler Biyoloji

Anaplastik tiroid karsinomu, tüm tiroid kanseri vakalarının %2-5'ini oluşturur. Diferansiye tiroid kanserlerine göre başlama yaşı daha geç olup ortalama tanı yaşı altmışbeşdir. Hastaların yaklaşık %10'u elli yaş altındadır ve %60-70 oranında kadınlarda daha sık görülmektedir⁸⁰. Vakaların yaklaşık %20'sinde öncesinde diferansiye tiroid kanseri öyküsü bulunmaktadır ve %20-30'unda da diferansiye tiroid kanseri eşlik etmektedir. Geniş tiroid operasyonu uygulananlarda bu oran artmaktadır^{1,81-85}. Anaplastik kansere çoğunlukla papiller kanser eşlik etmekle birlikte, foliküler kanser de eşlik edebilmektedir. Hürtle hücreli kanserlerin %10'unda anaplastik kanser odağı saptanmıştır⁸⁶. Bu bulgular anaplastik tiroid kanserinin, diferansiye tiroid kanserlerinden dediferansiye olaylar zemininde geliştiği hipotezini desteklemektedir⁸⁷. Hastaların yarısında multinodüler guatr öyküsü ve bunların bir kısmında da guatrdan dolayı parsiyel tiroidektomi öyküsü bulunmaktadır.

BRAF ve RAS mutasyon aktivasyonu hem diferansiye hem de anaplastik tiroid kanserlerinde görülmektedir⁸⁸. Bunun dışında diferansiye tümörlerden ziyade anaplastik tümörlerde oluşan p53 tümör supresör proteini, 16p, katenin (cadherin-associated protein), beta1 ve PIK3CA mutasyonları görülmektedir^{89,90}. Anaplastik tiroid kanseri hastalarında %70 oranıyla en sık rastlanan mutasyon p53 gen mutasyonudur. Vakaların yaklaşık olarak %50'sinde RAS ve B-katenin mutasyonları görülmektedir. Hastaların sadece %20'sinde ise BRAF mutasyonu saptanmıştır. Diferansiye veya medüller tiroid kanserleri ile anaplastik tiroid kanseri arasındaki farklı genomik profiller, tümörün yüksek agresif gidişi ile ilişkili olabilmektedir. Aynı zamanda, yüksek vaskülaritenin histolojik göstergelerinden birisi olan VEGF aşırı sunumu, tümör genişliği, lenf nod ve uzak metastaz varlığı ile ve böylece hastalık evresi ile ilişkili bulunmaktadır. Anaplastik tiroid kanseri vakalarında VEGF gibi EGFR aşırı sunumu da bulunmakla birlikte, EGFR'nin tümörün kliniğine ve biyolojik davranışlarına etkisi tam olarak bilinmemektedir⁹¹.

2.6.5.4.2.Prezentasyon

Anaplastik karsinomlu hastaların neredeyse tamamı tiroide kitle ile prezente olurlar. Rejyonel hastalık veya uzak yayılımının olduğu, vakaların %90'ında tanı anında bilinmektedir^{1, 84, 85, 92}. Peritirooidal yağ ve kas dokusu, lenf nodlar, larinks, trakea, özefagus, tonsil, boynun büyük damarları ve mediastenum rejyonel tutulum alanlarıdır. Hastaların %15-50'sinde prezentasyon şekli uzak yayılım olabilmektedir. En sık uzak metastazın yapıldığı organ %90 oranıyla akciğerlerdir. Akciğer metastazları daha çok intrapulmoner kitle olarak görülmekle birlikte plevral yayılım da olmaktadır^{82, 83}. Akciğer dışında %5-10 oranında kemik, %5 oranında beyin, daha az oranda da deri, karaciğer, böbrek, pankreas, kalp ve adrenal bezler metastaz alanlarıdır^{6-8, 22-26}. Hastaların az bir kısmı da tiroide saptanabilir kitle olmadan metastatik hastalık ile prezente olmaktadır⁸⁵.

2.6.5.4.3.Klinik bulgular

Hastaların %85'inde ilk semptom boyunda hızlı büyüyen kitledir. Bu kitlesel büyüme boyunda ağrı ve hassasiyete yol açar. Üst hava yolu ve özefagusa basıdan dolayı disfaji (%30), dispne (%35), ses kısıklığı (%25), öksürük (ara ara hemoptizi %25) görülür. Daha nadir semptomlar arasında metastazlardan dolayı göğüs ağrısı, başağrısı, konfüzyon, kemik ağrısı, karın ağrısı görülmektedir⁹³. Fizik muayenede çoğu hastada bilateral asimetric tiroid büyümesi görülür. Nodüller sert ve hassastır⁸⁵. Hastaların daha az bir kısmında da soliter nodül veya diffüz non-nodüler guatr bulunmaktadır. Guatr çevre dokulara yapıştığı için yutkunma ile hareket etmez. Tanı anında tümör 5 cm'den büyüktür ancak sınırları net olmadığı için net uzunluğunu ölçmek zordur. Diğer bulgular arasında, trakea invazyon veya kompresyonundan dolayı stridor, trakeal deviasyon ve vokal kord paralizi; retrosternal büyümeden dolayı venöz dilatasyon ve süperior vena kava sendromu bulunmaktadır.

2.6.5.4.4.Tanı

Tanı sitolojik inceleme ile konur. Sitolojik örnek alınırken, medüller tiroid kanseri, kötü diferansiye tiroid kanseri, lenfoma, melanom ve sarkom gibi anaplastik kanserlere benzeyen diğer kanser türleri ile karıştırılmaması için ince iğne aspirasyon biyopsisi yerine kor biyopsi tercih edilmelidir. Anaplastik kanserler nadir olarak TTF-1 ve tiroglobulin ile pozitif boyanırlar. PAX-8 ile

sıklıkla pozitif boyanırlar. Patolojik tanısı zor olduğu için klinik korelasyon önemlidir. Çoğu hastanın serum tiroid hormon ve TSH konsantrasyonları normaldir. Ancak hızlı tümör büyümesi ve yıkımı olan bazı hastalarda tümörle ilişkili tiroidit ve hipertiroidizm görülebilmektedir⁹³⁻⁹⁹. Eşlik eden diferansiye tiroid kanseri vakalarında serum tiroglobulin konsantrasyonlarında artış bulunabilir.

2.6.5.4.5.Görüntüleme

Tanısal görüntüleme, hastalığın yayılımı, tedavinin planlanması ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi için önemlidir. Boyun ve mediasten BT ile değerlendirilmesiyle tümörün yayılımı ve invazyonu görüntülenebilir. Tümör, iskelet kasına göre izodens veya az miktarda hiperdens içinde nekroz ve kalsifikasyon alanları olan kitlesel lezyon şeklinde görülür. Ultrasonografi ile boyun lenf nodları değerlendirilebilir. Usg ve BT biyopsi için kılavuz olarak kullanılabilir.

2.6.5.4.6.Prognostik faktörler

Tiroide sınırlı veya sadece lokal ve reyonel metastazı olan hastalar uzak metastazı olan hastalara göre daha uzun sağkalıma sahiptir^{76,77,79,96}. Tümör genişliği de önemli prognostik faktörler arasındadır. Tümör maksimum uzunluğu 6 cm'den küçük olanların 2 yıllık sağkalımı %25 iken, bu oran 6 cm'den büyük olanlarda %3-15 arasındadır^{1,77}. Diğer kötü prognostik faktörler arasında tanı yaşının yüksek oluşu, erkek cinsiyet ve hastalığın dispne ile prezente oluşu sayılabilir^{1,76-79,96-98}. Diferansiye tiroid kanseri öyküsü olan hastalar ile kanser öyküsü olmayan hastalar arasında prognoz açısından fark yoktur^{78,79}.

2.6.5.4.7.Tedavi

2.6.5.4.7.1.Tiroide lokalize tümör

2.6.5.4.7.1.1.Cerrahi

Hastaların çoğunda tanı anında ilerlemiş hastalık olduğu için, cerrahi endikasyon bulunmamaktadır⁴². Ancak tiroide lokalize bir tümör varsa postoperatif adjuvan terapi ile birlikte komplet rezeksiyon, hastaların bir kısmında sağkalımı uzatmaktadır^{1,76,87,100-102}. Tümörün tek taraflı ve 5 cm'den

daha küçük olması, servikal lenf nodu veya ekstratiroidal invazyon olmaması gibi olumlu prognostik faktörler de sağkalıma katkıda bulunmaktadır. Rezektabel tümörler için, tümörün bulunduğu taraftaki yumuşak dokularıda içeren geniş sınırlı tiroid lobektomisi uygun agresif cerrahi yaklaşımdır. Küçük ve tamamen tiroide lokalize tümörler için komplet tümör rezeksiyonu ile birlikte total tiroidektomi yüksek komplikasyona sahiptir ve ipsilateral lobektomi ile karşılaştırıldığında sağkalıma katkısı bulunmamaktadır^{77,79,80}.

2.6.5.4.7.1.2.Adjuvan tedavi

Yapılan analizlere göre komşu dokuya yayılım gösteren ancak uzak metastaz bulunmayan hastalarda cerrahi sonrası adjuvan tedavinin sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir¹⁰³. Kontrollü olmayan gözlemlerde cerrahi sonrası adjuvan radyoterapinin etkisi desteklenmektedir^{75,97,98}.

2.6.5.4.7.2.Lokal ilerlemiş inoperabl hastalık

2.6.5.4.7.2.1.Radyoterapi

İlerlemiş hastalıkta konvansiyonel dozlarda radyoterapinin sağkalımı uzatmadığı gösterilmiştir. Hastaların %80'i başta cevap vermekle birlikte, vakaların çoğunda yerel nüks olmuştur⁹⁸. Yerel ilerlemiş hastalıkta, hiperfraksiyone radyoterapi ile birlikte eş zamanlı doksorobusinin radyosensitize dozu yerel cevabı %80 oranında arttırdığı ve ortalama sağkalımı bir yıl uzattığı gözlenmiştir⁸⁷. Düşük doz palyatif radyoterapi (≤ 40 Gy) ile karşılaştırıldığında hiperfraksiyone akselere radyoterapi radikal dozda (>40 Gy) lokal kontrolü sağladığı gösterilmiştir.

2.6.5.4.7.2.2.Kemoterapi

Yapılan faz-2 çalışmada, 39 anaplastik tiroid kanseri vakası doksorobusin ile doksorobusin/sisplatinin kollarında karşılaştırılmış ve altı vaka (%34), üç parsiyel ve üç komplet yanıt olmak üzere sisplatin/doksorobusin koluna yanıt vermiştir. Doksorobusin kolunda da sadece bir vaka (%5) parsiyel yanıt vermiştir. Üç tam yanıt vakasının ikisi tedaviyi sonlandırdıktan sonra 34 ve 41 ay boyunca hastaliksız dönem geçirmişlerdir¹⁰⁴. Tek ajan kemoterapi olarak paklitakselin kullanıldığı 20 hasta ile yapılan faz 2 çalışmasının yanıt oranı %50

bulunmuştur ancak başka bir faz 2 veya faz 3 çalışma ile konfirme edilmemiştir¹⁰⁵.

2.6.5.4.7.2.3.Kombine modalite terapi

Lokal ilerlemiş inoperabl hastalıkta kombine radyoterapi ve kemoterapi önerilmektedir. Hastalığa cevap durumunda rezidüal tümöre cerrahi rezeksiyon uygulanabilir^{100,102}.Kontrollü olmayan birkaç çalışmada radyoterapi ile birlikte çeşitli kemoterapi rejimleri denenmiştir. Çoğu çalışmada da doksorobusin tabanlı tedavi rejimleri denenmiştir^{102,106-108}. Ancak kombine tedaviler için randomize kontrollü çalışmalar yapılmamıştır. Bu yüzden standart bir rejim yoktur. Bununla birlikte genel olarak radyoterapi ile birlikte haftalık doksorobusin (10mg/m²) kullanılmaktadır. Daha agresif rejimler olarak radyoterapi ile birlikte dosetaksel/doksorobusin veya sisplatin/doksorobusin kullanılmaktadır. Ancak tüm tedavi şekillerinde prognoz kötüdür^{102,108}.

2.6.5.4.7.3.Metastatik hastalık

Metastatik anaplastik tiroid kanseri için etkili bir tedavi yoktur. Tanıdan itibaren ortanca sağkalım iki-altı aydır. Bir yıllık sağkalım %20-35, beş yıllık sağkalım % 5-14 arasındadır^{77,80,109,110}.

2.7.Düşük Molekül Ağırlıklı G Proteinleri

Küçük GTP bağlayıcı proteinler (düşük molekül ağırlıklı G proteinleri) monomerik yapıda ve molekül ağırlıkları 20-35 kDa olan Ras süperailisini oluşturan G proteinleridir. Ras süperailisi; Ras, Rho/Rac/Cdc 42, Rab, Sar1/Arf ve Ran proteinlerinden oluşmaktadır¹¹¹⁻¹¹³. Düşük molekül ağırlıklı G proteinleri birçok hücre fonksiyonu düzenlerler. Örneğin Ras ailesi gen ekspresyonunu, Rho ailesi (Rho/Rac/Cdc42) hücre iskeleti reorganizasyonunu ve gen ekspresyonunu, Rab ve Sar1/Arf ailesi intrasellüler vezikül hareketini, Ran ailesi G1, S ve G2 fazlarında nükleostoplazmik transportu ve M fazındaki mikrotübül organizasyonunu düzenler¹¹³.

2.7.1.Rho Proteinleri

Rho ailesi üyelerini başlıca 8 grupta toplayabiliriz. Bunlar: Rac (Rac1-3, RhoG), Cdc42 (Cdc42, TC10, TCL, Chp, Wrch-1), Rho (RhoA, RhoB, RhoC),

RhoD (RhoD ve Rif), RhoH/TTF, RhoBTB (RhoBTB1 ve RhoBTB2), Rnd (Rnd1, Rnd2, Rnd3/RhoE), Miro (Miro-1 ve Miro-2) gruplarından oluşmaktadır¹¹⁴.

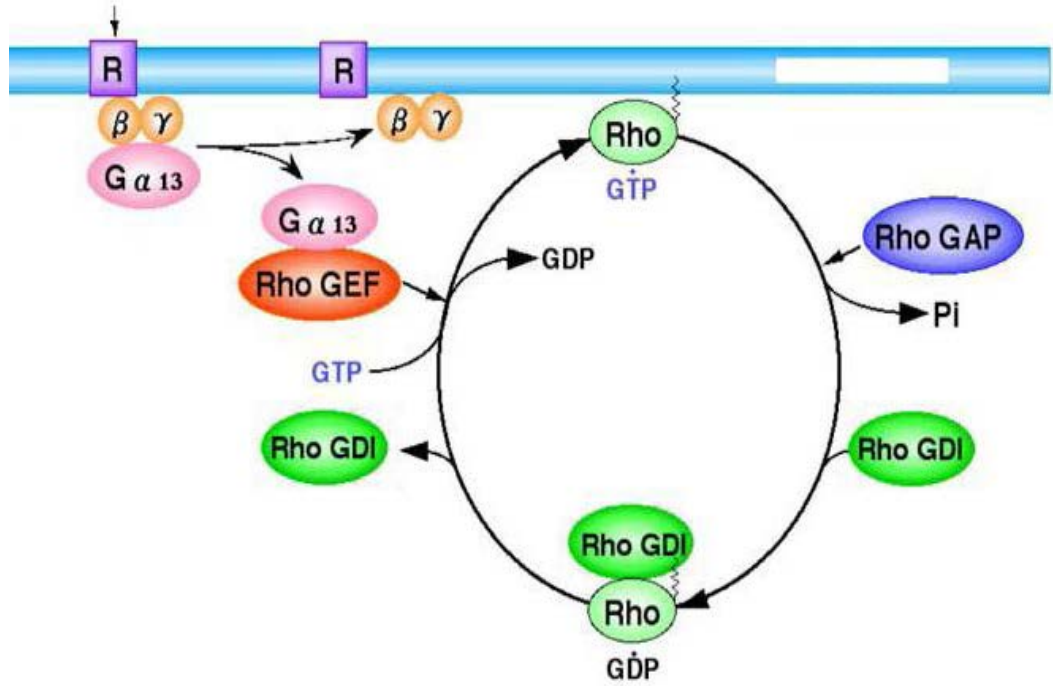
Vücutta en fazla eksprese edilen ve üzerinde en çok çalışılan Rho proteini alt tipi Rho A'dır. Rho proteinlerinin birçok görevleri bulunmaktadır. Bunlardan başlıcaları, hücre iskeleti kontrolü, stress liflerinin yapılanması, fokal adezyon, hücre şekli, agregasyonu, hücre hareketi, düz kas kasılması, nörit retraksiyonu ve sitokinezis gibi hücreysel fonksiyonlardır¹¹⁵⁻¹²¹.

2.7.1.1.Rho Aktivitesinin Düzenlenmesi

Küçük G proteinleri diğer G proteinleri gibi guanindifosfat (GDP) ve guanintrifosfat (GTP) ile etkileşme ve GTP'az aktivitesi için gerekli aminoasit dizilimine sahiptirler ve efektörleri için özelleşmiş bölgeleri bulunmaktadır¹²². Bu proteinler sentezlendikten sonra palmitoil, farnesil ve geranil gibi lipidler ile posttranslasyonel modifikasyona uğrarlar. Bu modifikasyon küçük G proteinlerinin membrana ve düzenleyicilere bağlanmaları ve alt efektörlerini aktive edebilmeleri için gereklidir¹²³. Küçük G proteinleri, GDP-bağlı inaktif ve GTP-bağlı aktif olmak üzere birbirine dönüşebilen iki forma sahiptir. Rho aktivitesinin iki negatif ve bir pozitif düzenleyicisi bulunmaktadır. Negatif düzenleyiciler, GTP'az aktive edici protein (GAP) ve GTP'az ayrıştırıcı inhibitördür (GDI). Pozitif düzenleyici ise guanin nükleotid değiştirici faktördür (GEF). İstirahattaki hücrelerde Rho-GDP disosiyasyon inhibitörü (Rho-GDI), GDP-Rho kompleksine bağlanır ve onu membrandan alarak sitozole getirir. Hücreler bazı agonistlerle stimüle edilirse Rho spesifik GEF'ler, GDP ayrışmasını ve GTP bağlanmasını başlatarak Rho'nun aktivasyonunu düzenlerler. GTP-Rho C-terminalinde geranil-geranillenmiş kuyruğuyla hücre membranına tutunur ve hedefleriyle etkileşir. GAP, Rho'nun intrinsik GTPaz aktivitesini artırarak GTP bağlı aktif formunu inhibe eder ve inaktif GDP-Rho'ya dönüştürerek negatif düzenleyici olarak çalışır. Bu GDP/GTP dönüşüm reaksiyonunun hız kısıtlayıcı basamağı GDP-bağlı form'dan GDP'nin ayrılmasıdır. Bu reaksiyon oldukça yavaştır ve GEF tarafından stimüle edilir^{123,124}. Rho'nun aktivitesi G12 ve G13 proteinleri ile pozitif olarak düzenlenir^{125,126}. Sfingozin1fosfat (S1P), lizofosfatidik asid (LPA), sfingozilfosforilkolin gibi lizofosfolipidler G proteinlerinin aktivasyonuna aracılık

ederek RhoA/ROCK yolunu aktive ederler¹²⁷. Şekil 1'de Rho aktivitesinin siklik düzenlenmesinin şematik olarak gösterimi bulunmaktadır.

Şekil 1: Rho aktivitesinin düzenlenmesi ¹²⁸.



Kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı bir enzim olan HMG-KoA redüktaz enziminin inhibitörü olan statinler, geranilgeranilasyonlarını engileyerek başta Rho proteinleri olmak üzere diğer bazı küçük G proteinlerinin aktivitelerini inhibe ederler¹²⁹. Bunun yanı sıra botulinum toksin C3, Rho'yu spesifik olarak ADP-riboziller ve bu nedenle C3 toksin Rho'nun spesifik inhibitörü olarak kabul edilir.

2.7.1.2. Rho Protein Efektörleri

Rho kinaz tanımlanan ilk Rho protein efektörüdür. Rho kinaz dışında miyozin fosfatazın miyozin bağlayıcı alt ünitesi (MBS) ve Rho-kinaz birlikte miyozin hafif zincirinin (MLC) fosforilasyonunu düzenler. Bu da düz kas kasılması, hücre hareketi, yapışması, sitokinezis, trombosit aktivasyonu, çeşitli iyon kanallarının etkileri gibi birçok hücresel fonksiyonda yer alır^{130,131}.

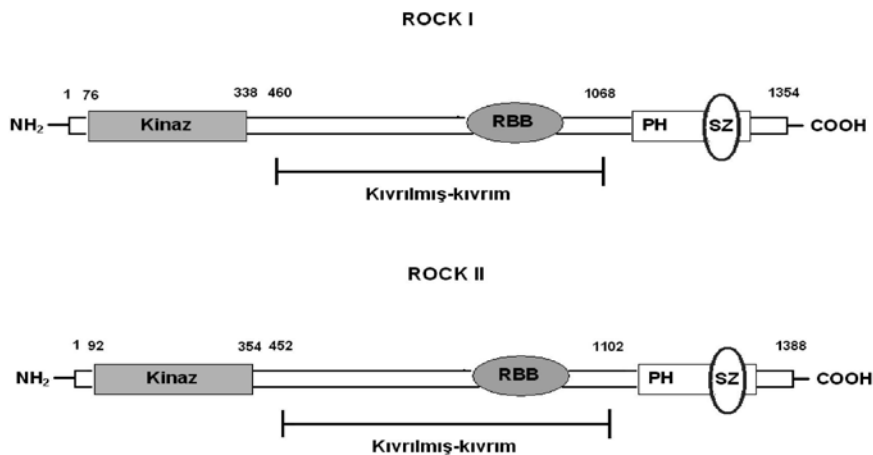
Protein kinaz N, rhotekin, rhotekin, sitron, sitron-kinaz, p140 mDia, fosfolipaz D, fosfatidilinozitol5'kinaz (PI5K) gibi Rho proteininin birçok efektörü bulunmaktadır.

2.7.1.2.1.Rho-kinaz

Rho'nun tanımlanmış ilk efektörü bir serin-treonin kinaz olan Rhokinaz/ROK α /ROCK2'dir. ROK β /ROCK-1/p160ROCK ise tanımlanan bir diğer izoformdur. 1354 aminoasitten oluşan ROCK-1 proteinini kodlayan gen 18. kromozomda yer alır. ROCK-2 proteini ise 1388 aminoasite sahip olup 2. kromozomda yer almaktadır¹³². ROCK proteinleri bir serin/treonin kinaz proteini olup, miyotonik distrofi kinaz, miyotonik distrofi ilişkili cdc42 bağlı kinaz ve sitron kinaz gibi diğer aktin sitoskelet kinaz proteinleri ile %45-50 homoloji gösterir¹³³. ROCK proteinleri yapısal olarak üç bölgeye ayrılabilir. Bunlar, N –terminal ucunda amino terminal katalitik kinaz bölgesi, orta bölgede kıvrılmış-kıvrım (coiled-coil) bölge, karboksi-terminal ucunda sisteinden zengin bölümden oluşan plekstrin homoloğu (PH) bölgesidir. Rho kinaz üzerinde Rho'nun bağlandığı bölge (RBB), kıvrılmış-kıvrım bölgesinin C terminal kısmına yakın yerde lokalizedir¹³⁴. ROCK-1 ve ROCK-2 tüm aminoasit dizilimlerinde %65 homoloji gösterirken, kinaz bölgelerinde %92 homolojiye sahiptirler¹³⁵. Şekil 2'de¹³⁶ ROCK1 ve ROCK2'nin bölgeleri şematik olarak gösterilmiştir. ROCK etkinliği çeşitli mekanizmalarla düzenlenir. ROCK otoinhibitör etkiye sahiptir. İnaktif formda ROCK'un C-terminal PH bölgesi ve RBB, kinaz bölgesi ile etkileşim içindedir. Bundan dolayı enzim katalitik etkisini gösteremez. ROCK'un etkinlik gösterebilmesi için inhibitör C-terminal bölgesi ile kinaz bölge arasındaki etkileşimin bozulması gerekmektedir. Bu bozulma ya inhibitör C-terminal bölgenin kesilmesi ya da Rho gibi çeşitli substratların C-terminal bölgesindeki kendilerine özgü bağlanma yerlerine bağlanması ile gerçekleşir¹³⁷. GTP-bağlı Rho'nun RBB'ye bağlanması ile ROCK'un inhibitör C-terminal bölgesi ve kinaz bölgesi arasındaki etkileşim bozularak enzim aktifleşir. Enzimin kinaz etkinliği Rho'ya bağlanmasından sonra artar¹³⁵. RBB yalnızca aktif durumdaki Rho/GTP-az'larla etkileşim halindedir¹³⁸. Rho'ya bağımlı ROCK aktivasyonu hücre türüne bağlı olarak kasılabilirliğinde, hücre geçirgenliğinde, migrasyon ve proliferasyonunda değişikliğe ve apoptoza neden olabilir. Daha öncede belirtildiği gibi ROCK, inhibitör karboksi terminal bölgesinin proteolitik olarak kesilmesi ile de aktif hale geçebilir. İnhibitör bölge kesilerek uzaklaştırılır ve enzimin aktif bölgesi açığa çıkar. ROCK1 kaspaz 3 aracılıklı, ROCK2 ise kaspaz 2 ve granzinB aracılıklı kesilme ile aktif hale geçebilir¹³⁹⁻¹⁴¹. Arakidonik

asit (AA) ve sifingosilfosforilkolin (SPC) gibi lipid mediyatörleri de PH bölgesi ile etkileşerek ROCK'u Rho'dan bağımsız olarak etkin hale getirebilir^{142,143}. Rho dışında bazı küçük GTP-bağlı proteinlerin ROCK'ların negatif düzenleyicisi olduğu bildirilmiştir. Gem ve Rad ROCK'a bağlanıp enzimi inaktif hale getirebilirler. Gem, ROCK1 aracılıklı MHZ ve MHZ fosfatının fosforilasyonunu inhibe ederken, Rad ROCK2'nin indüklediği yanıtları inhibe etmektedir. Bir başka küçük G proteini olan RhoE ise ROCK1'in N-terminal bölgesine bağlanarak Rho'nun RBB'ye bağlanmasını engeller^{144,145}. Öte yandan Rho-kinaz inhibisyonu yaptığı bildirilen ajanlar ise Y-27632, Y-39983, HA1077 (fasudil), hidroksifasudil, H1152P, GSK-269962A, SB772077, Wf536, Slx2119'dur. Bütün ROCK inhibitörleri ATP bağlanma alanları ile yarışır^{146,147}. ROCK2 beyin ve kas dokusunda daha fazla eksprese olurken, ROCK1 böbrek, karaciğer ve testislerde eksprese olmaktadır. Bunların dışında ROCK1 ve ROCK2 birlikte damar düz kasında ve kalpte eksprese olmaktadır. ROCK1 ve ROCK2 sitozolde bulunurken, Rho ile aktive olduktan sonra hücre membranına hareket edip membrana bağlanırlar¹⁴⁸. Rho-kinaz düz kas kasılması, stres liflerinin oluşması ve fokal adezyon, nörit retraksiyonu ve sitokinezde rol oynar ve Rho-kinazın bu etkilerine aracılık ettiği gösterilen çok sayıda substratı bildirilmiştir. Bunlar; myozin hafif zincir fosfatının myozin bağlayıcı alt ünitesi, myozin hafif zinciri, addusin, intermediyer filamentler, ezrin/radiksin/moesin (ERM) protein ailesi, vimentin, desmin gibi ara filamentler, glial fibriller asidik protein, nörofilamentler, LIM kinaz ve kofilinden oluşmaktadır^{127,147-158}. Rho proteini ve alt efektörlerinin birçok biyolojik fonksiyonlarda görevi bulunmaktadır.

Şekil 2: ROCK1 ve ROCK2'nin Şematik Görünümü¹³⁶



2.7.1.3. Tümör Hücresi ve Metastaz Üzerindeki Etkiler

Rho/Rho-kinaz yolağının tümör hücre invazyonunda rol oynadığı bildirilmiştir¹⁵⁹. Rho proteinlerinin esasen kanser gelişiminde ve progresyonunda rol oynadığı bilinen aktin reorganizasyonunda, hücre hareketi ve siklusunun düzenlenmesinde, gen ekspresyonlarında ve apoptoziste anahtar rol oynadığı bilinmektedir. Rho-kinaz yolağını inhibe eden fasudilin insan ve sıçan modellerinde tümör progresyonunu azalttığı gösterilmiştir¹⁶⁰. Tümör metastazında ROCK aktivitesinin arttığı ve aktif ROCK'un fazla ekspresyonunun tümör invazyonuna öncülük ettiği gösterilmiştir. Sıçan hepatoma hücreleri ve metastatik meme kanseri hücrelerinin migrasyonunun, ROCK inhibitörü olan Y-27632 ile inhibe edildiği gözlenmiştir. Y-27632' nin kullanıldığı deneysel çalışmalarda, tümör hücre yayılımının azaldığı belirlenmiş ve kanser tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür¹⁶¹⁻¹⁶³.

Rho-GEF'ler onkojeniktirler ve malignite durumlarında sıklıkla Rho GTP-az'ların ekspresyonları artmıştır. Rho proteinleri antineoplastik ajanlar ve iyonizan radyasyon gibi DNA hasarlanması oluşturan ajanlara karşı direnci etkilemektedir. Böylelikle Rho ile indüklenen mekanizmalar geleneksel antineoplastik tedavinin terapötik etkinliğini ve/veya yan etkilerini değiştirmektedir. Pleotropik etkilerinden ötürü Rho proteinleri yeni anti kanser ilaç gelişiminde ümit vaat edici ajanlar olarak görünmektedirler. Burada aslında önemli olan Rho ve beraberinde Ras proteinlerinin C terminalinin izoprenilasyonudur ki bu proteinlerin hücre membranına bağlanıp aktif hale geçmesi, dolayısı ile onkojenik sinyali iletmesi için gereklidir. Dolayısıyla farnesil transferaz, geranylgeranil transferaz ve HMG KoA redüktaz inhibitörleri (statinler gibi), izoprenilasyonu önleyerek tümör tedavisinde faydalı olabilirler¹⁶⁴.

2.7.1.4. Y-27632 Rho Kinaz İnhibitörü

Y-27632 [(1)- (R)- trans- 4- (1-aminoethyl)- N- (4 pyridyl) cyclohexane carboxamide dihydrochloride] molekülü ROCK ailesinin spesifik inhibitörüdür. Vücudun çeşitli sistemlerinde ROCK'un katılım ve rollerini belirlemek amaçlı yapılan deneysel çalışmalarda, Y-27632 geniş oranda kullanılmıştır. Örneğin trombosit aktivasyonu, aort düz kas kontraksiyonu, kardiyomiyosit hipertrofisi, bronş düz kas kontraksiyonu, nörit retraksiyonu, yara iyileşmesi, tümör

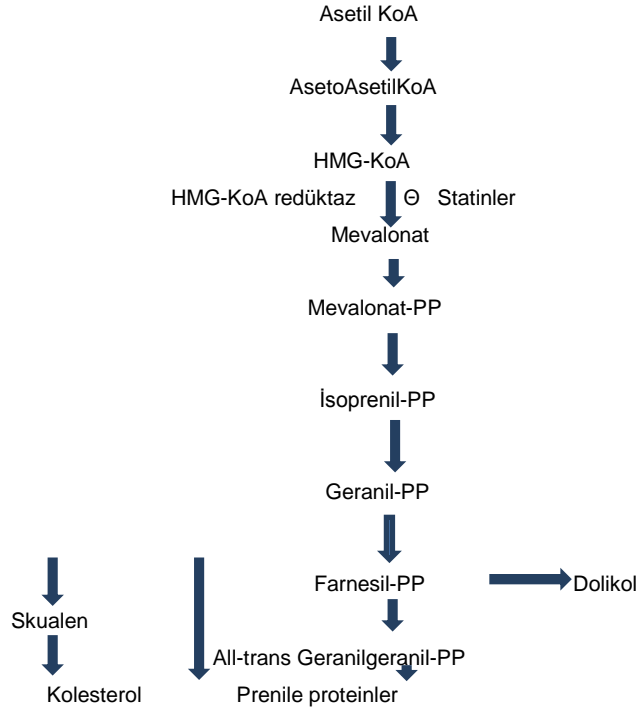
invazyonu ve hücre transformasyonu gibi birçok hücrenel olayda ROCK'un rolü araştırılırken Y-27632 kullanılmıştır¹⁶⁵⁻¹⁷¹. Y-27632 in vitro ortamda, ROCK1 ve ROCK2'nin kinaz aktivitesini, ATP ile yarışmalı bir şekilde katalitik bölgesine bağlanarak inhibe ettiği gösterilmiştir¹⁷².

2.8.Statin Grubu İlaçlar

Statinler, hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan HMG-KoA redüktaz inhibitörü ajanlar olarak bilinmektedirler. Yapılan geniş ölçekli klinik çalışmalarda statinlerin, öncesinde koroner kalp hastalığı olsun veya olmasın kardiyovasküler komplikasyonlarla ilişkili morbidite ve mortaliteyi azalttığı gözlenmiştir¹⁷³⁻¹⁸⁰. Lipid modifiye edici yaklaşımlar, hem hiperkolesterolemili hem de rölatif olarak normal düşük molekül ağırlıklı lipoprotein-kolesterol (LDL-K) seviyesine sahip hastalarda, koroner kalp hastalığı riskini azalttığı gözlenmiştir¹⁸¹. Lipid modifiye edici ajanlar arasında en sık kullanılan ajan statin grubu ilaçlar olmakla birlikte, safra asit tutucu reçineler (kolestiramin, kolestipol, kolesevalam), nikotinik asit (niasin), fibratlar (fenofibrat, klofibrat, bezafibrat, gemfibrozil) ve en yeni ajan olan kolesterol-emilim inhibitörü (ezetimib) bulunmaktadır. HMG-KoA redüktaz, de novo kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan HMG-KoA dan mevalonat dönüşümünü katalizlemektedir (Şekil 3)¹⁸². Statinler bu enzimi yarışmalı olarak inhibe ederler ve hepatositlerde kolesterol sentezini azaltırlar. Hücre içi kolesterol konsantrasyonunun azalması, hepatosit hücre yüzeyinde LDL-reseptör sunumunun indüklenmesini sağlar. Böylece kandan LDL-K emilimi artarak dolaşımdaki LDL-K konsantrasyonu azaltılmış olur¹⁸³. Statinlerin trigliserit (TG) konsantrasyonunu azaltma ve yüksek molekül ağırlıklı lipoprotein kolesterol (HDL-K) seviyesini artırma gibi diğer lipid parametrelerinde de yararlı etkileri bulunmaktadır¹⁸⁴. Aterojenik lipoproteinlerin düzeyini azaltmaya yönelik statinlerin ikincil mekanizması, apolipoprotein B100'ün hepatik sentezinin inhibisyonu ve trigliseritten zengin lipoproteinlerin sentez ve sekresyonunun azaltılmasıdır^{185,186}. Bundan başka, statinlerin lipid modifiye edici etkilerinden bağımsız bir şekilde kardiyovasküler sistem üzerinde yararlı etkileri bulunmaktadır¹⁸⁷. Bu pleotropik etki mevalonattan üretilen nonsteroidal isoprenoid ürünlerin inhibisyonu ile ilgilidir. Bu ürünün inhibisyonu endotel hücre fonksiyonunun iyileşmesi, inflamatuvar cevabın düzenlenmesi, düz kas hücre proliferasyonunun ve kolesterol

birikiminin azaltılması ile ilgilidir^{182,188}. Çizgili kaslarda mevalonik asit inhibe edilmesi bazı hücre fonksiyonları için önemlidir. Bunlar, hücre yüzey proteinleri gliklizasyonu, mitokondriyal membranlar arasında elektron transferi, düzenleyici proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu olarak sayılabilir¹⁸⁹.

Şekil 3: Kolesterol ve Prenile Proteinlerin Sentez Basamakları¹⁸²



Başlıca statinlerin, kimyasal, fonksiyonel ve farmakokinetik özellikleri ile etkinlik ve güvenilirlik profillerinden bahsedelim. Lovastatin, simvastatin ve pravastatin aspergillus terreus olarak bilinen mantardan türetilen ürünler olmakla birlikte lovastatin tek doğal üründür. Simvastatin ve pravastatin yarı sentetik proseslerle üretilmişlerdir¹⁹⁰⁻¹⁹². Fluvastatin, atorvastatin ve rosuvastatin tamamen sentetik ürünlerdir¹⁹³. Simvastatin lovastatinin bütrat analogu olup lovastatin gibi lakton ön ilaçtır ve in vivo ortamda enzimatik yollarla hidrolize edilip hidroksi asit formu olan aktif formuna ulaşır. Diğer statinler aktif hidroksi asit ürünlerdir. Statinlerin kimyasal yapısı üç parçada incelenebilir¹⁹⁴. Hedef enzim HMG-KoA analogu, bu analogu kovalent bağ ile bağlanan kompleks hidrofobik halka yapısı ve statin bağlanma yeri kimyasal yapıyı oluşturmaktadır. Halka yapısı üzerinde bulunan yan grup ilacın çözünürlüğü olmak üzere birçok farmakokinetik özelliğini oluşturmaktadır. Atorvastatin, simvastatin, fluvastatin

ve lovastatin lipofilik ürün olmakla birlikte pravastatin ve rosuvastatin hidrofilik ürünlerdir. Pravastatinde polar hidroksil grup ve rosuvastatin de ise metan sulfanamid grup bulunmaktadır^{195,196}. Daha önce de belirttiğimiz gibi statinler HMG-KoA redüktaz enziminin yarışmalı inhibitörleridir. Tüm statinler hızlı absorbe edilip yaklaşık dört saat içerisinde pik plazma konsantrasyonuna ulaşırlar¹⁹⁷⁻²⁰⁰. Atorvastatin ve rosuvastatinin diğer statinlere göre daha uzun yarılanma ömrü olduğu için günün her vakti alınabilir. Sabah –akşam farkı yoktur^{197,201}. Akşam endojen kolesterol sentezi fazla olduğu için yarılanma ömrü kısa olan statinlerin akşam alınması daha iyi sonuç vermektedir. Atorvastatinin eliminasyon yarılanma ömrü yaklaşık olarak ondört saattir. Atorvastatinin aktif metabolitini de düşündüğümüz zaman yarılanma ömrü 20-30 saate kadar çıkmaktadır^{197,202}. Rosuvastatin yarılanma ömrü 19 saattir²⁰⁰. Statinlerin sistemik biyoyararlanımlarının düşük olması ilk geçiş etkisinin fazla olduğunu göstermektedir. Ancak statinler için hedef organın karaciğer olmasından dolayı etkin bir ilk geçiş sisteminin, yüksek biyoyararlanımdan daha önemli olduğu görülmektedir^{198,199,203,204}. Statinlerin yemekle birlikte alınmasında emilimin etkilenmesi çeşitlilik göstermektedir. Lovastatinin yiyeceklerle birlikte emilimi artmaktadır ancak atorvastatin, fluvastatin ve pravastatinin biyoyararlanımı azalmaktadır^{205,206}. Simvastatin ve rosuvastatinde biyoyararlanımında bir değişiklik olmamaktadır^{182,193}. Bununla birlikte statinlerin akşam yemeği ile birlikte veya yatmadan önce alınmasının hiperkolesterolemik etkisinde bir farklılık oluşturmadığı gözlenmiştir²⁰⁵. Pravastatin haricindeki tüm statinler plazma proteinlerine yüksek oranda bağlıdırlar ve aktif formları dolaşımda az miktarda bulunur. Pravastatinin aktif formu dolaşımda daha fazla olmakla birlikte hidrofilik özelliğinden dolayı dokularda geniş dağılım göstermez^{182,207}. Tüm statinler rölatif olarak hepatoselektif özelliğe sahiptir. Lipofilik statinler pasif difüzyon ile geçiş etkisi gösterirken, hidrofilik statinler aktif transport ile taşınırlar^{207,208}. Statinler çoğunlukla sitokrom P450 (CYP450) ailesinin üyeleri tarafınca metabolize olurlar. CYP450 yaklaşık 30 izoenzimden oluşmaktadır. CYP3A4 izoenzimi lovastatin, simvastatin ve atorvastatin gibi daha birçok ilacı metabolize eder^{209,210}. Statinler karaciğerde metabolize olduktan sonra çoğunlukla safra ile elimine olurlar²¹¹. Bundan dolayı hepatik disfonksiyon, statinle indüklenen myopati için risk faktörüdür¹⁸⁴. Pravastatin hem karaciğer hem de böbrek ile elimine olur ve çoğunlukla değişmeden atılır ancak diğer

statinler gibi farmakokinetik özelliği hepatik disfonksiyonda değişmektedir^{205,212,213}. Bununla birlikte diğer hidrofilik statin olan rosuvastatin de hem karaciğer hem böbrek yoluyla elimine edilirken, hafif ve orta karaciğer disfonksiyonunda farmakokinetik özelliği değişmemektedir^{204,214,215}. Statinler LDL-K düzeyini düşürmede etkin ajanlar olmakla birlikte teröpatik dozları ve maksimum LDL-K azaltma oranları farklılık göstermektedir. Tablo7’de statinlerin kolesterol azaltıcı etkileri gösterilmiştir. Rosuvastatin LDL-K etkisi en fazla olan statindir²¹⁶⁻²¹⁸. Kural olarak dozu iki katına çıkarmak total kolesterol seviyesinde %5 ve LDL-K seviyesinde %7 ek düşüş sağlamaktadır²¹⁹. Genel olarak statinler iyi tolere edilebilen ve ciddi yan etkileri nadiren oluşan ilaçlardır²²⁰. En sık görülen ciddi yan etki miyopati olmakla birlikte insidansı yaklaşık olarak 1000:1’dir, doz bağımlıdır ve aynı metabolik eliminasyon yolağını paylaşan bir ajanla beraber kullanıldığında artış gösterir²²¹.

Tablo 7: Hiperkolesterolemili Hastalarda Günlük 40 mg Dozlar İçin Gösterilen Etki^{216,222,223}

	Serum LDL-K azalması (%)	Serum HDL-K yükselmesi (%)	Serum TG azalması (%)
Atorvastatin	50	6	29
Fluvastatin	24	8	10
Pravastatin	34	12	24
Simvastatin	41	12	18
Rosuvastatin	63	10	28

Tablo 8: Statinlerin Farmokokinetik ve Farmakodinamik Etkileri^{182,196,222,223}

	Atorvastatin	Fluvastatin	Lovastatin	Pravastatin	Simvastatin	Rosuvastatin
Doz zamanı	Günün herhangi bir vakti	Yatmadan önce	Sabah/akşam yemekle birlikte	Yatmadan önce	Akşam	Günün herhangi bir vakti
Biyoyararlanım (%)	12	24	5	18	5	20
Çözünürlük	Lipofilik	Lipofilik	Lipofilik	Hidrofilik	Lipofilik	Hidrofilik
Yiyeceklerle etkileşim	Biyoyararlanım azalıyor	Yok	Artıyor	Azalıyor	Yok	Yok
Kanda proteine bağlanma (%)	98	>98	>95	~50	95-98	90
Aktif metabolit	Var	Yok	Var	Yok	Var	Minör
Yarılanma ömrü(saat)	14	1.2	3	1.8	2	19
CYP450 metabolizması ve izoenzim	3A4	2C9	3A4	Yok	3A4	Sınırlı
Renal atılım (%)	<5	6	10	20	13	10

GEREÇLER VE YÖNTEM

Çalışma öncesi Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu onayı alındı (06/12/2012 tarihli ve 2012/380 sayılı onay). Çalışmada, Amerikan tip kültür koleksiyonu'ndan (ATCC) temin edilen anaplastik tiroid kanseri hücre kültürü (8305C, ATCC) kullanıldı. Dondurulmuş olarak gelen hücreler, hücre kültür odasında yatay akım kabininde 38-39°C'de (santigrat derece) 1-2 dakikada oda sıcaklığına getirilerek çözdürüldü. %10 sığır serumu (FBS), %1 glutamin, %1 penisilin (10.000 U/ml)+ streptomisin (10.000 mg/ml) ve RPMI eklenerek medium hazırlandı. Çözdürülen hücreler 15 cc'lik flakonlara konulup üzeri hazırlanan medium ile 15 cc'ye tamamlandı. Daha sonra flakon 2100 rpm'de 37°C'de 10 dakika santifürüjlendi. Santifürüj sonunda oluşan süpernatant döküldü. Kalan 1-2 cc'lik kısım flakondan kaldırılıp 25 cm'lik hücre kültür flasklarına ekildi ve üzerine 5 cc medium eklendi. Hücre kültür mediumu %5 CO₂ ile nemlendirilmiş ve 37°C'ye ısıtılmış ortamda iki gün gözlemlendi ve %70-80 konfluent olan hücrelere tripsinizasyon işlemi uygulanarak pasajlama yapıldı. Pasajlama işlemi sırasında konfluent gerçekleşen 25 cm'lik flasklardaki tüm medium döküldü. Flaska kalan mediumu inaktive etmesi için 0.5 cc tripsin konulup döküldü sonra hücreleri kaldırma işlemi için tekrar 1 cc tripsin konulup 10 dakika beklendi. Mikroskop altında hücrelerin kalktığı gözlemlendikten sonra flaskdaki hücreler 15 cc'lik flakona alındı ve üzeri 15 cc'ye kadar medium ile tamamlandı. Bu flakon 2100 rpm'de 37°C'de 10 dakika santifürüjlendi. Santifürüj sonunda oluşan süpernatant döküldü kalan 1-2 cc'lik kısım flakondan kaldırılıp 75 cm'lik flaska konulup üzerine 15 cc medium eklendi. Böylece pasajlama yapıp hücreler çoğaltıldı. Bu şekilde çoğaltılan hücrelerin bir kısmı daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere dondurulup -80°C'de saklandı. Dondurulma işlemi için öncelikle %70 RPMI, %20 FBS ve %10 DMSO ile frezing medium hazırlandı. 75 cc'lik flaskın içindeki medium döküldü. 1 cc tripsin ile muamele edilip döküldü ardından 3 cc tripsin ile 10 dakika muamele edildi. Kaldırılan hücreler 15 cc'lik flakona alınıp üzeri medium ile tamamlandı. Sonrasında 2100 rpm'de 37°C'de 10 dakika santifürüjlendi. Bu defa süpernatantın tamamı döküldü. Üzerine 5 cc önceden hazırladığımız frezing medium eklendi. Pastör pipeti ile karıştırıldı. Oluşturulan frezing medium içeren

hücreler 1.5 cc'lik kriovollere konuldu. Kriovoyol +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra -20°C'de 30 dakika bekletilip saklanılmak üzere -80°C'ye konuldu. Diğer taraftan yeterli sayıya ulaşan hücreler ile muameleye tabi tutulacak olan ilaçlar hazırlandı. Pravastatin sodyum (Deva Holding A.Ş), atorvastatin kalsiyum (Eczacıbaşı Holding A.Ş) ve Y-27632 (Tocris, USA) kullanıldı. Bu etken maddeler %32 saflıkta alkol ile çözdürülüp, pravastatin sodyum için 20 µM ve 60 µM konsantrasyonlarda, atorvastatin kalsiyum için 10 µM ve 30 µM konsantrasyonlarda, Y-27632 için de 10 µM ve 30 µM konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Çalışma için toplam 12 grup belirlendi. Kontrol grubunda sadece hücre ve medium bulunmaktaydı. Alkol grubunda ise hücre, medium ve %32 saflıkta alkol kullanıldı. Pravastatin sodyumdan 20 µM ve 60 µM olmak üzere iki grup, atorvastatin kalsiyumdan 10 µM ve 30 µM olmak üzere iki grup ve Y-27632 den de 10 µM ve 30 µM'lık iki grup olmak üzere toplamda altı grup oluşturuldu. Son olarak da ilaç kombinasyonlarını değerlendirebilmek amaçlı dört adet kombinasyon grubu oluşturuldu. Bu kombinasyon gruplarını, pravastatin sodyum 20 µM+Y-27632 10µM, pravastatin sodyum 60 µM+Y-27632 30 µM, atorvastatin 10 µM+Y-27632 10 µM ve atorvastatin 30 µM+Y-27632 30 µM oluşturdu. Daha önceden çoğaltılan anaplastik tiroid kanseri hücreleri, e-plate denilen zeminine mikroelektrod sensör yerleştirilmiş kuyucuklu platalere (well-plate) ekildi (Resim 1). Herbir kuyucuğa 12.000 hücre ekildi. Her bir grup için dört adet kuyucuk kullanıldı. Toplam kuyucuk sayısı kırk sekizdi. Öncelikle tüm kuyucuklara medium eklendi. Daha sonra herbir kuyucuğa 12.000 hücre ekildi. Ekim tüm kuyucuklardaki hücre sayısı eşit olacak şekilde yapıldı. Kontrol grubunda hücre ve medium bulunmaktaydı, alkol grubunda ise hücre, medium ve %32 saflıkta alkol vardı. Daha sonra önceden hazırlanan ilaçlar sırasıyla tüm gruplara eklendi. Hazırlanan e-plateler gerçek zamanlı hücre analiz (real time cell analyzer, RTCA) cihazına (xCELLInge, Roche, Resim 2) yerleştirildi. Hücre kültürü e-platelerinin zeminine yerleştirilmiş mikro-elektrodlar ile elektriksel empadans ölçümü yapılarak hücre sayısı, canlılığı ve hareketi dahil olmak üzere hücrelerin biyolojik durumları hakkında kantitatif bilgi sağlandı. RTCA ile altı gün boyunca sürekli olarak hücrelerin gerçek zamanlı canlılıklarını gösteren hücre indeksi ölçüldü. Ve bu ölçümler sürekli olarak kayıt edildi.

Resim 1: Hücre Kültürü ve İlaçların Yerleştirildiği On Altı Kuyucuklu E-plate²²⁴



Resim 2: E-plate'deki Hücrelerin Proliferasyonunu Gösteren Real Time Cell Analyzer (RTCA) Cihazı²²⁴



İstatistiksel analiz

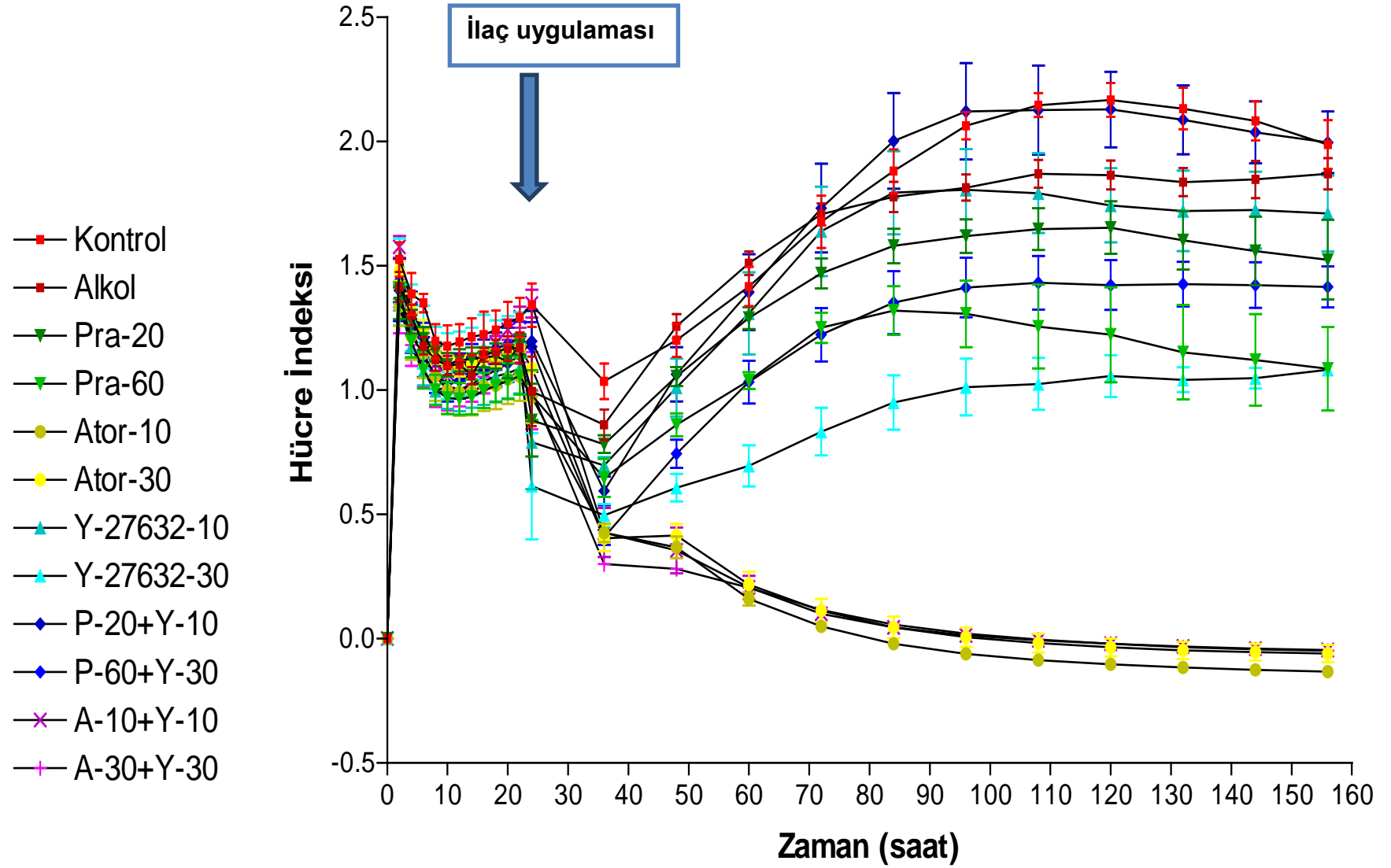
Deney sonucunda elde edilen sayısal veriler, ortalama \pm SD (standart deviasyon) olarak ifade edildi. İstatiksel karşılaştırmalar için ANOVA (Analysis of variance) ve uygun bir POST-HOC (Dunnet veya Bonferroni) testleri kullanıldı. 0,05'ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

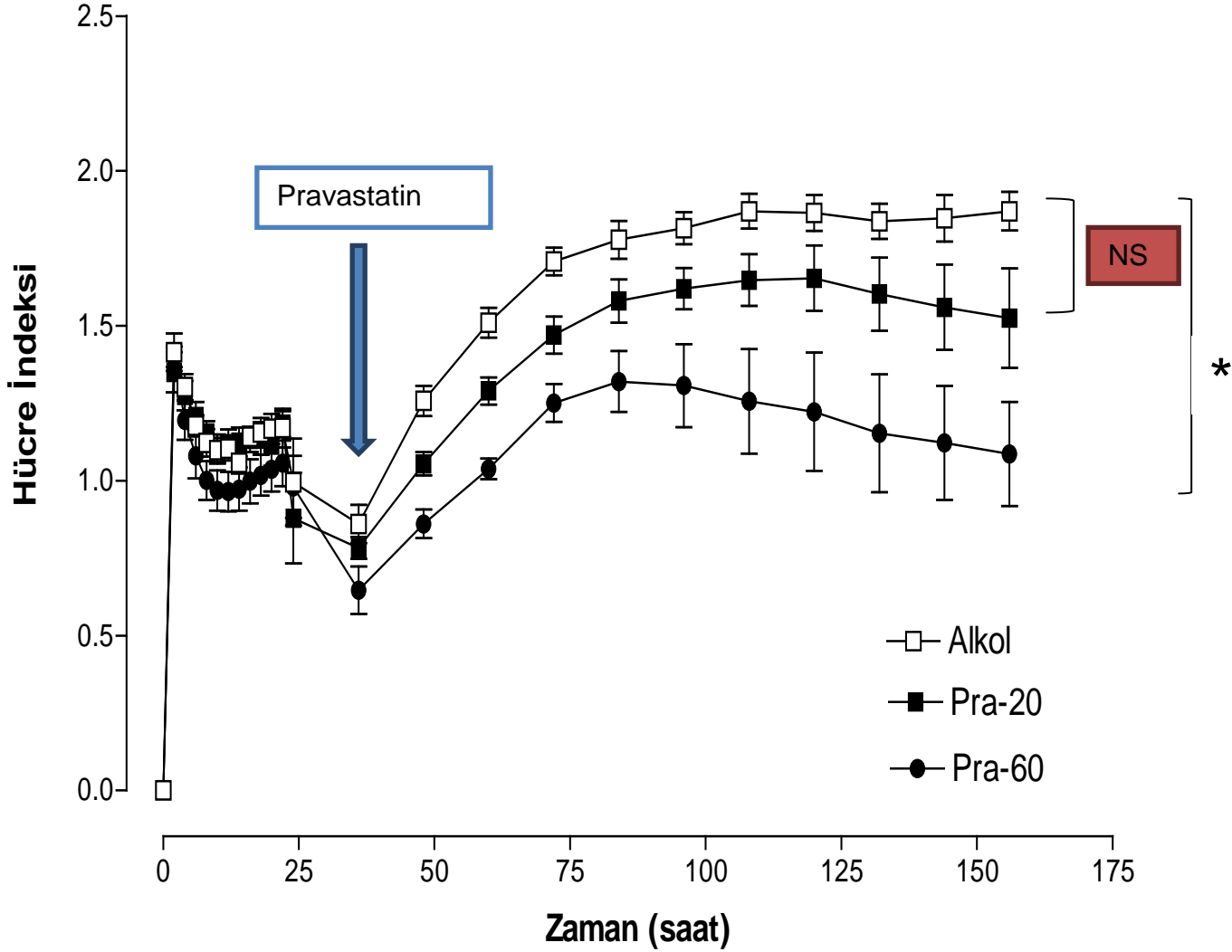
Bu çalışmada daha önce de belirttiğimiz gibi statin grubu ilaçlardan atorvastatin ve pravastatin ile bir Rho-kinaz inhibitörü olan Y-27632'nin in vitro ortamda, anaplastik tiroid kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe etme özelliği araştırıldı. Çalışmamızda 12 adet grup bulunmaktaydı. Bunlar kontrol grubu, alkol grubu, 20 µM ve 60 µM pravastatin sodyum, 10 µM ve 30 µM atorvastatin kalsiyum, 10 µM ve 30 µM Y-27632 grupları ile kombinasyon olarak pravastatin sodyum 20 µM+Y-27632 10µM, pravastatin sodyum 60 µM+Y-27632 30 µM, atorvastatin 10 µM+Y-27632 10 µM ve atorvastatin 30 µM+Y-27632 30 µM gruplarıydı. Altı gün (yaklaşık 160 saat) boyunca anaplastik tiroid kanseri hücrelerinin proliferasyonu RTCA cihazı ile sürekli olarak takip edilerek hücrelerin gerçek zamanlı canlılıklarını gösteren hücre indeksleri kaydedildi. Tüm grupların zaman içindeki hücre indeks grafiği Şekil 4 de gösterilmiştir. Alkol grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, iki gruptaki hücre indeksinde azalma oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Bundan dolayı, ilaçlar alkol ile hazırlandığı için, karşılaştırmalar alkol grubu ile diğer gruplar arasında yapıldı. Suda çözünürlüğü daha iyi olan pravastatin sodyumun 20 µM ve 60 µM konsantrasyonlar ile hazırlanan çözeltilerinde, 20 µM grubundaki hücre indeksi azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$), 60 µM grubundaki hücre indeksi azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ve bu azalma zaman içinde artış gösterdi ($p<0.05$) (Şekil 5). Pravastatin sodyum doz bağımlı bir şekilde hücre indeksinde azalma gösterdi. Ancak yağda çözünürlülüğü daha iyi olan atorvastatine göre etkinliliği çok daha az görünmektedir. Atorvastatin kalsiyumun 10 µM ve 30 µM konsantrasyonlarda olmak üzere iki grupta hazırlanan çözeltilerinde, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere, çok belirgin bir şekilde hücre indeksinde azalma sağlandı ($p<0.01$). Uygulamadan sonraki ikinci günden itibaren hücrelerin çok büyük bir kısmında proliferasyonu baskılandığı gözlemlendi (Şekil 6). Y-27632'nin 10 µM ve 30 µM konsantrasyonlarda olmak üzere hazırlanan iki grup çözeltilisinde alkol grubu ile yapılan karşılaştırmasında, 10 µM konsantrasyonda Y-27632'nin hücre indeksinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma yapmadığı ($p>0.05$), ancak doz artırıldığında yani 30 µM Y-27632 grubunda alkol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hücre indeksinde belirgin azalma yaptığı gözlemlendi ($p<0.01$).

Bu azalma zaman içinde netleşti (Şekil 7). Kombinasyon gruplarında yapılan karşılaştırmada Y-27632 ile pravastatin kombinasyonu ve Y-27632 ile atorvastatin kalsiyum kombinasyonu değerlendirildi. Y-27632 10 µM + pravastatin sodyum 20 µM kombinasyon grubu ile pravastatin 20 µM ve Y-27632 nin 10 µM tekli konsantrasyonlarda grupları karşılaştırıldı. Aynı zamanda Y27632 30µM + pravastatin sodyum 60 µM kombinasyon grubu ile Y27632 30µM ve pravastatin sodyum 60 µM tekli grupları karşılaştırıldı. Hücre indekslerinde anlamlı bir değişme saptanmadı. Y-27632 ve pravastatin sodyum arasında aditif ya da sinerjik bir etkileşme görülmemekle beraber, antagonistik bir etkileşme de bulunmadı (Şekil 8). Aynı şekilde yapılan Y-27632 ile atorvastatin kalsiyum kombinasyonlarında da hücre indeksi değerlendirildi. Y-27632 10 µM + atorvastatin kalsiyum 10 µM ve Y-27632 30 µM + atorvastatin kalsiyum 30 µM konsantrasyonlarda iki grup incelendi. Y-27632 10 µM + atorvastatin kalsiyum 10 µM grubu ile Y-27632 10 µM ve atorvastatin kalsiyum 10 µM grupları ayrı olarak; diğer taraftan da Y-27632 30 µM + atorvastatin kalsiyum 30 µM grubu ile Y-27632 30 µM ve atorvastatin kalsiyum 30 µM grupları da ayrı olarak incelendi. Y-27632 ve atorvastatin kalsiyum arasında aditif ya da sinerjik bir etkileşme görülmemekle beraber antagonistik bir etkileşme de gözlenmedi (Şekil 9).

Şekil 4. Tüm grupların zamana bağlı hücre indeks grafiği

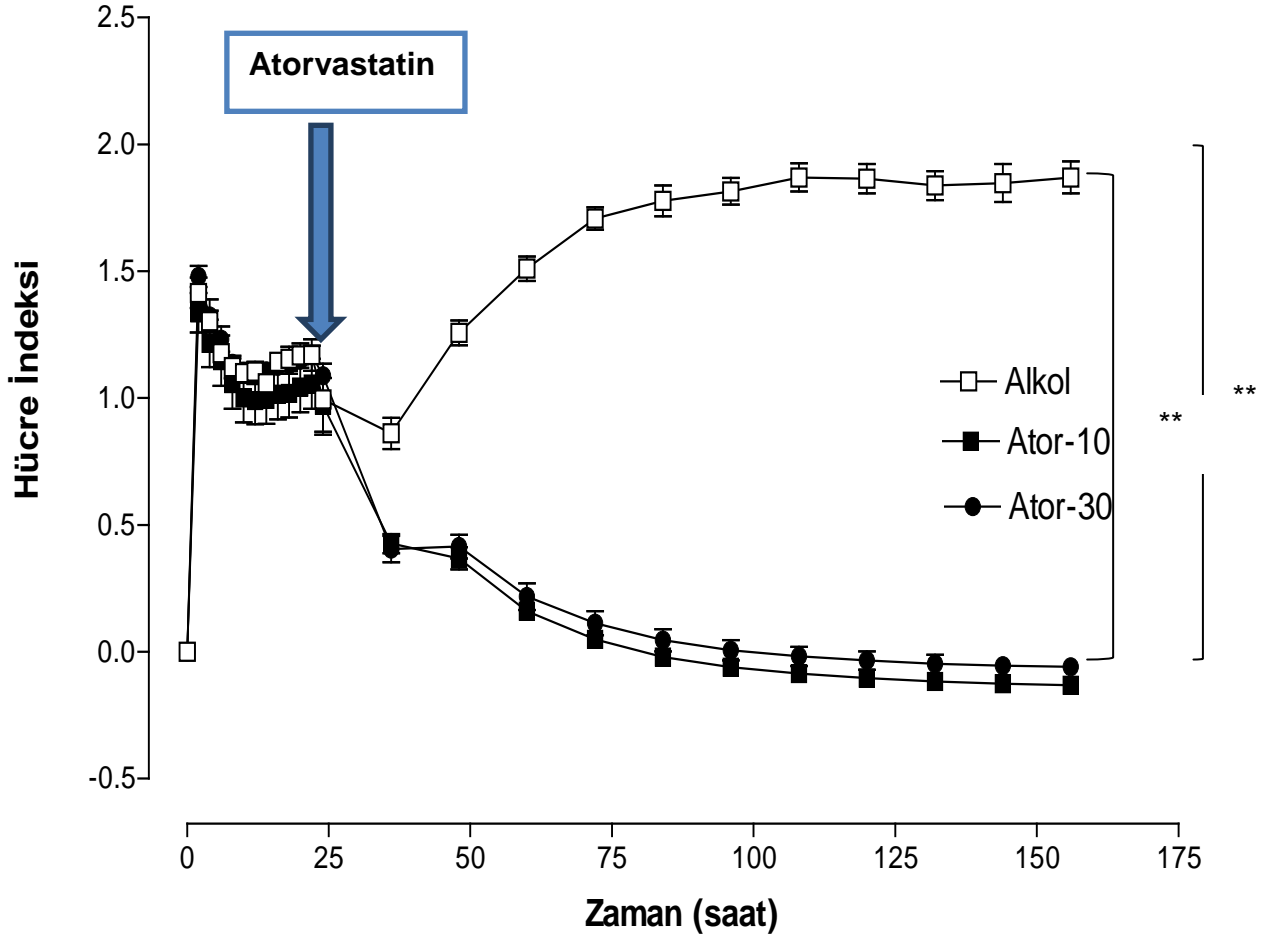


Şekil 5. Pravastatin 20 µM ve 60 µM grupları ile alkol grubunun hücre indeksi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.



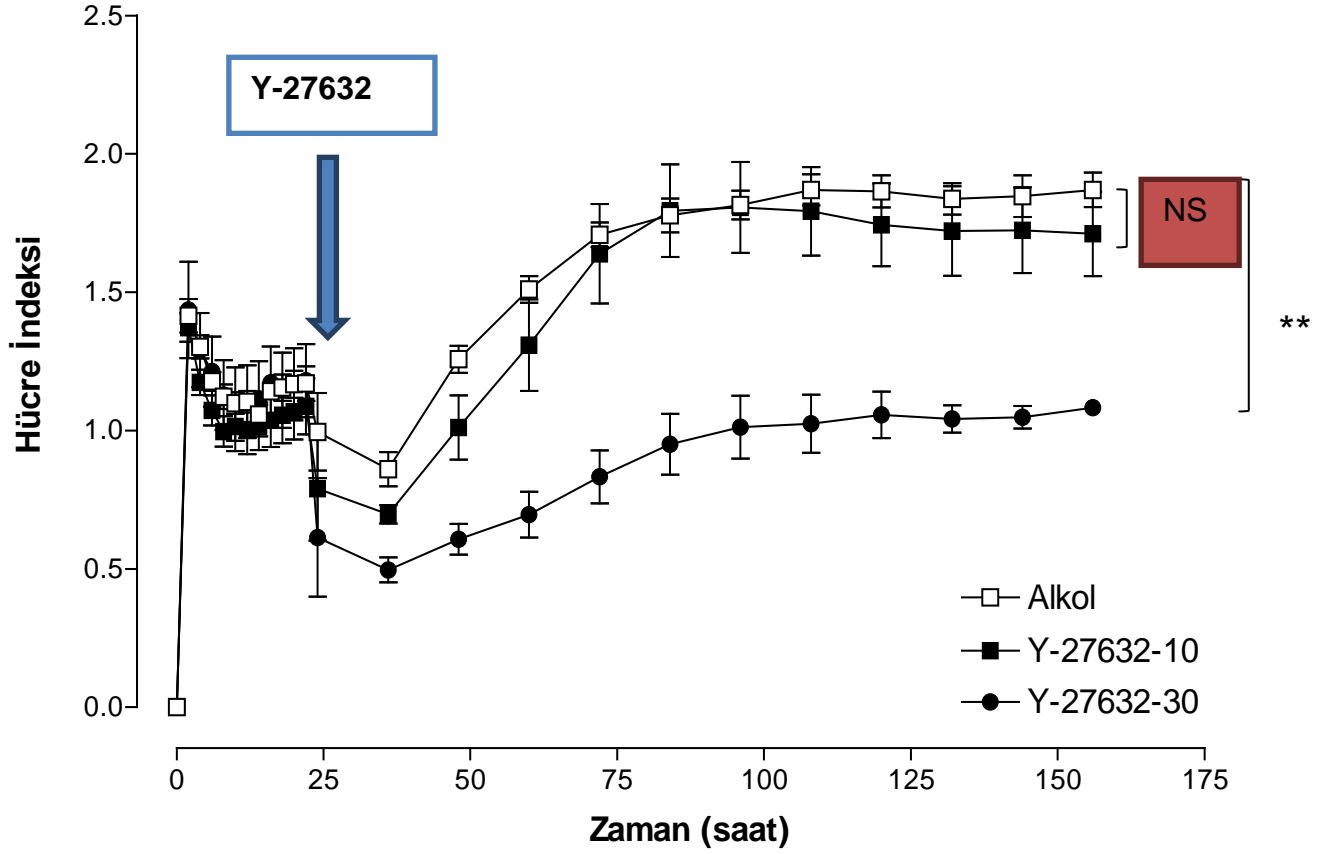
Suda çözünür pravastatin doz bağımlı bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptı. Bu etki zaman içinde daha da netleşti. 20 µM grubu ile alkol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (NS, nonsignificant). Ancak doz arttırıldığında pravastatinin alkol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptığı gözlendi (* $p < 0,05$ Şekil 5).

Şekil 6. Atorvastatin 10 µM ve 30 µM grupları ile alkol grubunun hücre indeksi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.



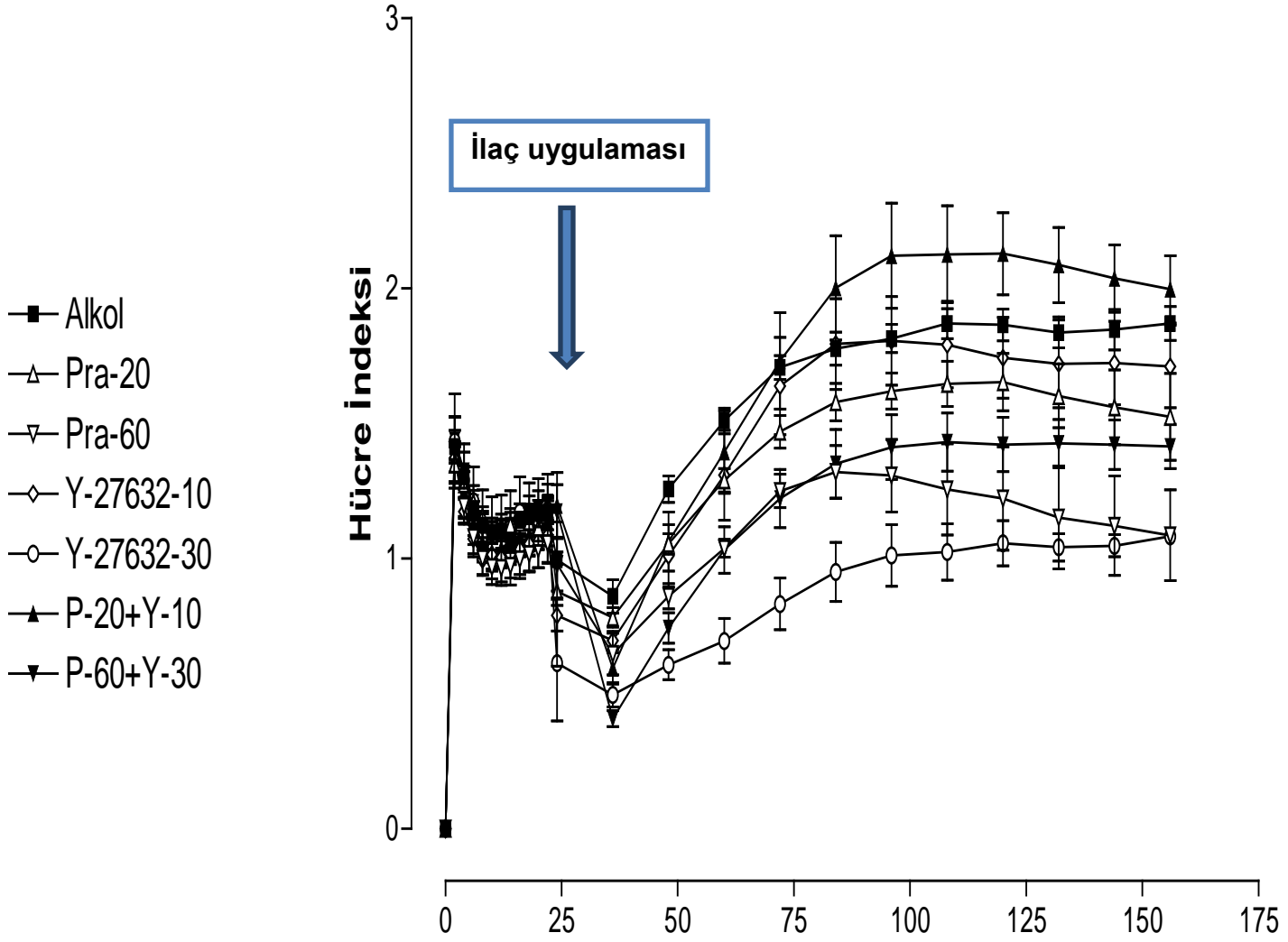
Yağda çözünür atorvastatin çok belirgin bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptı. Uygulamadan sonraki ikinci günde hücrelerin çok büyük bir kısmında proliferasyonu baskıladıği gözlemlendi. Atorvastatinin 10 µM ve 30 µM'luk her iki grubunda da alkol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptığı görüldü (** p<0.01, Şekil 6).

Şekil 7. Y-27632 10 µM ve 30 µM grupları ile alkol grubunun hücre indeksi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.

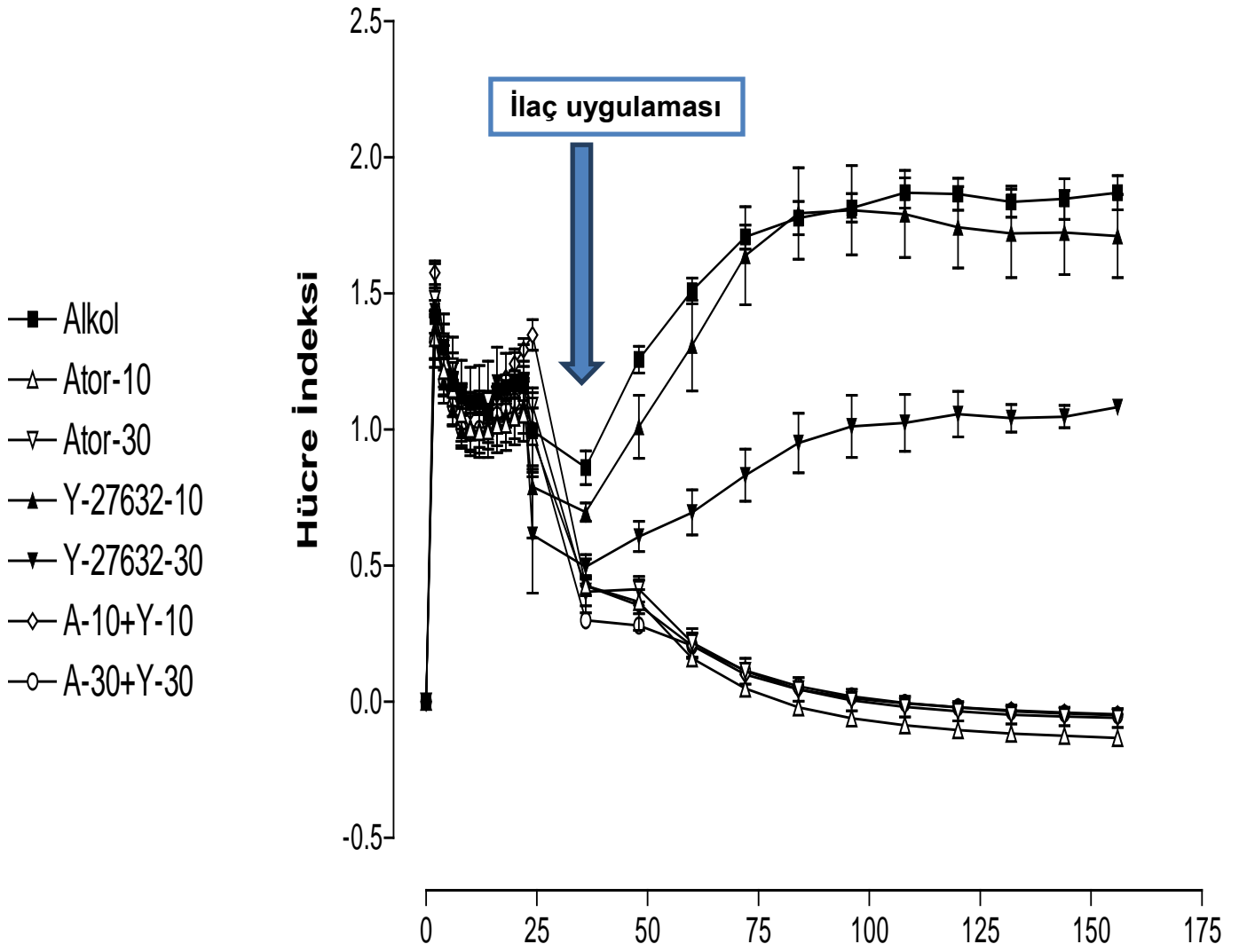


Rho kinaz inhibitörü olan Y-27632 doz ve zaman bağımlı bir şekilde hücre indeksinde azalma yaptı. 10 µM grubu, alkol grubu ile karşılaştırıldığında hücre indeksinde anlamlı bir azalma olmadığı gözlemlendi (NS, nonsignificant). Ancak Y-27632'nin 30 µM grubunda, alkol kolu ile karşılaştırıldığında hücre indeksinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptandı (** $p < 0.01$, Şekil 7).

Şekil 8. Pravastatin ve Y-27632'nin kombinasyon gruplarının tek ilaç grupları ve alkol grubu ile karşılaştırılması



Şekil 9. Atorvastatin ve Y-27632'nin kombinasyon gruplarının tek ilaç grupları ve alkol grubu ile karşılaştırılması



TARTIŞMA

Anaplastik tiroid kanseri, folliküler epitelden kaynaklanan ve tüm tiroid karsinomlarının %2-5'ini oluşturan kötü diferansiye tümördür. Ortalama tanı yaşı 65 olmakla beraber kadınlarda daha sık görülür. Vakaların yaklaşık %20'sinde diferansiye tiroid kanseri öyküsü bulunmakla birlikte, %20-30'unda da diferansiye tiroid kanseri eşlik etmektedir^{1,81-85}. Hastaların hemen hemen hepsi tiroidde kitle ile prezente olurlar. Uzak yayılım şeklindeki prezentasyon hastaların yaklaşık olarak %15-50'sinde bulunmaktadır⁸⁵. En sık uzak metastaz akciğerlere olmaktadır^{82,83}. İlk semptom, boyunda hızlı büyüyen kitleye bağlı olarak ağrı ve hassasiyettir. Diğer semptomlar arasında üst hava yolu ve özafagusa basıdan dolayı disfaji, dispne, ses kısıklığı, öksürük ve ara ara hemotizi görülebilmektedir⁹³. Tanı sitolojik inceleme ile konur ancak, medüller tiroid kanseri, lenfoma, melanom, sarkom gibi anaplastik kanserlere benzeyen diğer kanser türleri ile karıştırılmaması için, ince iğne aspirasyon biyopsisi yerine kor biyopsi ile yapılmalıdır. Patolojik tanı hastanın kliniği ile de doğrulanmalıdır. Anaplastik tiroid karsinomunun kötü prognostik faktörleri arasında, tanı yaşının yüksek oluşu, erkek cinsiyet, metastatik hastalık, hastalığın dispne ile prezente oluşu ve tümör boyutu sayılabilir⁷⁶⁻⁷⁹. Tümör maksimum uzunluğu 6 cm'den küçük olanların 2 yıllık sağkalımı %25 iken bu oran 6 cm'den büyük olanlarda %3-15 arasındadır. Öncesinde diferansiye kanser öyküsü olmasının prognoz açısından önemi yoktur^{96,98}. Tedavi seçenekleri hastalık yayılımlarına göre değişmektedir. Hastaların çoğunda tanı anında ilerlemiş hastalık olduğu için cerrahi tedavi önerilmez. Ancak tiroide lokalize tümörlerde ve tek taraflı, 5 cm'den küçük, servikal lenf nodu veya ekstratiroidal invazyon olmaması gibi olumlu prognostik faktörlere sahip tümörlerde postoperatif adjuvan terapi ile birlikte komplet rezeksiyon sağkalımı uzatmaktadır. Rezektabel tümörler için uygun agresif cerrahi yaklaşım, tümörün bulunduğu taraftaki yumuşak dokuları da içeren geniş sınırlı tiroid lobektomisidir. Lokal ilerlemiş inoperabl hastalıkta kombine radyoterapi ve kemoterapi önerilmektedir. Yanıt alınması durumunda rezidüel tümöre rezeksiyon önerilebilir^{76-80,97-101}. Hiperfraksiyone radyoterapi ile birlikte

doksorobusinin radyoduyarlaştırıcı dozu yerel yanıtı %80 oranında arttırdığı ve ortalama sağkalımı bir yıl uzattığı gözlenmiştir. Kemoterapotik ajanlardan doksorobusin/sisplatin ve tek ajan paklitaksel için ayrı yapılmış faz II çalışmalar bulunmaktadır. Doksorobusin/sisplatin çalışmasında %34 yanıt ve tek ajan paklitaksel çalışmasında %50 yanıt bulunmuştur^{104,105}. Ancak başka faz II ve faz III çalışmalarla konfirme edilmemiştir. Yapılan bir çalışmada in vivo ortamda anaplastik tiroid kanserinde setuksimab ve bevasizumab'ın tek ve kombine rejimlerinde tümör büyüme ve anjiyojenesisini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu tedavi rejiminin doksorobusinden daha etkili olabileceği düşünülmüştür^{225,226}. Tüm bu tedavi protokollerine rağmen anaplastik tiroid kanserleri için etkin bir tedavi yoktur. Bundan dolayı yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla yapılan in vitro çalışmalardan Wunderlic ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bortezomib, ubiquitin-proteozom inhibitörü, ve MLN8054'nin, arora kinaz inhibitörü, kombine kullanımının hücre büyümesini baskılayıp hücre apoptozisini indükleyerek, 3 anaplastik tiroid kanseri hücre serisinde antitümöral aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur²²⁷. Podtcheko ve arkadaşlarının imatinib (BCR-ABL1, CKIT, PDGFR gibi birçok hedefi olan tirozin kinaz inhibitörü) ile yaptığı in vitro çalışmada, imatinibin anaplastik hücre kültürü üzerine değişken etkilere sahip olduğu ve çoğunlukla S fazında hücre siklusunu durdurduğu gösterilmiştir²²⁸.

Yaptığımız çalışmanın amacı, in vitro ortamda anaplastik tiroid kanseri hücre kültürü üzerinde, statin grubu ilaçlardan suda çözünürlüğü fazla olan pravastatin sodyum ile yağda çözünürlüğü fazla olan atorvastatin kalsiyum ve Rho-kinaz inhibitörü olan Y-27632'nin kanser hücreleri üzerinde proliferasyona olan etkisini araştırmaktır. Statin grubu ilaçların kanser üzerine etkisi ile ilgili yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Yakın zamanda yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda statinlerin kanser tedavisinde potansiyel kullanımlarının olduğu gösterilmiştir. Menter D G ve ark.larının yaptığı simvastatin ve pravastatin çalışmasına göre, yağda çözünürlüğü fazla olan simvastatinin suda çözünürlüğü fazla olan pravastatine göre tümör hücre kültürlerinde proliferasyonu baskılamada daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada kolon, pankreas, prostat, mesane, deri ve akciğer kanseri hücre kültürleri kullanılmıştır. Yassı hücreli kanser ve pankreas kanseri hücre kültürü dışında tüm kültürlerde simvastatin daha etkili olduğu, suda çözünürlüğü fazla olan pravastatinin ise

etkisinin görece daha olduğu gösterilmiştir²²⁹. Daha önce de belirtildiği gibi statinler hiperlipidemi tedavisinde yüksek oranda kullanılan HMG-KoA redüktaz inhibitörleridir. HMG-KoA'dan mevalonat oluşumunu inhibe ederler. Mevalonat sentezinin inhibisyonuyla, FPP ve GGPP gibi nonsterol isoprenoidlerin sentezi inhibe olur. İsooprenoidler, Ras ve Rho gibi küçük GTPaz'lar da dahil olmak üzere bir çok proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonunda görev almaktadır. Posttranslasyonel prenilasyon ile membran translokasyonu Ras ve Rho ailesini aktive etmek için kritik öneme sahiptir. Farnesilasyon ve geranilgeranilasyonun inhibisyonu Ras ve Rho'nun inaktive olmasına neden olur^{182,188,189}. Duncan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre, mevalonatın farelerde insan meme kanseri hücrelerinin büyümesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir²³⁰. Çeşitli kanser hücreleri ile yapılmış statin çalışmaları olmakla birlikte, tiroid kanseri üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızın başlangıcında henüz yayımlanmamış olmakla beraber 2011'de yayımlanan Wen-Bin Zhong ve arkadaşlarının lovastatin ile yaptığı in vitro çalışmaya göre lovastatinin anaplastik tiroid kanseri hücrelerini konsantrasyon bağımlı bir şekilde azalttığı gözlemlendi. Hücre büyümesini, hücre siklusunun G1 fazında inhibe ettiği gözlemlendi. Aynı çalışmada mevalonat ve GGPP'nin lovastatin ile indüklenen hücre inhibisyonunu engellediği ve lovastatinin Rho ailesinin membran translokasyonunu inhibe ettiği gözlemlendi. Lovastatin ile muamele edilmiş hücrelerde Rho A protein seviyesinin %55 ve Rac1 protein seviyesinin %65 oranında azaldığı gözlemlendi. Çalışmanın bir diğer sonucu olarak da RhoA/ROCK sinyal yolağının inhibisyonunun p27 protein seviyesi ve stabilitesini arttırdığı bulundu. P27 proteini, CDK2 aktivitesini inhibe edip hücre siklusunu G1 fazında kesintiye uğratarak, kanser hücre proliferasyonu inhibe etmiş olur. Çalışmanın bu ayağında hem lovastatin, hem de selektif ROCK inhibitörü olan Y-27632 kullanılmış olup Y-27632'nin tek başına p27 seviyesini arttırdığı ve hücre büyümesini %25 oranında inhibe ettiği gözlemlendi²³¹. Yapılan birçok çalışmada statinlerin prostat, meme ve karaciğer kanseri hücrelerinin büyümesini G1 fazında durdurduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da, koroner arter hastalığı olup pravastatin kullanan hastaların beş yıllık gözlemlerinde yeni tanı kolorektal kanseri vakalarının %43 oranında azaldığı gösterilmiştir. 40 mg/gün pravastatin alan hepatoselüler karsinomlu hastaların ortalama sağkalımı iki katına çıktığı gösterilmiştir²³²⁻²³⁷. Tiroid kanserinin lovastatin ile yapılmış

çalışmaları olmakla beraber, suda çözünürlüğü fazla olan statin grubu ilaçlarla, örneğin pravastatin gibi, yapılmış çalışmaları bulunmamaktaydı ve bunların karşılaştırılması da yapılmamıştı. Yaptığımız çalışma ile yağda çözünen statinler ve suda çözünen statinleri karşılaştırıp, Rho-kinaz inhibitörünün, anaplastik tiroid kanseri hücre kültüründeki etkisini gördük. Atorvastatin kalsiyumun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinde, pravastatin sodyum'un ve Y-27632'nin ise sadece yüksek konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinde, anaplastik tiroid kanseri hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir hücre indeks azalması yani hücre proliferasyonunu baskıladığı bulundu. Pravastatin sodyum ile Y-27632 ve atorvastatin kalsiyum ile Y-27632'nin kombine grubları karşılaştırıldı. Additif, sinerjistik veya antagonistik bir etki gözlenmedi. Prostat kanseri üzerine yapılan bir çalışmada, lovastatin, fluvastatin ve simvastatinin prostat kanseri hücre kültürü proliferasyonunu G1 fazında durdurduğu ancak, pravastatinin aynı etkiyi gösterebilmesi için 200 kat daha yüksek konsantrasyonda olması gerektiği gösterilmiştir²³⁸. Yaptığımız çalışmada da pravastatin sodyumun düşük konsantrasyonunda, hücre indeksinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma yapmadığını gözlemledik. Yaptığımız çalışmada sadece hücre indeksi ölçümü yaparak hücre proliferasyon baskılanmasını gösterdik. Ancak baskılanmanın hangi aşamada olduğunu gösteremedik. Bunun için ek yöntemler uygulanması gerekmektedir. Çalışmamızı bu açıdan sınırlı bir çalışma olarak değerlendirebiliriz. Litetaturde anaplastik tiroid kanseri hücre kültüründe statin grubu ilaçlardan sadece lovastatin ile çalışılmış olup, diğer statinlerde de aynı veya benzer etki olup olmadığı bakılmamıştır. Çalışmamızı pravastatin ve atorvastatin ile yaparak bu anlamda yeni görüşler sunmayı hedefledik. Ancak, çalışmamızın birtakım sınırlamaları olmasından dolayı bu konuda yapılacak olan daha çok ve geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Daha önce de belirtildiği gibi, günümüzde anaplastik tiroid kanseri kür şansı az olan, etkin bir tedavi yöntemi bulunmayan ve sağkalımı 2-6 ay arasında olan bir kanser türüdür. Bu nedenle rutin kullanılan tedavi yöntemlerine ek olarak, yeni ve hedefe yönelik tedavi rejimlerinin uygulanması gerekmektedir. Yaptığımız in vitro çalışmada, anaplastik tiroid kanseri hücre proliferasyonunun, pravastatin sodyum, atorvastatin kalsiyum ve Y-27632 ile nasıl etkilendiğini göstermeye çalıştık. Bu çalışmada suda çözünürlüğü fazla olan pravastatin sodyum'un ve ROCK selektif inhibitörü olan Y-27632'nin doz bağımlı bir şekilde ancak, yağda çözünürlüğü fazla olan atorvastatin kalsiyum'un düşük dozlarda bile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hücre indeksinde azaltma yaptığını yani, hücre proliferasyonunu baskıladığını gösterdik. Bu alanda yapılmış tiroid ve tiroid dışı kanserlerle ilgili çeşitli in vitro çalışma bulunmaktadır. Ancak anaplastik tiroid kanseri ve bunun gibi etkin tedavi yöntemi olmayan kanser vakalarında, daha fazla in vivo ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Tan RK, Finley III RK, Driscoll D, Bakamjian V, Hicks Jr WL, Shedd DP. Anaplastic carcinoma of the thyroid: a 24-year experience. *Head Neck* 1995 17: 41–48.
2. Hadar T, Mor C, Shvero J, Levy R, Segal K. Anaplastic carcinoma of the thyroid. *Eur J Surg Oncol* 1993 19: 511–516.
3. Tennvall J, Lundell G, Hallquist A, Wahlberg P, Wallin G, Tibblin S. Combined doxorubicin, hyperfractionated radiotherapy, and surgery in anaplastic thyroid carcinoma: report on two protocols. The Swedish Anaplastic Thyroid Cancer Group. *Cancer* 1994 74: 1348- 1354.
4. Schlumberger M, Parmentier C, Delisle MJ, Couette JE, Droz JP, Sarrazin D. Combination therapy for anaplastic giant cell thyroid carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 564–566.
5. Hong YJ, Jeong MH, Hachinohe D et al. Comparison of effects of rosuvastatin and atorvastatin on plaque regression in Korean patients with untreated intermediate coronary stenosis. *Circ J* 2011; 75: 398–406.
6. Kawai Y, Sato-Ishida R, Motoyama A, Kajinami K. Place of pitavastatin in the statin armamentarium: promising evidence for a role in diabetes mellitus. *Drug Des Devel Ther* 2011; 5: 283–97.
7. Sadowitz B, Maier KG, Gahtan V. Basic science review: statin therapy—Part I: the pleiotropic effects of statins in cardiovascular disease. *Vasc Endovasc Surg* 2010; 44: 241–51.

8. Clendening JW, Pandyra A, Boutros PC et al. Dysregulation of the mevalonate pathway promotes transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:15051–6.
9. Mizioroko HM. Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Arch Biochem Biophys* 2011; 505: 131–43.
10. Wright LP, Philips MR. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. CAAX modification and membrane targeting of Ra. *J Lipid Res* 2006; 47: 883–91.
11. Manandhar SP, Hildebrandt ER, Jacobsen WH, Santangelo GM, Schmidt WK. Chemical inhibition of CaaX protease activity disrupts yeast Ras localization. *Yeast* 2010; 27: 327–43.
12. Vivaldi A, Miasaki FY, Ciampi R et al. Redifferentiation of thyroid carcinoma cell lines treated with 5-Aza-20-deoxycytidine and retinoic acid. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 307: 142–8.
13. Zhong WB, Liang YC, Wang CY, Chang TC, Lee WS. Lovastatin suppresses invasiveness of anaplastic thyroid cancer cells by inhibiting Rho geranylgeranylation and RhoA/ROCK signaling. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12: 615–620.
14. Liu S, Goldstein RH, Scepanisky EM, Rosenblatt M. Inhibition of rho-associated kinase signaling prevents breast cancer metastasis to human bone. *Cancer Res* 2009; 69: 8742–51.
15. Bryan BA, Dennstedt E, Mitchell DC et al. RhoA/ROCK signaling is essential for multiple aspects of VEGF-mediated angiogenesis. *FASEB J* 2010; 24: 3186–95.
16. Deng L, Li G, Li R, Liu Q, He Q, Zhang J. Rho-kinase inhibitor, fasudil, suppresses glioblastoma cell line progression in vitro and in vivo. *Cancer Biol Ther* 2010; 9: 875–84.
17. Zhang S, Tang Q, Xu F et al. RhoA regulates G1-S progression of gastric cancer cells by modulation of multiple INK4 family tumor suppressors. *Mol Cancer Res* 2009; 7: 570–80.
18. Harvey KA, Welch Z, Sliva D, Siddiqui RA. Role of Rho kinase in sphingosine 1- phosphate-mediated endothelial and smooth muscle cell migration and differentiation. *Mol Cell Biochem* 2010; 342: 7–19.

19. Unal A. Klinik Cerrahi Onkoloji Tiroid Kanserleri 1997; 27: 351-360.
20. Sadler G, Clark OH. Thyroid and parathyroid. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC: Principles of surgery, 7th ed. McGraw-Hill New York.1999; 36: 1661-1687.
21. Ureles AL. Thyroidology-Reflections on Twentieth Century history Falk S (ed) Thyroid Disease. Raven Press New York.1990; 1: 1-14.
22. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Endocrine Organs, thyroid Gland Chapter 20, Histology A Text and Atlas, 3th edition, Philadelphia, USA. Lippincott Williams&Wilkins, 1995: 603-606.
23. Jameson JL, Weetman AP. Harison Endokrinoloji. Bereket A. (çev ed.) İstanbul. Nobel Tıp Kitabeleri, 2009: 71-111.
24. Henry JF. Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glandsand recurrent and external laryngeal nerves. Clark OH, Duh QY(ed). Textbook of Endocrine Surgery. WB Saunders. Philadelphia. 1997; 2: 8-14.
25. Moore KL, Dalley AF. Clinically Oriented Anatomy, Chapter 8, Endocrine layer of cervical viscera, Thyoid gland, 4th edition, Philadelphia, USA. Lippincott Williams&Wilkins, 1999: 1030-1036.
26. Guyton AC, Hall JE. Tiroidin metabolik hormonları, Bölüm 76,Tıbbi fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çev. Ed.) İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri, 2001: 858 -868.
27. Gavaret JM, Chanmann HJ, Nunez J. Thyroid hormone synthesis in thyroglobulin: the mechanism of the coupling reaction. J Biol Chem 256: 9167, 1981.
28. Yıldırım S, İşgor A. Tiroid fonksiyon testleri. İşgor A (ed).Tiroid hastalıkları ve Cerrahisi. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2000; bölüm 3: 139-152.
29. Singer A P. Clinical Approach to Thyroid Function Testing Falk SE. Thyroid Disease: Second Edition. Lippincott Raven Philadelphia.1997; 4: 41-52.

30. Greenspan FS, Gardner DG (ed) ,Shoback D (ed) .Tiroid Bezi, Bölüm 8, Greenspan' s Temel ve Klinik Endokrinoloji, Arslan M (çev ed) İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 209-279.
31. Tuncbilek A. Direkt Radyografi, Bilgisayarlı Tomografi, Ultrasonografi, Renkli Doppler Ultrasonografi. İşgor A (ed).Tiroid Hastalıkları ve Cerrahisi. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2000; bölüm 3: 169-175.
32. Noyek A.M, Finkelstein D.M, Witterick I.J, Kirsh J.C. Diagnostic Imaging of the Thyroid Gland. Falk SE. Thyroid Disease: Second Edition Lippincott Raven Philadelphia. 1997; 9: 135-143.
33. Wilson A.G, O'Mara R.E. Uptake Tests, Thyroid and Whole Body Imaging with Isotopes. Falk SE. Thyroid Disease: Second Edition. Lippincott Raven. Philadelphia.1997; 8: 113-131.
34. Tiroid Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu. <http://www.turkendokrin.org> erişim tarihi: 29.06.2012.
35. Tezelman S T, Siperstein A E. Signal transduction in thyroid neoplasms. Clark OH, Duh QY (ed): Textbook of Endocrine Surgery. WB Saunders. Philadelphia. 1997;28: 214-227.
36. Kaynaroğlu Z V. Tiroid fizyolojisi ve fonksiyon testleri. Sayek İ. (ed). TemelCerrahi. 2.baskı. Güneş Kitabevi. Ankara. 1996; Bölüm: 15: 1523-1524.
37. Smeds S, Heldin NE. Growth factor, thyroid hyperplasia and neoplasia. Clark OH, Duh QY (ed): Textbook of Endocrine Surgery. WB Saunders. Philadelphia. 1997;27: 205-213.
38. Goretzki P.E, Gorelev V, Simon D, Roehner HD. Oncogenes in Thyroid Tumors. Clark OH, Duh QY (ed). Textbook of Endocrine Surgery. WB Saunders. Philadelphia.1997; 29: 228-235.
39. İşgor A. Neoplazmların Moleküler Patogenezi. İşgor A (ed). Tiroid Hastalıkları ve Cerrahisi. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2000; bölüm 2: 61-82.
40. Michael T, Dermott MC. Onkogenes and Thyroid Cancer. Falk SE. Thyroid Disease: Second Edition. Lippincott Raven. Philadelphia. 1997; 13: 231-239.

41. Said S, Scumberger M, Suarez HG. Onkogens and antioncogens in human epithelial thyroid tumors. *J Endocrinol Invest.* 1994; 17: 371-378.
42. Parma J, Duprez L, Van Sand J, Aschke R et al. Constitutively active reseptors as a disease-causing mechanism. *Mol Cell Endocrinol.*1994; 100: 159-162.
43. Jossart GH, Grossman RF. Thyroid Onkogenesis. Clark OH, Duh QY(ed). *Textbook of Endocrine Surgery.* WB Saunders. Philadelphia.1997; 30: 237-242.
44. Bos JL. Ras oncogens in human cancer: A review. *Cancer Res.*1989; 49: 4682-4684.
45. Hollstein M,Sidransky D,Vogelstein B,Haris CC. P53 mutations in human cancers. *Science.* 1991; 253: 49-53.
46. Haris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. *N Engl J Med.* 1993; 329: 1318-1322.
47. Wells SA. Cancer of the Endocrine System. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology.* 8th Ed, Philadelphia Lippincott Williams&Wilkins, 2008. ch 44: 1655-82.
48. American Cancer Society. *Cancer Facts and Figures 2007.* Atlanta: American. Cancer Society 2007.
49. Enewold L, Zhu K, Ron E, et al. Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 784.
50. Tucker MA, Jones PH, Boice JD Jr, et al. Therapeutic radiation at a young age is linked to secondary thyroid cancer. The Late Effects Study Group. *Cancer Res.* 1991 Jun 1; 51 (11): 2885-8.
51. Ron E, Lubin JH, Shore RE, et al. Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies. *Radiat Res.* 1995 Mar; 141(3): 259-77.
52. Nikiforov YE, Nikiforova M, Fagin JA. Prevalence of minisatellite and microsatellite instability in radiation-induced post-Chernobyl pediatric thyroid carcinomas. *Oncogene.* 1998 Oct 15;17(15): 1983-8.

53. Bosetti C, Kolonel L, Negri E, et al. A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. VI. Fish and shellfish consumption. *Cancer Causes Control*. 2001 May; 12(4): 375-82.
54. Galanti MR, Ekblom A, Grimelius L, Yuen J. Parental cancer and risk of papillary and follicular thyroid carcinoma. *Br J Cancer*. 1997; 75(3): 451-6.
55. Anderson PE, Kinsella J, Loree TR, Shaha AR, Shah JP. Differentiated carcinoma of the thyroid with extrathyroidal extension. *Am J Surg* 1995; 170: 467–470.
56. Czaja JM, McCaffrey TV. The surgical management of laryngotracheal invasion by well-differentiated papillary thyroid carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123: 484 - 490.
57. McCaffrey TV, Bergstralh EJ, Hay ID. Locally invasive papillary thyroid carcinoma: *Head Neck* 1994; 16: 165–172.
58. Greene FL, Page DL, Fleming ID, editors. *AJCC Cancer Staging Manual*, 6th ed. New York: Springer-Verlag; 2002.
59. Lang BH, Lo CY, Chan WF, Lam KY, Wan KY. Staging systems for papillary thyroid carcinoma: a review and comparison. *Ann Surg*. 2007; 245: 366–378.
60. Byar DP, Green SB, Dor P, Williams ED, Colon J, van Gilse HA, et al. A prognostic index for thyroid carcinoma: a study of the EORTC Thyroid Cancer Cooperative Group. *Eur J Cancer* 1979;15: 1033–1041.
61. Hay ID, Grant CS, Taylor WF, McConahey WM. Ipsilateral lobectomy versus bilateral lobar resection in papillary thyroid carcinoma: a retrospective analysis of surgical outcome using a novel prognostic scoring system. *Surgery* 1987; 102: 1088 – 1095.
62. Cady B, Rossi R. An expanded view of risk-group definition in differentiated thyroid carcinoma. *Surgery*. 1988; 104: 947–953.
63. Hay ID, Bergstralh EJ, Goellner JR, Ebersold JR, Grant CS. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779

- patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. *Surgery* 1993; 114: 1050 –1058.
64. Kukora JS. Tiroid Kanseri. Cameron JL (ed). Güncel Cerrahi Tedavi-1. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2001; 11: 583-589.
65. Blake Cady MD. Predictors of Thyroid Tumor Aggressiveness. Clark OH, DuhOY(ed) *Textbook of Endocrine Surgery*. WB Saunders. Philadelphia. 1997; 26: 197-216.
66. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, editors. *AJCC cancer staging manual*, 7th ed. New York: Springer; 2010; 1-646.
67. Saad MF, Ordonez NG, Rashid RK, Guido JJ, Hill CS Jr, Hickey RC, et al. Medullary carcinoma of the thyroid. A study of the clinical features and prognostic factors in 161 patients. *Medicine*. 1984; 63: 319-342.
68. Kebebew E, Ituarte PH, Siperstein AE, Duh QY, Clark OH. Medullary thyroid carcinoma: clinical characteristics, treatment, prognostic factors, and a comparison of staging systems. *Cancer* 2000; 88: 1139-1148.
69. Beagie JM. *Principles of thyroid surgery*. Pitman Medical Publishing Co. Oxford. 1975; 32-33.
70. Conti EA, Patton GD, Conti JE and Hempelmann LH. Present health of children given x-ray treatment to the anterior mediastinum in infancy. *Radiology*. 1960; 386: 74-78.
71. Duren E, Öz F. Tiroid nodüllerinde kanser sıklığı. *Türk Tıp Cemiyeti Dergisi*. 1967; 38: 36-42.
72. Hempelmann LH, Pifer JW, Burke GJ and Ames ME. Neoplasms in persons treated with x-rays in infancy for thyroid enlargement. *J nat Cancer Inst.* 1967; 38: 31- 36.
73. Tielens ET, Sherman SI, Hruban RH, Ladenson PW. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma. A clinicopathologic study. *Cancer* 1994; 73: 424.
74. Zidan J, Karen D, Stein M, et al. Pure versus follicular variant of papillary thyroid carcinoma: clinical features, prognostic factors, treatment, and survival. *Cancer* 2003; 97: 1181.

75. Collini P, Sampietro G, Rosai J, Pilotti S. Minimally invasive (encapsulated) follicular carcinoma of the thyroid gland is the low-risk counterpart of widely invasive follicular carcinoma but not of insular carcinoma. *Virchows Arch* 2003; 442: 71.
76. Ries, LAG, Melbert D, Krapcho M, et al (Eds). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005*, National Cancer Institute, Bethesda, MD 2008.
77. Avanzo A, Treseler P, Ituarte PH, et al. Follicular thyroid carcinoma: histology and prognosis. *Cancer* 2004; 100:1123.
78. Cibas E S, Ali S Z. *The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology*. *Thyroid* 2009; 19: 1159.
79. Başkan S, Kocak S. *Papiller Tiroid Karsinomu*. İşgör A (ed). *Tiroid hastalıkları ve Cerrahisi*. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2000; bölüm 8: 383-426.
80. Kebebew E, Greenspan FS, Clark OH, et al. Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment outcome and prognostic factors. *Cancer* 2005; 103: 1330.
81. Nel CJ, van Heerden JA, Goellner JR, et al. Anaplastic carcinoma of the thyroid: a clinicopathologic study of 82 cases. *Mayo Clin Proc* 1985; 60: 51.
82. Carcangiu ML, Steeper T, Zampi G, Rosai J. Anaplastic thyroid carcinoma. A study of 70 cases. *Am J Clin Pathol*. 1985; 83: 135.
83. Venkatesh YS, Ordonez NG, Schultz PN, et al. Anaplastic carcinoma of thyroid. A clinicopathologic study of 121 cases. *Cancer* 1990; 66: 321.
84. Mclever B, Hay ID, Giuffrida DF, et al. Anaplastic thyroid carcinoma: a 50-year experience at a single institution. *Surgery*. 2001; 130: 1028.
85. Aldinger KA, Samaan NA, Ibanez M, Hill CS Jr. Anaplastic carcinoma of the thyroid: a review of 84 cases of spindle and giant cell carcinoma of the thyroid. *Cancer* 1978; 41: 2267.
86. Chiu AC, Oliveria AA, Schultz PN, Ordonez NG, Sherman SI. Prognostic clinicopathologic features in hurtle cell neoplasia. *Thyroid* 1996; 6: 29.

87. Ricarte-Filho JC, Ryder M, Chitale DA, et al. Mutational profile of advanced primary and metastatic radioactive iodine-refractory thyroid cancer reveals distinct pathogenic roles for BRAF, PIK3CA and AKT1. *Cancer Res* 2009; 69: 4885.
88. Quiros RM, Ding HG, Gattuso P, et al. Evidence that one subset of anaplastic thyroid carcinomas are derived from papillary carcinomas due to BRAF and p 53 mutations. *Cancer* 2005; 103: 2261.
89. Nakamura T, Yana I, Kobayashi T, et al. P53 gene mutations associated with anaplastic transformation of human thyroid carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83: 1293.
90. Smallridge RC, Marlow LA, Copland JA. Anaplastic thyroid cancer: molecular pathogenesis and emerging therapies. *Endocr Related Cancer* 2009; 16: 17.
91. Perri E, Lorenzo G D, Scarpati G D, Buonerba C. Anaplastic thyroid carcinoma: a comprehensive review of current and future therapeutic options. *World Journal of clinical oncology*. 2011; vol 2, no 3: 150-157.
92. Tennvall J, Lundell G, Wahlberg P, et al. Anaplastic thyroid carcinoma: three protocols combining doxorubicin, hyperfractionated radiotherapy and surgery. *Br J Cancer* 2002; 86: 1848.
93. Nishiyama RH, Dunn EL, Thompson NW. Anaplastic spindle-cell and giant-cell tumors of the thyroid gland. *Cancer* 1972; 30: 113.
94. Hadar T, Mor C, Har-El G, Sidi J. Anaplastic thyroid carcinoma metastatic to the tonsil. *J Laryngol Otol* 1987; 101: 953.
95. Phillips DL, Benner KG, Keeffe EB, Traweek ST. Isolated metastasis to small bowel from anaplastic thyroid carcinoma. With a review of extra- abdominal malignancies that spread to the bowel. *J Clin Gastroenterol* 1987; 9: 563.
96. Murabe H, Akamizu T, Kubota A, Kusaka S. Anaplastic thyroid carcinoma with prominent cardiac metastasis, accompanied by a marked leukocytosis with a neutrophilia and high GM-CSF level in serum. *Intern Med* 1992; 31: 1107.

97. Hadar T, Mor C, Shvero J, et al. Anaplastic carcinoma of the thyroid. *Eur J Surg Oncol* 1993; 19: 511.
98. Murakami T, Noguchi S, Murakami N, et al. Destructive thyrotoxicosis in a patient with anaplastic thyroid cancer. *Endocrinol Jpn* 1989; 36: 905.
99. Oppenheim A, Miller M, Anderson GH Jr, et al. Anaplastic thyroid cancer presenting with hyperthyroidism. *Am J Med* 1983; 75: 702.
100. Akslen LA, Haldorsen T, Thoresen SO, Glattre E. Survival and causes of death in thyroid cancer: a population based study of 2479 cases from Norway. *Cancer Res* 1991; 51: 1234.
101. Hreon DE, Karimpour S, Grigsby PW. Anaplastic thyroid carcinoma: comparison of convantional radiotherapy and hyperfractionation chemoradiothreapy in two groups. *Am J Clin Oncol* 2002; 25: 442.
102. De Crevoiser R, Baudin E, Bachelot A, et al. Combined treatment of anaplastic thyroid carcinoma with surgery, chemotherapy and hyperfractionated accelerated external radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 1137.
103. Chen J, Tward JD, Shrieve DC, Hitchcock YJ. Surgery and radiotherapy improves survival in patients with anaplastic thyroid carcinoma: analysis of the surveillance, epidemiology and end results 1983-2002. *Am J Clin Oncol* 2008; 31: 460.
104. Shimaoka K, Schoenfeld DA, DeWys WD, et al. A randomized trial of doxorobucin plus cisplatin in patients with advanced thyroid carcinoma. *Cancer* 1985; 56: 2155.
105. Ain KB, Egorin MJ, DeSimone PA. Treatment of anaplastic thyroid carcinoma with paclitaxel: pfase 2 trial using ninety-six-hour infusion. Collaborative Anaplastic Thyroid Cancer Heath Intervention Trials (CATCHIT) group. *Thyroid* 2000; 10: 587.
106. Kim JH, Leeper RD. Treatment of locally advanced thyroid carcinoma with combination doxorobicin and radiation therapy. *Cancer* 1987; 60: 2372.

107. Troch M, Koperek O, Scheuba C, et al. High efficacy of concomitant treatment of undifferentiated (anaplastic) thyroid cancer with radiation and docetaxel. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: E54.
108. Foote RL, Molina JR, Kasperbauer JL, et al. Enhanced survival in locoregionally confined anaplastic thyroid carcinoma: a single-institution experience using aggressive multimodal therapy. *Thyroid* 2011; 21: 25.
109. Spiess JR, Schwartz MR, Miller RH. Anaplastic thyroid carcinoma. Association with differentiated thyroid cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1988; 114: 40.
110. Sherman SI, Brierley J, Sperling M, Maxon III, HR. Initial analysis of staging and outcomes from a prospective multicenter study of treatment of thyroid carcinoma. *Thyroid* 1996; 6: S39.
111. Hall A. The cellular functions of small GTP binding proteins. *Science*, 1990; 249: 635-640.
112. Bourne HR, Sanders DA, and McCormick F. The GTPase superfamily: a conserved switch for diverse cell functions. *Nature*, 1990; 348: 125-132.
113. Takai Y, Kaibuchi K, Kikuchi A, and Kawata M. Small GTP-binding proteins. *Int Rev Cytol*, 1992; 133: 187-230.
114. Sorokina EM, Chernoff J. Rho-GTPases: New members, new pathways. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2005; 94 (2): 225-231.
115. Ridley A J and Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell*, 1992; 70: 389-99.
116. Paterson HF, Self AJ, Garrett MD, Just I, Aktories K, and Hall A. Microinjection of recombinant p21rho induces rapid changes in cell morphology. *J Cell Biol*, 1990; 111: 1001-7.
117. Tominaga T, Sugie K, Hirata M, Morii N, Fukata J, Uchida A, Imura H, and Narumiya S. Inhibition of PMA-induced, LFA-1-dependent lymphocyte aggregation by ADP ribosylation of the

- small molecular weight GTP binding protein, rho. *J Cell Biol*, 1993; 120: 1529-37.
- 118.** Takaishi K, Sasaki T, Kato M, Yamochi W, Kuroda S, Nakamura T, Takeichi M, and Takai Y. Involvement of Rho p21 small GTP-binding protein and its regulator in the HGF-induced cellmotility. *Oncogene*, 1994; 9: 273-279.
- 119.** Hirata K, Kikuchi A, Sasaki T, Kuroda S, Kaibuchi K, Matsuura Y, Seki H, Saida K, and Takai Y. Involvement of rho p21 in the GTP-enhanced calcium ion sensitivity of smooth musclecontraction. *J Biol Chem*, 1992; 267: 8719-22.
- 120.** Nishiki T, Narumiya S, Morii N, Yamamoto M, Fujiwara M, Kamata Y, Sakaguchi G, and S Kozaki. ADP-ribosylation of the rho/rac proteins induces growth inhibition, neurite outgrowth andacetylcholine esterase in cultured PC-12 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; 167: 265-72.
- 121.** Mabuchi I, Hamaguchi Y, Fujimoto H, Morii N, Mishima M, and Narumiya S. A rho-like protein is involved in the organisation of the contractile ring in dividing sand dollar eggs. *Zygote*,1993; 1: 325-31.
- 122.** Takai Y, Sasaki T, Matzaki T. Small GTP-Binding Proteins. *Physiol Rev*, 2001; 81: 1, 153-208.
- 123.** Casey PJ, Seabra MC. Protein prenyl transferases. *J Biol Chem*, 1996; 271: 5289-5292.
- 124.** Olofsson B. Rho guanine dissociation inhibitors: pivotal molecules in cell signaling. *Cell Signal*, 1999; 11: 545-554.
- 125.** Buhl AM, Johnson NL, Dahanasekaran N, Johnson GL. G alpha 12 and G alpha 13 stimulate Rho-dependent stress fiber formation and focal adhesion assembly. *J Biol Chem*, 1995; 270: 24631-24634.
- 126.** Dhanasekaran N, Dermott JM. Signaling by the G12 class of G proteins. *Cell Signal*, 1996; 8: 235-245.
- 127.** Somlyo AV. New roads leading to Ca²⁺ sensitization. *Circ Res*, 2002; 91: 83-84.

128. Rho family GTPases Edited by ED. Manser Principle Investigator, Institute of Molecular and Cell Biology, Singapore
129. Amano M, Fukato Y, Kaibuchi K. Regulation and function of Rho-associated kinase. *Exp Cell Res*, 2000; 261, 44-51.
130. Amano, M, Ito M, Kimura K, Fukata Y, Chihara K, Nakano T, Matsuura Y, Kaibuchi. K. Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho- kinase). *J Biol Chem*, 1996; 271: 20246-9.
131. Hartshorne, DJ, Ito M, and Erdodi F. Myosin light chain phosphatase: subunit composition, interactions and regulation. *J Muscle Res Cell Motil*. 1998; 19: 325-41.
132. Takahashi N. Lokalizasyon of the gene coding for ROCKII/Rho kinase on human chromosome 2p24. *Genomics*, 1999; 55: 235-237.
133. Riento K, Ridley AJ. Rocks: multifunctional kinases in cell behaviour. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 446–456.
134. Shi J, Wei L. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp* 2007; 55: 61-75.
135. Ishizaki T, Maekawa M, Fujisawa K, Okawa K, Iwamatsu A, Fujita A, Watanabe N, Saito Y, Kakizuka A, Morii N, Narumiya S. The small GTPbinding protein Rho binds to and activates a 160 kDa Ser/Thr protein kinase homologous to myotonic dystrophy kinase. *EMBO J* 1996; 15: 1885-93.
136. Özdemir A, Ark M. Rho kinaz ve apoptoz. *Mersin üniv. Sağlık bilim derg.* 2009; 2: 1-9
137. Amano M, Chihara K, Nakamura N, Kaneko T, Matsuura Y, Kaibuchi K. The COOH terminus of Rho-kinase negatively regulates Rho-kinase activity. *J Biol Chem* 1999; 274: 32418-24.
138. Fujisawa K, Fujita A, Ishizaki T, Saito Y, Narumiya S. Identification of the Rho binding domain of p160ROCK, a Rho associated coiled-coil containing protein kinase. *J Biol Chem* 1996; 271: 23022-8.

139. Coleman M L, Sahai E A, Yeo M, Bosh M, Dewar A, Olson MF. Membran blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 339-45.
140. Sebbagh M, Renvoize C, Hamelin J, Riche N, Bertoglio J, Breard J. Caspase-3-mediated cleavage of ROCK I induces MLC phosphorylation and apoptotic membrane blebbing. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 346-52.
141. Sapet C, Simoncini S, Loriod B, Puthier D, Sampol J, Nguyen C, Dignat-George F, Anfosso F. Thrombin induced endothelial microparticle generation: identification of a novel pathway involving ROCK II activation by caspase-2. *blood* 2006; 108: 1868-76.
142. Feng J, Ito M, Kureishi Y, Ichikawa K, Amano M, Isaka N, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K, Hartshorne DJ, Nakano T. Rho-associated kinase of chicken gizzard smooth muscle. *J Biol Chem* 1999; 274: 3744-52.
143. Shirao S, Kashiwagi S, Sato M, Miwa S, Nakao F, Kurokawa T, Todoroki-Ikeda N, Mogami K, Mizukami Y, Kuriyama S, Haze K, Suzuki M, Kobayashi S. Sphingosylphosphorylcholine is a novel Messenger for Rho kinase mediated Ca^{+2} sensitization in the bovine cerebral artery: unimportant role for protein kinase. *C Circ Res* 2002; 91: 112-9.
144. Ward Y, Yap SF, Ravichandran V, Matsumura F, Ito M, Spinelli B, Kelly K. The GTP binding proteins Gem and Rad are negative regulators of Rho/Rho kinase pathway. *J Cell Biol* 2002; 157: 291-302.
145. Riento K, Guash RM, Garg R, Jin B, Ridley AJ. Rho E binds to ROCK I and inhibits down stream signalling. *Moll Cell Biol* 2003; 23: 4219-29.
146. Liao JK, Seto M, Noma K. Rho Kinase (ROCK) Inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol*, 2007; 50: 17-24.
147. Mueller BK, Mack H, Teusch N. Rho-kinase, a promising drug target for neurological disorders. *Nature reviews Drug Discovery*, 2005; 4: 387-398.

148. Shimokawa H, Takeshita A. Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25: 1767-1775.
149. Nobes C, Hall A. Regulation and function of the Rho subfamily of small GTPases. *Curr. Opin. Genet. Dev*, 1994; 4: 77-81.
150. Oshiro N, Fukata Y, Kaibuchi K. Phosphorylation of moesin by Rho-associated kinase (Rhokinase) plays a crucial role in the formation of microvilli-like structures. *J Biol Chem*, 1998; 273: 34663-34666.
151. Amano M, Mukai H, Ono Y, Chihara K, Matsui T, Hamajima Y, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Identification of a putative target for Rho as a serine-threonine kinase, PKN. *Science*, 1996; 271: 648-650.
152. Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, Yamamori B, Feng J, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science*, 1996; 273: 245-248.
153. Watanabe N, Madaule P, Reid T, Ishizaki T, Watanabe G, Kakizuka A, Saito Y, Nakao K, Jockusch BM, Narumiya S. p140mDia, a mammalian homolog of *Drosophila* diaphanous, is a target protein for Rho small GTPase and is a ligand for profilin. *EMBO J*, 1997; 16: 3044-3056.
154. Madaule P, Furuyashiki T, Reid T, Ishizaki T, Watanabe G, Morii N, Narumiya S. A novel partner for the GTP-bound forms of rho and rac. *FEBS Lett*, 1995; 77: 243-248.
155. Madaule P, Eda M, Watanabe N, Fujisawa K, Matsuoka T, Bito H, Ishizaki T, Narumiya S. Role of citron kinase as a target of the small GTPase Rho in cytokinesis. *Nature*, 1998; 394: 491-494.
156. Watanabe G, Saito Y, Madaule P, Ishizaki T, Fujisawa K, Morii N, Mukai H, Ono Y, Kakizuka A, Narumiya S. Protein kinase N (PKN) and PKN-related protein rhotekin as targets of small GTPase Rho. *Science*, 1996; 271: 645-648.
157. Reid T, Furuyashiki T, Ishizaki T, Watanabe G, Watanabe N, Fujisawa K, Morii N, Madaule P, Narumiya S. Rhotekin, a new

- putative target for Rho bearing homology to a serine/threonine kinase, PKN, and rhotillin in the rho-binding domain. *J. Biol. Chem*, 1996; 271: 13556-13560
- 158.** Singer WD, Brown HA, Sternweis PC. Regulation of eukaryotic phosphatidylinositol-specific phospholipase C and phospholipase D. *Annu. Rev. Biochem*, 1997; 66: 475-509.
- 159.** Imamura F, Mukai M, Ayaki M, Akedo H. Y-27632, an inhibitor of rho-associated protein kinase, suppresses tumor cell invasion via regulation of focal adhesion and focal adhesion kinase. *Jpn. Cancer Res*, 91: 811-816, 2000.
- 160.** Ying H, Biroc SL, Li WW, Alicke B, Xuan JA, Pagila R, Ohashi Y, Okada T, Kamata Y, Dinter H. The Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models. *Mol Cancer Ther*, 2006; 5: 2158-2164.
- 161.** Bourguignon LY, Zhu H, Shao L, et al. Rho-kinase (ROK) promotes CD44v(3,8–10)-ankyrin interaction and tumor cell migration in metastatic breast cancer cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 1999; 43: 269–287.
- 162.** Yoshioka K, Nakamori S, Itoh K. Overexpression of small GTP-binding protein RhoA promotes invasion of tumor cells. *Cancer Res* 1999; 59: 2004–2010.
- 163.** Itoh K, Yoshioka K, Akedo H, et al. An essential part for Rho-associated kinase in the transcellular invasion of tumor cells. *Nat Med* 1999; 5: 221–225.
- 164.** Fritz G, Kaina B. Rho GTPases: promising cellular targets for novel anticancer drugs, *Curr Cancer Drug Targets*, 2006; 6(1): 1-14.
- 165.** Klages B, Brandt U, Simon MI, Schultz G and Offermanns S (1999) Activation of G12/G13 results in shape change and Rho/Rho-kinase-mediated myosin light chain phosphorylation in mouse platelets. *J Cell Biol* 144:745–754.
- 166.** Fu X, Gong MC, Jia T, Somlyo AV and Somlyo AP (1998) The effects of the Rho kinase on arachidonic acid-, GTPγS-, and

- phorbol ester-induced Ca²⁺-sensitization of smooth muscle. FEBS Lett 440: 183–187.
- 167.** Kuwahara K, Saito Y, Nakagawa O, et al. The effects of the selective ROCK inhibitor, Y27632, on ET-1-induced hypertrophic response in neonatal rat cardiac myocytes: Possible involvement of Rho/ROCK pathway in cardiac muscle cell hypertrophy. 1999; FEBS Lett 452: 314–318.
- 168.** Yoshii A, Iizuka K, Dobashi K, Horie T, Harada T, Nakazawa T and Mori M. Relaxation of contracted rabbit tracheal and human bronchial smooth muscle by Y-27632 through inhibition of Ca²⁺ sensitization. Am J Respir Cell Mol Biol. 1999; 20: 1190–1200.
- 169.** Hirose M, Ishizaki T, Watanabe N, Uehata M, Kranenburg O, Moolenaar WH, Matsumura F, Maekawa M, Bito H and Narumiya S. Molecular dissection of the Rho-associated protein kinase (p160ROCK)-regulated neurite remodeling in neuroblastoma N1E-115 cells. J Cell Biol. 1998; 141: 1625–1636.
- 170.** Nobes CD and Hall A. Rho GTPases control polarity, protrusion, and adhesion during cell movement. J Cell Biol. 1999; 144: 1235–1244.
- 171.** Itoh K, Yoshioka K, Akedo H, Uehata M, Ishizaki T and Narumiya S. An essential part for Rho-associated kinase in the transcellular invasion of tumor cells. Nat Med 5, 1999: 221–225.
- 172.** Ishizaki T, Uehata M, Tamechika I, Keel J, Nonomura K, Maekawa M, Narumiya S. Pharmacological properties of Y-27632, a specific inhibitor of Rho-associated kinase. 2000; 57: 976-983.
- 173.** Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet (1994), 344: 1383–1389.
- 174.** Shepherd J, Cobbe S.M, Ford I. et al, for the West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart

- disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* (1995); 333: 1301–1307.
- 175.** Sacks F M, Pfeffer M A, Moye L A et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med.* (1996); 335: 1001–1009.
- 176.** Downs J R, Clearfield M, Weis S et al. Primary prevention of acute coronary events in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* (1998); 279: 1615–1622.
- 177.** The Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med.* (1998) 339: 1349–1357.
- 178.** Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* (2002) 360: 7–22.
- 179.** Shepherd J, Blauw G J, Murphy M B et al. On behalf of the PROSPER Study Group. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* (2002) 360: 1623–1630.
- 180.** Sever P S, Dahlo F B, Poulter N R et al, for the ASCOT Investigators. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial–Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* (2003) 361: 1149–1158.
- 181.** De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third joint task force of European and other societies

- on cardiovascular disease prevention in clinical practice *Eur Heart J.* (2003) 24: 1601–1610.
- 182.** Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther.* (1999) 84: 413–428.
- 183.** Hobbs H H, Brown M S, Goldstein J.L. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolaemia. *Hum. Mutat.* (1992) 1: 445–466.
- 184.** Maron D J, Fazio S, Linton M F. Current perspectives on statins. *Circulation* (2000) 101: 207–213.
- 185.** Ginsberg H N, Le N A, Short M P, Ramakrishnan R, Desnick R J. Suppression of apolipoprotein B production during treatment of cholesteryl ester storage disease with lovastatin: implications for the regulation of apolipoprotein B synthesis *J Clin Invest.* (1987) 80: 1692–1697.
- 186.** Grundy S.M. Consensus statement: role of therapy with statins in patients with hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol.* (1998) 81 (Suppl 4A) 1B–6B.
- 187.** Liao J K. Beyond lipid lowering: the role of statins in vascular protection. *Int J Cardiol.* (2002) 86: 5–18.
- 188.** Christians U, Jacobsen W, Floren L C. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in transplant patients: are the statins mechanistically similar? *Pharmacol. Ther.* (1998) 80: 1–34.
- 189.** Brown MS, Goldstein JL. (1980) Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *J Lipid Res.* 21: 505-517.
- 190.** Alberts AW, Chen J, Kuron G, et al. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of HMG CoA reductase and a cholesterol lowering agent. *Proc Natl Acad Sci USA* (1980) 77: 3957-3961.
- 191.** Hoffman WF, Alberts AW, Anderson PS, Chen JS, Smith RL, Willard AK. HMG CoA reductase inhibitors. Side chain ester derivatives of mevinolin. (1986) *J Med Chem* 29: 849-852.

192. Blum CB. Comparison of properties of four inhibitors of HMGCoA reductase. *Am J Cardiol* (1994) 73: 3D-11D.
193. Davidson M H. Rosuvastatin: a highly efficacious statin for the treatment of dyslipidaemia. *Expert Opin. Invest. Drugs* (2002) 11 125–141.
194. Gaw A, Packard C J. Comparative chemistry, pharmacology and mechanism of action of the statins, in: Gaw A, Packard C J, Shepherd J (Eds), *Statins. The HMG CoA reductase inhibitors in perspective*, Martin Dunitz, London, 2000: 49–61.
195. McTavish D, Sorkin E M. Pravastatin. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in hypercholesterolaemia. *Drugs* (1991) 42: 65-89.
196. McTaggart F, Buckett L, Davidson R, et al. Preclinical and clinical pharmacology of rosuvastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Am. J. Cardiol.* (2001) 87 (Suppl. B) 28–32.
197. Cilla D D Jr, Gibson D M, Whitfield L R, Sedman A J. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of atorvastatin after administration to normocholesterolemic subjects in the morning and evening. *J Clin Pharmacol.* (1996) 36: 604–609.
198. Tse F L, Jaffe J M, Troendle A. Pharmacokinetics of fluvastatin after single and multiple doses in normal volunteers. *J Clin Pharmacol.* (1992) 32: 630–638.
199. Pan HY, DeVault A R, Wang-Iverson D, Ivashkiv E, Swanson B N, Sugerman A A. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of pravastatin and lovastatin. *J Clin Pharmacol.* (1990) 30: 1128–1135.
200. Warwick M J, Dane A L, Raza A, Schneck D W. Single and multiple-dose pharmacokinetics and safety of the new HMGCoA reductase inhibitor ZD4522. *Atherosclerosis* (2000) 151-39.
201. Martin P D, Mitchell P D, Schneck D.W. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of a new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, after morning or evening administration in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* (2002) 54: 472–477.

202. Yang B-B, Smithers J A, Stern R H et al. Pharmacokinetics and dose proportionality of atorvastatin and its active metabolites. *Pharm Res* (1996) 13 (Suppl. 1) S437.
203. Lennerna s H. Clinical pharmacokinetics of atorvastatin. *ClinPharmacokinet.* (2003) 42 1141–1160.
204. Martin P D, Warwick M J, Dane A L, Brindley C, Short T. Absolute oral bioavailability of rosuvastatin in healthy white adult male volunteers. *Clin Ther.* (2003) 25: 2553–2563.
205. Garnett W R. Interactions with hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors. *Am J Health Syst Pharm.* (1995)52: 1639–1645.
206. Pan H Y, DeVault A R, Brescia D et al. Effect of food on pravastatin pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* (1993) 31: 291–294.
207. Hamelin B A, Turgeoun J. Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *TiPS* (1998) 19: 36–37.
208. Nezasa K, Higaki K, Takeuchi M, Nakano M, Koike M. Uptake of rosuvastatin by isolated rat hepatocytes: comparison with pravastatin. *Xenobiotica* (2003) 33: 379–388.
209. Bottorff M, Hansten P. Long-term safety of hepatic hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitors: the role of metabolism – monograph for physicians. *Arch Intern Med.* (2000) 160 2273–2280.
210. Michalets E L. Update: clinically significant cytochrome P-450 drug interactions. *Pharmacotherapy* (1998) 18: 84–112.
211. Knopp R H. Drug treatment of lipid disorders. *N Engl J Med.* (1999) 341: 498–511.
212. Singhvi SM, Pan H Y, Morrison R A, Willard D A. Disposition of pravastatin sodium, a tissue-selective HMG-CoA reductase inhibitor, in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* (1990) 29: 239–243.
213. Quion J A V, Jones P H. Clinical pharmacokinetics of pravastatin. *Clin Pharmacokinet.* (1994) 27: 94–103.

- 214.** Martin P D, Warwick M J, Dane A L et al. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy adult male volunteers. *Clin. Ther.* (2003) 25: 2822–2835.
- 215.** Simonson S G, Martin P D, Mitchell P, Schneck D W, Lassetter K C, Warwick M J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rosuvastatin in subjects with hepatic impairment. *Eur J Clin Pharmacol.* (2003) 58: 669–675.
- 216.** Olsson A G, Pears J, McKellar J, Mizan J, Raza A. Effect of rosuvastatin on low-density lipoprotein cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.* (2001) 88 504–508.
- 217.** Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. for the CURVES Investigators. Comparative dose efficacy of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolaemia. *Am J Cardiol.*(1998) 81: 582–587.
- 218.** Jones P H, Davidson M H, Stein E A. et al. for the STELLAR Study Group. Comparison of efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR Trial). *Am. J. Cardiol.* (2003) 92: 152–160.
- 219.** Robert W C. (1997) The rule of five and the rule of seven in lipid lowering by statin drugs. *Am J Cardiol* 80: 106-107.
- 220.** Black D M. A general assessment of the safety of HMG CoA reductase inhibitors (statins). *Curr Atheroscler Rep.* (2002) 4: 34–41.
- 221.** Ballantyne C M, Corsini A, Davidson M H et al. Risk for myopathy with statin therapy in high-risk patients. *Arch Intern Med.* (2003) 163: 553–564.
- 222.** Kajinami K, Mabuchi H, Saito Y. NK-104: a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. *Expert Opin Investig Drugs* (2000) 9: 2653–2661.
- 223.** Rosenson R S. Rosuvastatin: a new inhibitor of HMG-CoA reductase for the treatment of dyslipidemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* (2003) 1: 495–505.
- 224.** Acea bioscience <http://www.aceabio.com> erişim tarihi 03.09.2013

- 225.** Prichard CN, Kim S, Yazici YD et al (2007) Concurrent cetuximab and bevacizumab therapy in a murine orthotopic model of anaplastic thyroid carcinoma. *Laryngoscope* 117: 674–679.
- 226.** Kim S, Prichard CN, Younes MN et al (2006) Cetuximab and irinotecan interact synergistically to inhibit the growth of orthotopic anaplastic thyroid carcinoma xenografts in nude mice. *Clin Cancer Res* 12: 600–607.
- 227.** Wunderlich A, Roth A, Ramaswamy A, Greene B H, Brendel C, Hinterseher U, Bartsch D K, Hoffmann S. Combined inhibition of cellular pathways as a future therapeutic option in fatal anaplastic thyroid cancer. *Endocrine* (2012). 10: 1007.
- 228.** Podtcheko A, Ohtsuru A, Tsuda S, Namba H, Saenko V, Nakashima M, Mitsutake N, Kanda S, Kurebayashi J & Yamashita S. The selective tyrosine kinase inhibitor, STI571, inhibits growth of anaplastic thyroid cancer cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2003; 88: 1889–1896.
- 229.** Menter D G, Ramsever V P, Harirforoosh S et al. Differential effects of pravastatin and simvastatin on the growth of tumor cells from different organ sites. 2011; 6, 12: 1-13.
- 230.** Duncan RE, El-Sohemy A, Archer MC (2004) Mevalonate promotes the growth of tumors derived from human cancer cells in vivo and stimulates proliferation in vitro with enhanced cyclin-dependent kinase-2 activity. *J Biol Chem* 279: 33079–33084.
- 231.** Zhong W-B, Hsu S-P, Ho P-Y et al. Lovastatin inhibits proliferation of anaplastic thyroid cancer cells through up-regulation of p27 by interfering with the Rho/ROCK mediated pathway. *Biochemical pharmacology*, 2011: 1663-1672.
- 232.** Friis S, Poulsen AH, Johnsen SP, McLaughlin JK, Fryzek JP, Dalton SO, et al. Cancer risk among statin users: a population-based cohort study. *Int J Cancer* 2005; 114: 643–7.
- 233.** Kawata S, Yamasaki E, Nagase T, Inui Y, Ito N, Matsuda Y, et al. Effect of pravastatin on survival in patients with advanced

- hepatocellular carcinoma. A randomized controlled trial. *Br J Cancer* 2001; 84: 886–91.
- 234.** Konings IR, Gaast A, Wijk LJ, Jongh FE, Eskens FA, Sleijfer S. The addition of pravastatin to chemotherapy in advanced gastric carcinoma: a randomized phase II trial. *Eur J Cancer* 2010; 46: 3200–4.
- 235.** Lee J, Jung KH, Park YS, Ahn JB, Shin SJ, Im SA, et al. Simvastatin plus irinotecan 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) as first-line chemotherapy in metastatic colorectal patients: a multicenter phase II study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64: 657–63.
- 236.** Glynn SA, O’Sullivan D, Eustace AJ, Clynes M, O’Donovan N. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors, simvastatin, lovastatin and mevastatin inhibit proliferation and invasion of melanoma cells. *BMC Cancer* 2008; 8: 9.
- 237.** Han JY, Lim KY, Yu SY, Yun T, Kim HT, Lee JS. A phase 2 study of irinotecan, cisplatin and simvastatin for untreated extensive-disease small cell lung cancer. *Cancer* 2010; 117: 2178–85.
- 238.** Sivaprasad V, Abbas T, Dutta A. Differential efficacy of HMG CoA reductase inhibitors on the cell cycle of prostatic cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2006; 5(9): 2310-6

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrad derece
AGES	: Age, stage, extention, size
AMES	: Age, metastasis, extention, size
AP	: Anteroposterior
APC	: Adenamatöz polipozis koli
APUD	: Amin prekürsör uptake dekarboksilaz
AS	: Adenilat siklaz
ATCC	: American type culture collection
BT	: Bilgisayarlı tomografi
cAMP	: Siklik adenzin monofosfat
cm	: santimetre
DIT	: Diiodotironin
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EGF	: Epidermal growth faktör
EORTC	: European organization of research on treatment of cancer
FBS	: Fetal bovine serum
FPP	: Farnesil pirofosfat
Ga-67	: Galyum-67
GGPP	: Geranil geranil pirofosfat

HDL	: Yüksek molekül ağırlıklı lipoprotein
HMG KoA	: 3-hidroksi-3 metilglutaryl-koenzimA
I131	: İyot 131
İİAB	: İnce iğne aspirasyon biyopsisi
LDL-K	: Düşük molekül ağırlıklı lipoprotein-kolesterol
MACIS	: Metastasis, age, completeness of resection, local invasion, size
MEN	: Multiple endokrin neoplazi
MIT	: Monoiyodotironin
Mm	: Milimetre
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
MTK	: Medüller tiroid karsinomu
Na-K-ATPaz	: Sodyum potasyum adenin trifosfataz
NIS	: Sodyum iyot simporter
PA	: Posteroanterior
PAX	: Paired homeobox
PK	: Protein kinaz
PL	: Fosfolipaz
PTK	: Papiller tiroid karsinomu
Rb	: Retinoblastom
Rpm	: Revolution per minute, dakikadaki devir sayısı.
RPMI	: Roswell park memorial institute. (Besiyeri. İsmi, bulunduğu yerin başharflerinden almıştır.
RTCA	: Real Time Cell Analyzer, Gerçek zamanlı hücre analizi.

T3	: Triiyodotironin
T4	: Tiroksin
TBG	: Tiroksin bağlayıcı globulin
TBPA	: Tiroid bağlayıcı prealbümin
Tc99m	: Teknesyum 99m
TG	: Trigliserit
Tg	: Tiroglobulin
Tl-201	: Talyum-201
TNM	: Tümör, nod, metastaz
TPO	: Tiroid peroksidaz
TRH	: Tirotropin relasing hormon
TRK	: Tirozin kinaz
TSH	: Tiroid sitimulan hormon
TSH-R	: Tiroid sitimulan hormon reseptörü
TTF	: Tiroid transkripsiyon faktör
TTR	: Transtiretin
Usg	: Ultrasonografi

GRAFİK VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa No
Şekil 1. Rho aktivitesinin düzenlenmesi.	37
Şekil 2. ROCK1 ve ROCK2'nin şematik görünümü.	39
Şekil 3. Kolesterol ve prenile proteinlerin sentez basamakları.	42
Şekil 4. Tüm grupların zamana bağlı hücre indeks grafiği.	51
Şekil 5. Pravastatin 20 μ M ve 60 μ M grupları ile alkol grubunun hücre indeksi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.	52
Şekil 6. Atorvastatin 10 μ M ve 30 μ M grupları ile alkol grubunun hücre indeksi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.	53
Şekil 7. Y-27632 10 μ M ve 30 μ M grupları ile alkol grubunun hücre indeksi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması.	54
Şekil 8. Pravastatin ve Y-27632'nin kombinasyon gruplarının tek ilaç grupları ve alkol grubu ile karşılaştırılması.	55
Şekil 9. Atorvastatin ve Y-27632'nin kombinasyon gruplarının tek ilaç grupları ve alkol grubu ile karşılaştırılması.	56
Resim 1. Hücre kültürü ve ilaçların yerleştirildiği on altı kuyucuklu e-plate.	48
Resim 2. E-platedeki hücrelerin proliferasyonunu gösteren RTCA cihazı.	48

TABLolar DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1. Tiroid hastalıklarına yönelik yapılan biyokimyasal testler.	13
Tablo 2. Tiroid neoplazilerindeki genetik değişiklikler.	22
Tablo 3. Diferansiasyon derecesine göre tiroid karsinomlarının sınıf.	23
Tablo 4. Tiroid kanserlerinde EORTC, AGES, AMES ve MACIS evreleme sistemlerinin risk hesaplama metodları ve sağkalım oran.	25
Tablo 5. Tiroid karsinomlarının TNM evreleme sistemi.	27
Tablo 6. TNM sınıflamasının evre grupları.	28
Tablo 7. Hiperkolesterolemili hastalarda günlük 40 mg dozlar için gösterilen etki	44
Tablo 8. Statinlerin farmakokinetik ve farmakodinamik etkileri	45