



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİROİD PAPİLLER KANSER HASTALARINDA SERUM
KASPAZ-9, BCL-2 VE GOLGİ P73 DÜZEYİNİN
İNCELENMESİ**

ŞEYMA NUR YILDIZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

SIVAS-2020

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİROİD PAPİLLER KANSER HASTALARINDA SERUM
KASPAZ-9, BCL-2 VE GOLGİ P73 DÜZEYİNİN
İNCELENMESİ**

ŞEYMA NUR YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

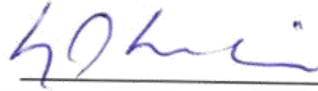
**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. HALEF OKAN DOĞAN**

SİVAS-2020

“Tiroid Papiller Kanser Hastalarında Serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 Düzeyinin İncelenmesi” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Biyokimya** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

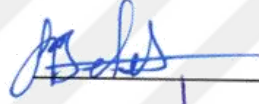
Başkan

Doç. Dr. Halef Okan Doğan



Üye

Dr. Öğr. Üyesi Serkan Bolat



Üye

Doç. Dr. Şengül Dilem Doğan



ONAY

Bu tez çalışması, 25.03.2020 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitiminin boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, teziminle ilgili her aşamada bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sevgili danışman hocam, Doç. Dr. Halef Okan Doğan'a

Serum örneklerinin toplanmasında destek olan Dr. Öğr. Üyesi Gülhan Duman'a,

Hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi yüksek lisans eğitiminin süresince de bana sevgi ve desteklerini eksik etmeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

ÖZET

TİROİD PAPİLLER KANSER HASTALARINDA SERUM KASPAZ-9, BCL-2, GOLGİ P73 DÜZEYİNİN İNCELENMESİ

Şeyma Nur Yıldız
Yüksek Lisans Tezi
Biyokimya Ana Bilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Halef Okan Doğan
2020, 76 sayfa

Tiroid kanserleri en sık görülen endokrin malignitelerden biridir. Tiroid kanserinin görülme sıklığı yaşa ve cinsiyete göre değişmektedir. Papiller tiroid kanseri (PTK) tüm tiroid kanserleri içinde en sık görülenidir. Hastalığın gelişiminde çeşitli genetik ve çevresel faktörler sorumludur. Bu çalışmada amacımız; papiller tiroid kanserinde Golgi Protein 73 (GP73), B hücreli lenfoma lösemi-2 (BCL-2) ve Kaspaz-9 (CASP9) seviyelerini belirlemek ve sağlıklı kontrollerdeki düzeyleri ile karşılaştırmaktır. Bu çalışmaya Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniğine başvuran 31 adet papiller tiroid kanseri hastası ve 44 adet sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Hasta ve kontrollerin serum GP73, BCL-2, CASP9 düzeyleri ticari ELISA (Enzime Bağlı İmmüno sorban Testi) kiti kullanılarak ölçülmüştür. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, serum GP73 ($p = 0,0253$), BCL-2 ($p < 0,0001$), CASP9 ($p = 0,0055$) seviyeleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak artan CASP9 düzeyinin PTK hastalarında artmış apoptotik aktivitenin bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca CASP9 ve BCL-2'nin apoptozun düzenlenmesindeki sırayla apoptotik ve anti-apoptotik rolleri göz önüne alındığında PTK hastalarında bozulmuş apoptotik dengenin hastalığın oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Son olarak serum GP73 ölçümünün PTK tanısında kullanılabilecek bir biyobelirteç adayı olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Papiller Tiroid Kanseri, Apoptoz, Kaspaz, BCL-2, Golgi Protein 73

ABSTRACT

EXAMINATION OF SERUM CASPASE-9, BCL-2 AND GOLGI P73 LEVELS IN THYROID PAPILLARY CANCER PATIENTS

Şeyma Nur YILDIZ

Master Thesis

Department of Biochemistry

Supervisor: Doç. Dr. Halef Okan Doğan

2020, 76 Page

Thyroid cancers are one of the most common endocrine malignancies. The incidence of thyroid cancer varies according to age and gender. Papillary thyroid cancer (PTC) is the most common of all thyroid cancers. Various genetic and environmental factors are responsible for the development of the disease. Our aim in this study; to determine Golgi Protein 73 (GP73), B cell lymphoma leukemia-2 (BCL-2) and Caspase-9 (CASP9) levels in papillary thyroid cancer and compare them with the levels of healthy controls. This study included 31 papillary thyroid cancer patients and 44 healthy controls who applied to the Endocrinology and Metabolic Diseases Clinic of Sivas Cumhuriyet University Medical Faculty Research and Application Hospital. Serum GP73, BCL-2, CASP9 levels of patients and controls were measured using the commercial ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) kits. According to the results obtained from the study, serum GP73 ($p= 0.0253$), BCL-2 ($p <0.0001$), CASP9 ($p = 0.0055$) levels were higher in the patient group than the control group. As a result, it is thought that increased CASP9 level may be an indicator of increased apoptotic activity in PTC patients. Considering the apoptotic and anti-apoptotic roles of CASP9 and BCL-2 in order to regulate apoptosis, impaired apoptotic balance is thought to be effective in the formation of the disease. Finally we think that serum GP73 measurement may be a biomarker candidate that can be used in the diagnosis of PTC.

Key words: Papillary Thyroid Cancer, Apoptosis, Caspase, BCL-2, Golgi Protein 73

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
YÖNERGE	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tiroid Kanseri	5
2.1.1. Tarihçe	5
2.1.2. Epidemiyoloji	5
2.1.3. Etiyoloji	6
2.1.4. Tiroid Kanser Türleri	6
2.1.4.1 Tiroid Papiller Kanseri	8
2.1.4.1.1. Tiroid Papiller Kanseri Epidemiyolojisi	8
2.1.4.1.2. Tiroid Papiller Kanseri Varyantları	8
2.2. Apoptoz	9
2.2.1. Apoptoz Mekanizmaları	14
2.2.2. Apoptozun Patolojik veya Fizyolojik Rolü	16
2.2.3. Kanserde Apoptoz	17
2.2.4. Kaspazlar	18
2.2.4.1. Kaspaz-9	20
2.2.5. BCL-2 Protein Ailesi ve BCL-2 Geni	21

2.2.6. Golgi Protein 73	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Kullanılan Gereçler	26
3.2. Çalışma Grubunun Oluşturulması	26
3.3. Serum BCL-2 Tayini	27
3.4. Serum Kaspaz-9 Tayini	27
3.5. Serum Golgi Protein 73 Tayini	28
3.6. TSH Tayini	29
3.7. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
6. KAYNAKLAR	44
EKLER	
EK 1. Hasta Grubu Bilgilendirilmiş Olur Formu	54
EK 2. Kontrol Grubu Bilgilendirilmiş Olur Formu	57
İZİNLER	
EK 3. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı Kurul Kararı	60
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Şekil-1: Tiroid Anatomisi	3
Şekil-2: Tiroid Bezi ve Komşulukları	3
Şekil-3: Apoptozun Aşamaları	12
Şekil 4: Apoptozun İntrinsik ve Ekstrinsik Yolları	15
Şekil 5: Korelasyon Grafiği	35

GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Grafik 1:Kaspaz-9 Standart Eğri Grafiği	31
Grafik 2: Kaspaz-9 Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği	32
Grafik 3: BCL-2 Standart Eğri Grafiği	32
Grafik 4: BCL-2 Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği	33
Grafik 5: GP73 Standart Eğri Grafiği	33
Grafik 6: GP73 Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği	34
Grafik 7: TSH Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği	34

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1: Tiroid Kanseri Tiplerine Ait İnsidans Bilgileri	5
Tablo 2: Tiroid Tümörlerinin Sınıflandırılması	7
Tablo 3: Papiller Tiroid Kanseri Varyantları	9
Tablo 4: Apoptozun Başlıca Özellikleri	10
Tablo 5: Apoptozu Uyarıcı Sinyaller	11
Tablo 6: Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	13
Tablo 7: Apoptoz İçeren Durumlar	16
Tablo 8: Çalışmada Kullanılan Gereçler	26
Tablo 9: Hasta ve Kontrollere Ait Yaş ve Cinsiyet Bulguları	30
Tablo 10: Kontrol ve Hasta Gruplarında Serum GP73, CASP9, BCL-2, TSH Düzeylerinin Karşılaştırılması	35

KISALTMALAR/SİMGELER

°C	Santigrat derece
AIDS	Kazanılmış immün yetersizlik sendromu
Apaf-1	Apoptoz aktive edici faktör-1
BCL-2	B hücreli lenfoma lösemi-2
BH	BCL2 Homoloji
Ca	Kalsiyum
CASP1	Kaspaz-1
CASP10	Kaspaz-10
CASP11	Kaspaz-11
CASP12	Kaspaz-12
CASP3	Kaspaz-3
CASP6	Kaspaz-6
CASP7	Kaspaz-7
CASP8	Kaspaz-8
CASP9	Kaspaz-9
cm	Santimetre
dATP	Deoksi-adenozin trifosfat
DISC	Ölüme neden olan sinyal kompleksi
DIT	Diiyodotirozin
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EKO	Ekokardiyografi
ELISA	Enzime Bağlı İmmünosorban Testi

EP	Ependorf
ER	Endoplazmik Retikulum
GOLM-1	Golgi mebran proteini-1
GP73	Golgi protein 73
HRP	Horse Radish Peroksidaz
I⁻	İyodür
I	İyot
Kaspaz	Sisteine bağımlı aspartata özgü proteaz
kDa	Kilodalton
MIT	Monoiyodotirozin
mL	Mililitre
Na	Sodyum
ng	Nanogram
PTK	Papiller Tiroid Kanseri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
T3	Triiyodotironin
T4	Tiroksin
TFT	Tiroid fonksiyon testi
TMNG	Toksik Multi Nodüler Guatr
TNF	Tümör nekroz faktörü
TSH	Tiroid Stimüle Edici Hormon
USG	Ultrasonografi
µIU	Mikroünite
µL	Mikrolitre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid kanseri tüm dünyada görülebilen bir sağlık problemidir. İnsidansı son yıllarda yaklaşık üç kat artmıştır (Siegel vd., 2020). Tiroid kanserlerinin dörtte üçünden fazlası papiller tiroid karsinomları (PTK)'dır (Xue vd., 2016). PTK'nın patogenezi hala tam olarak aydınlatılmamıştır (Li vd., 2018). Mevcut çalışmalar radyasyon ve genetik duyarlılığın PTK'nın başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (Fan vd., 2017). PTK kadınlarda ve 20-55 yaş grubunda daha sık görülür (Dinets vd., 2012). Tanı genellikle ultrason ve ince iğne aspirasyon biyopsisine dayanır. Diğer organlara metastaz yapabilmesine rağmen hastalığın sağkalım oranları yüksektir.

Apoptoz çok hücreli organizmalarda meydana gelen programlı hücre ölüm şeklidir. Apoptoz birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli rol oynar. Ekstrinsik yol ve intrinsik yol olmak üzere başlıca iki apoptotik yol tanımlanmıştır (Meier vd., 2000).

Kaspazlar (cysteine-dependent aspartate specific proteases), apoptoz ile ilişkili sisteine bağımlı, aspartata özgü proteazlardır. Kaspaz-9 (CASP9) kaspaz ailesinin önemli bir üyesidir. CASP9 intrinsik apoptoz yolunda görevlidir. Mitokondriyal iç zarda bulunan bir protein olan sitokrom c'nin salınmasını sağlar. CASP9, bir başlatıcı kaspaz olarak efektör kaspazlardan kaspaz-3 (CASP3) ve kaspaz-7 (CASP7)'yi aktive eder. Böylece apoptozun başlama sinyalinin oluşmasına ve apoptozun gerçekleşebilmesine aracılık etmektedir (Liu vd., 2017; Yang vd., 2019).

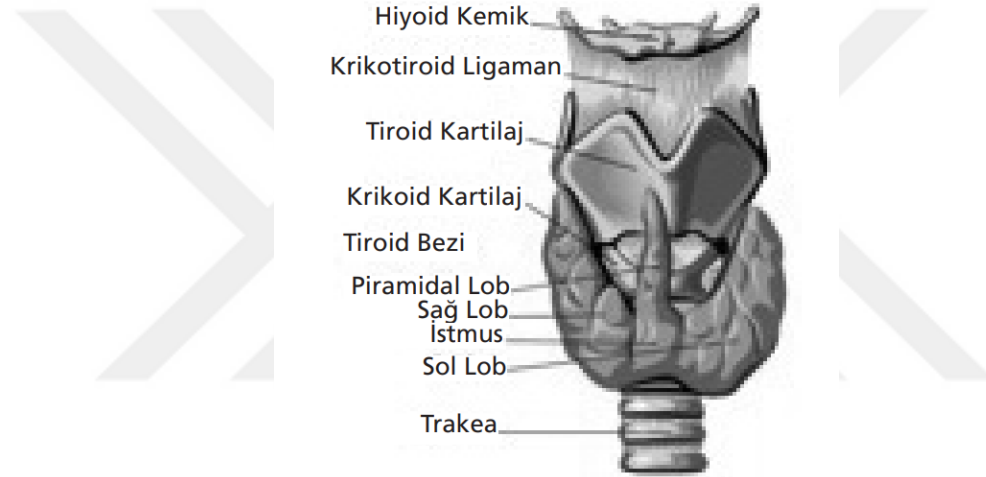
BCL-2 (B hücreli lenfoma lösemi-2), intrinsik apoptotik yolun düzenlenmesinde görevli bir proteindir. Anti-apoptotik ve pro-apoptotik BCL-2 aile üyeleri arasındaki denge apoptotik yolu düzenler (Anagnostou vd., 2010). Anti-apoptotik proteinler baskın olduğunda apoptoz kontrol altında tutulur. Pro-apoptotik proteinler baskın olduğunda apoptoz tetiklenir. Bununla birlikte, BCL-2 proteinlerinin lokalizasyonu ve konformasyonu da aktivitenin düzenlenmesinde önemlidir. Apoptotik sürecin kontrolünde rolü en iyi tanımlanmış olan ve aynı zamanda bir antioksidan olarak da bilinen BCL-2 proteini bu ailenin anti-apoptotik üyesidir (Campbell ve Tait, 2018).

Golgi proteini 73 (GP73) aynı zamanda Golgi fosfoproteini 2 (GOLPH2) olarak da adlandırılan, golgi kompleksi içinde bulunan 73 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Hücre içi lokalizasyonu göz önüne alındığında, GP73'ün prostat, bağırsak, meme, tiroid ve merkezi sinir sistemi içinde ekstrahepatik dokularda eksprese edildiği bulunmuştur (Abdel ve Allam, 2017).

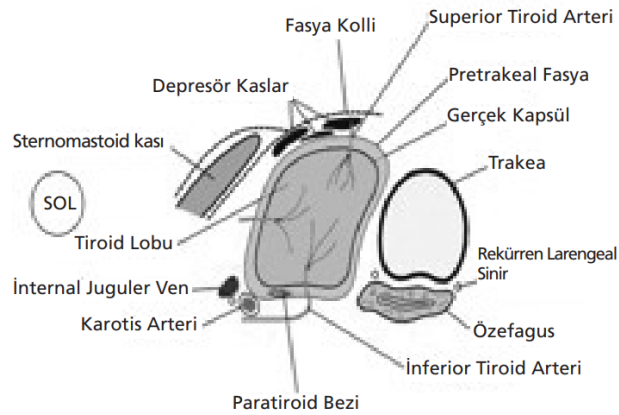
Bu çalışma da PTK hastalarında serum CASP9, BCL-2 ve GP73 düzeylerinin ELISA yöntemi ile saptanması ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması amaçlanmıştır. PTK'da bu biyobelirteçlerin beraber çalışıldığı başka bir araştırmaya rastlanmamıştır. Çalışmada hasta grubunda TSH, nodül çapı, nodül sayısı, BCL-2, CASP9 ve GP73 düzeyleri arasında korelasyon analizi de yapılmıştır. Bu çalışmadan elde edilecek veriler hastalığın oluşumunda apoptozun rolü ile ilgili önemli bilgiler elde etmemizi sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Tiroid bezi kahverengi renkte ve sert kıvamlıdır (Purohit vd., 2014). Tiroid bezinin normal ağırlığı yaklaşık 10-20 gram olmakla beraber, vücut ağırlığı ve iyot alımına bağlı olarak ağırlığı değişmektedir. Tiroid bezi boyun ön-alt kısmında, trakeanın her iki tarafına lokalize, iki lobdan (sağ lob, sol lob veya sağ tiroid, sol tiroid) oluşur. Her iki lob tiroid bezinin alt kısmında, trakeanın önünde seyreden ve isthmus adı verilen boyun kısmı ile birbirine bağlanır (Şekil 1). Her lob ortalama 5 santimetre (cm) uzunluğunda, 2.5 cm genişliğinde ve 1.5 cm derinliğindedir. Tiroid bezi iki majör arterden beslenir. Bunlar; süperior tiroid arter ve inferior tiroid arterdir (Şekil 2) (Binboga vd., 2019).



Şekil 1. Tiroid Anatomisi (Akçakaya vd., 2012)



Şekil 2. Tiroid Bezi ve Komşulukları (Akçakaya vd., 2012)

Tiroid bezi; tiroid hormonlarının sentezi, depolanması ve salgılanması yoluyla vücut metabolizmasını, büyümesini ve gelişmesini sağlayan endokrin bir organdır. Bu hormonlar arasında triiyodotironin (T3), tiroksin (T4) ve kalsitonin bulunur (Soh ve Aw, 2019). Tiroid bezi çeşitli metabolizmaların, büyümenin ve kalsiyum (Ca) gibi elektrolitlerin serum konsantrasyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynar. İyot sadece beslenme ile alınabilen önemli bir mikro besindir (Portulano vd., 2014). Kan dolaşımında iyonize formu olan iyodür (I⁻) şeklinde bulunur. İyot tiroid hormon sentezi için gerekli bir eser elementtir. T4'ün moleküler ağırlığının %65'ini T3'ün ise %59'unu oluşturur (Arrangoiz vd., 2018). Kan yolu ile tiroid bezine gelen I⁻ adenosin trifosfat (ATP)'a bağımlı aktif bir işlemle tiroid folikül hücresi içerisine taşınır. Folikül hücre membranı apikal yüzeyde bulunan pendrin adı verilen klor/iyot taşıyıcısı tarafından foliküler lümene salınır (Fong, 2011). Tiroid hormon sentezinde öncü protein olan tiroglobulin apikal membrandan mikroveziküller aracılığı ile hücre içerisine alınır ve iyot ile organifiye edilir, monoiyodotirozin (MIT) ile diiyodotirozin (DIT) olarak isimlendirilen iyotlu tirozil türevleri oluşur ve daha sonra MIT ve DIT, T3 ve T4 hormonlarını oluşturmak üzere birleşir. Bütün bu süreç tiroid-peroksidaz enzimi tarafından katalize edilmektedir (Dunn ve Dunn, 2001) . Tiroid hormon sentezi için gerekli olan tüm biyokimyasal yollar hipotalamustan salınan tirotropin relasing hormon, hipofiz bezinden salgılanan TSH ve dolaşımda bulunan T3 ve T4 tarafından negatif feedback mekanizması ile kontrol edilir. Kontrol mekanizması üzerinde baskın olarak etkili olan TSH ve dolaşımda bulunan tiroksindir (Akçakaya vd., 2012).

Tiroid bezinin çok fazla hormon üretmesi (hipertiroidizm) veya yeterli tiroid hormonu üretememesi (hipotiroidizm) durumları farklı klinik bulgulara neden olur. Tiroid hormon düzeyindeki dengesizlik, diğer organ ve sistemlerin çalışmasını da olumsuz etkilediğinden tiroid bezi fonksiyonları, genel vücut sağlığı açısından da oldukça önemlidir (Allen ve Fingeret, 2019).

2.1. TİROİD KANSERİ

2.1.1. Tarihçe

Bu bez ilk olarak Galen (Galenos M.S.129-198) tarafından tarif edilmiştir. (Kaplan vd., 2000). Tiroid terimi Yunanca “Thyreoeides”den gelir ve kalkan anlamına gelmektedir (Becker, 1977). İlk kez İtalya’da Floransalı sanatçı Leonardo Da Vinci 1511’de tiroidi resmetmiştir (“History of Medicine: Leonardo Da Vinci and the Elusive Thyroid | Columbia University Department of Surgery”, 2019). Tiroid bezindeki büyümeler 3500 yıldan fazla bir süredir bilinmekle birlikte, antik çağdan kalan belgelere göre ilk olarak Celcus boyundaki kitleleri tanımlamış ve cerrahi olarak çıkarılmalarının çok tehlikeli olduğu bildirilmiştir (Donaldson, 2014). Tiroid cerrahisi ile ilgili kaynaklar, boyun kitlelerinin cerrahi müdahale ile başarısının on dokuzuncu yüzyılın ikinci yarısına kadar sınırlı olduğunu göstermektedir. Tiroid cerrahisinin gelişimine öncülük eden isimler arasında Emil Theodor Kocher, Theodor Billroth, William James Mayo ve William Stewart Halsted bulunmaktadır (Allen ve Fingeret, 2019). Hatta Bern Üniversitesinden Emil Theodore Kocher 1909 yılında fizyoloji, patoloji ve tiroid bezinin cerrahisi alanındaki çalışmalarından dolayı Nobel Tıp Ödülü almaya hak kazanmıştır (Akçakaya vd., 2012).

2.1.2. Epidemiyoloji

Tiroid kanserleri en yaygın endokrin malignitelerdendir. Tiroid kanserlerinin insidansı son yıllarda artmaya devam etmektedir. Yıllık insidans coğrafi bölgeye, yaşa ve cinsiyete göre değişmektedir. Tiroid kanser tiplerine ait insidans bilgileri Tablo 1’de ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir (Bikas ve Burman, 2019).

Tablo 1: Tiroid Kanseri Tiplerine Ait İnsidans Bilgileri (Siironen, 2005)

Tiroid Kanseri Tipleri	Görülme Olasılığı (%)	Görülme yaşı	10 yıllık sağ kalım oranı (%)
Papiller	70-80	30-50	93-98
Foliküler	10-15	40-60	85-93
Medullar	5-10	40-60	75-80
Anaplastik	1-2	60-80	3-14

Türkiye’de büyük çoğunluğu PTK olmak üzere tiroid kanseri insidansı kadınlarda yüz binde 4,0-8,44 arasında değişmektedir. Erkeklerde ise yüz binde 1’dir. Her iki cinse birlikte bakıldığında yüz binde 2,5 olduğu belirtilmektedir. Mortalite oranı kadınlarda yaklaşık yüz binde 1,6 iken erkeklerde 0,5 her iki cinse birlikte bakıldığında ise 1,1 olduğu belirtilmiştir (“Global Cancer Observatory”, 2019).

2.1.3. Etiyoloji

Tiroid nodüllerinin oluşum mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Patogenezde birçok faktörün rol oynadığı kabul edilmektedir (Krohn vd., 2005). Bu faktörlerden biri cinsiyettir. Tiroid kanserleri kadınlarda daha sık görülmekle birlikte erkeklerde daha agresif seyredebilmektedir. Tiroid kanserinin gelişiminde beslenme yetersizlikleri, sigara kullanımı, bazı ilaçlar, doğadaki çeşitli guatrojenler, stres, bazı enfeksiyonlar, genetik yatkınlık, radyasyon maruziyeti ve aile öyküsü gibi çok sayıda etkenin rol oynadığı belirtilmektedir. Birinci derece yakınlarında tiroid kanseri öyküsü olan bireylerde tiroid kanseri gelişimi riskinin arttığı bilinmektedir (Liu vd., 2017; Pellegriti vd., 2013). PTK olan tüm hastaların %5’inde ailesel PTK vardır. Özellikle Multiple Endokrin Neoplazm ve Ailesel Adenomatöz Polipozis gibi bazı kalıtsal hastalıklar birden çok tiroid kanseri gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Çocukluk döneminde radyasyona maruz kalınması tiroidin benign ve malign tümörleri ile ilişkili en açık tanımlanmış çevresel faktördür. Potansiyel radyasyona maruz kalma kaynakları; nükleer santral kazaları (örneğin Çernobil), atomik silahlar (Nagasaki, Hiroşima) ve radyasyonun terapötik olarak kullanımlarını içerir. İyot alımı tiroid malignitesinin insidansını ve prevalansını etkileyebilir ve daha spesifik olarak PTK riskini artırabilir (Bikas ve Burman, 2019; Hegedüs vd., 2003; Limaiem ve Mazzoni, 2018).

2.1.4. Tiroid Kanseri Türleri

Tiroid kanserleri üç farklı hücre grubundan gelişebilirler. Bunlar; tiroid folikül hücreleri, parafoliküler C hücreleri ve tiroid içerisindeki diğer hücrelerdir (Carling ve Udelsman, 2014). Tiroid kanserleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’ya göre Tablo 2 de ki gibi sınıflandırılmıştır (Lam, 2017).

Tablo 2: Tiroid Tümörlerinin Sınıflandırılması (Lam, 2017) (Lloyd vd., 2017)

I. Epitelyal Tümörler

Foliküler hücre tümörleri

- İyi huylu foliküler tümörler
- Foliküler adenom
- Hyalinize edici trabeküler tümör
- Hürthle hücre adenomu
- İyi sınırlı foliküler tümörler
- FT-UMP (Belirsiz malign potansiyeli olan tiroid tümörleri)
- WDT-UMP (Belirsiz malign potansiyelin iyi diferansiye neoplazmı)
- NIFTP (Papiller benzeri nükleer özelliklere sahip noninvaziv foliküler tiroid neoplazmı)
- Karsinom
- Papiller karsinom
- Hürthle karsinomu
- Kötü diferansiye karsinom
- Foliküler karsinom
- Skvamöz hücre karsinoması
- Anaplastik (farklılaşmamış) karsinom

Diğer epitelyal tümörler

- Tükürük bezi tipi karsinomlar
- Mukoepidermoid karsinom
- Eozinofili ile sklerozan mukoepidermoid karsinom
- Müsinöz karsinom
- Timik tümörler
- Ektopik timoma
- İntratiroid epitelyal timoma / CASTLE
- Timus benzeri farklılaşma ile iç epitel tümörü

Medüller Tiroid Karsinoma

II. Epitelyal Olmayan Tümörler

Paraganglioma

Periferik sinir kılıfı tümörleri

- Schwannom
- Malign periferik sinir kılıfı tümörü

Vasküler tümörler

- Hemanjiyoma, lenfanjiyoma
- Anjiyosarkom

Düz kas tümörleri

- Leiomyoma
- Leiomyosarkoma

Soliter fibröz tümör

Histiositik tümörler

- Langerhans hücre histiyositozu
- Rosai-Dorfman hastalığı
- Foliküler dendritik hücre sarkomu

Lenfoma

Teratoma

III. İkincil Tümörler

2.1.4.1 Tiroid Papiller Kanseri

PTK, Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre belirgin çekirdek özellikleri taşıyan folliküler epitel hücresi kökenli kötü huylu epitelyal tümördür. Özgün nükleus yapısına sahiptir ("Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. Third edition - WHO - OMS -", 2019).

2.1.4.1.1 Papiller Tiroid Kanseri Epidemiyolojisi

PTK en sık görülen tiroid kanseri tipidir. Tiroid kanserlerinin yaklaşık %80'ini oluşturur (Schlumberger, 2013). Hastalığın görülme oranı kadınlarda erkeklere göre dört kat daha fazladır (Limaiem ve Mazzoni, 2018). Tüm yaş gruplarında PTK insidansı artış göstermekte olup, en fazla artış görülen grup üreme çağındaki kadınlardır (Adaş vd., 2012). Çocuklarda nadir olmasına rağmen, PTK hala en yaygın pediatrik tiroid malignitesidir (Lim vd., 2017).

2.1.4.1.2 Papiller Tiroid Kanseri Varyantları

Çok sayıda PTK varyantı tanımlanmıştır. Bu varyantlar WHO tarafından sınıflandırılmıştır (Lam, 2017) (Tablo 3). En önemli varyantlar klasik, mikrokarsinom, foliküler, difüz sklerozan, onkositik (Hürthle hücreli), uzun hücreli ve kolumnar hücre varyantlarıdır (Limaiem ve Mazzoni, 2018).

Tablo 3: Papiller Tiroid Kanseri Varyantları (Lam, 2017)

Papiller Tiroid Kanseri Varyantları
1. Klasik
2. Papiller mikrokarsinom
3. Kapsüllü
4. Foliküler Varyant
5. Diffüz Sklerozan Varyant
6. Uzun hücreli Varyant
7. Kolumnar Hücreli Varyant
8. Kribriform-Morüler Varyant
9. Hobnail
10. Fibromatozis / fasyati benzeri stroma ile papiller tiroid karsinomu
11. Solid / trabeküler Varyant
12. Onkositik Varyant
13. Mil hücresi
14. Şeffaf hücreli varyant
15. Warthin benzeri varyant

2.2. Apoptoz

Apoptoz terimi ilk kez 1972’de hücre ölümünün programlanmış formunu tanımlamak için kullanılmıştır (Kerr vd., 1972). Eski Yunanca’da apoptoz sonbaharda ağaçlardan ve çiçeklerden yaprakların dökülmesi anlamına gelmektedir (Degli Esposti, 1998). Apo (ayrı) ve ptosis (düşen) kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşmuştur (Israels ve Israels, 1999). Apoptoz, embriyonun gelişimi, farklılaşmış olgun hücrelerin yapım (mitozis)-yıkım hızının düzenlenmesi ve bağışıklık sistemin normal fonksiyon görebilmesi için gerekli bir mekanizmadır (Azzwali ve Azab, 2019). Apoptozun başlıca özellikleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4: Apoptozun Başlıca Özellikleri (Hetts, 1998)

Özellikler	Apoptoz
Uyaran	Fizyolojik ve patolojik koşullar (ATP tüketimi olmaksızın)
Enerji gereksinimi	ATP'ye bağlı
Histoloji	Kromatin kondensasyonu, apoptotik cisimcikler, izole tek hücrenin ölümü
DNA kırık modeli	185 baz çiftlik kırıklar şeklinde ladder (ip merdiven) görüntüsünde
Plazma zarı	Parçalanmamış halde (Moleküler değişikliklerle birlikte)
Hücrelerin fagositozu	Komşu hücrelerle
Doku reaksiyonu	İnflamasyon yok

DNA: Deoksiribo Nükleik asit

Apoptoz ilk önce hayvanlarda tanımlanmıştır. Morfolojik ve biyokimyasal özellikleri, diğer hücre ölüm türlerinden kolayca ayırt edilmesini sağlar. Apoptoz genellikle iç mitokondriyal transmembran potansiyelinin parçalanmasıyla tek bir hücrede, büzüşme ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterize aktif biyolojik bir işlemdir (Klim vd., 2018). Kemoterapi ve iyonize radyasyon gibi etkenlerin hücreye zarar vermesi ile uyarılabilir (Hassan vd., 2014). Hücre sel büzüşmenin nedeni sodyum, potasyum ve klor taşıyıcı sistemlerinin düzgün çalışmamasına bağlı olarak hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin engellenmesidir. Apoptozun başlaması ile birlikte hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur. Apoptozu uyaran sinyaller Tablo 5'de gösterilmiştir.

Genel olarak apoptozda üç ana tip biyokimyasal değişiklik gözlenebilir:

- 1) Kaspazların aktivasyonu,
- 2) Deoksiribo Nükleik asit (DNA) ve protein parçalanması,
- 3) Membran değişiklikleri ve fagositik hücreler tarafından tanınması (Wong, 2011).

Biyokimyasal değişiklikler kısmen apoptozdaki morfolojik değişikliklerin bazılarını açıklasa da, apoptozu tanımlamak için kullanılmaz. Çünkü apoptoz DNA parçalanması olmadan ortaya çıkabilir ve kaspazdan bağımsız olabilir (Galluzzi vd., 2007).

Elektron mikroskopunda, öncelikle plazma membranının şeklinin bozulduğu ve kabarcıklanmalar oluştuğu tespit edilmiştir. Bu yapı “zeiozis” olarak tanımlanır. Zardaki tomurcuklanma ve parçalara ayrılma olayında transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır. Hücre zarında iç yüzeyden dışarıya fosfatidilserin translokasyonu olur. Plazma ve çekirdekteki yoğunlaşmayı takiben kromatinin kümelenmesi gerçekleşir. Kromatindeki değişikliklerin başlamasının hemen öncesinde sitozolik Ca^{++} düzeyinde önemli bir artış olmaktadır. Kromatinin yoğunlaşması, nükleozomlar arasındaki bağlantı bölgelerinin ayrılması ile karakterizedir. Bağlantı bölgelerinin ayrılmasıyla 180-200 baz çiftinden oluşan DNA parçaları oluşur. Bu parçalar elektroforezde ip merdiven (*ladder*) görüntüsü oluşturur (Azzwali ve Azab, 2019; Joshi vd., 2017; Tomatır, 2003). Bu özellik apoptozun karakteristiği olmasına rağmen, agaroz jel elektroforezindeki tipik DNA merdiveni nekrotik hücrelerde de görülebildiği için spesifik değildir.

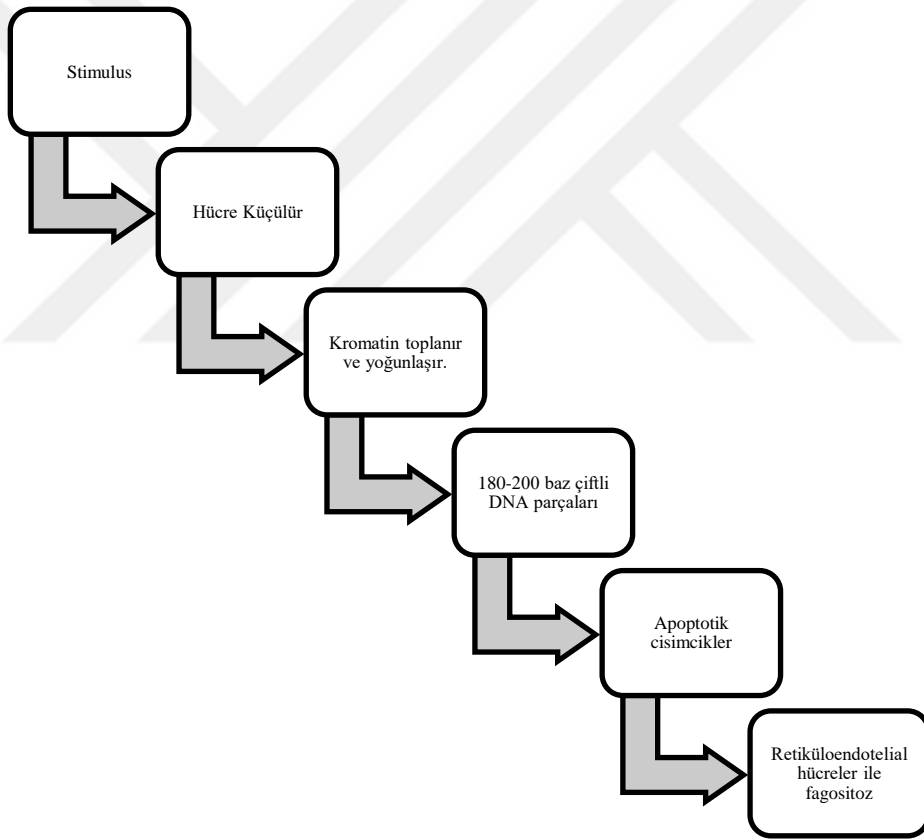
Tablo 5: Apoptozu Uyaran Sinyaller (Gültekin vd., 2008)

Hücre Dışı	Hücre İçi
<ul style="list-style-type: none">• Hormonlar	<ul style="list-style-type: none">• İyonize radyasyon
<ul style="list-style-type: none">• Büyüme faktörü gibi sağkalım sinyalinde eksiklik	<ul style="list-style-type: none">• Serbest radikallerden dolayı meydana gelen hasar
<ul style="list-style-type: none">• Bitişik hücreden temas	<ul style="list-style-type: none">• Viral enfeksiyon

İnternükleozomal DNA parçalanmasının Ca^{++} artışına duyarlı endonükleazlarla olduğu ileri sürülmektedir. Endonükleazlar timositler gibi bazı hücrelerde yapısal olarak bulunur, bazı hücrelerde ise apoptozun başlamasından önce transkripsiyon ile oluşturulur. Hücrenin parçalanmasıyla çekirdek materyalleri içeren zarla çevrili “apoptik cisimcikler” oluşur. İki katlı lipit tabakada fosfolipit asimetrisi hücre zarının bir özelliğidir. Fosfolipidler, yani iç tabakada bulunan fosfatidilserin (PS) ve fosfatidiletanolamin ve dış tabakada bulunan fosfatidilkolin asimetrik

olarak dağılmışlardır. Normal hücrelerde bu asimetri ATP'ye bağlı translokaz tarafından korunmaktadır. Apoptoz sırasında ya ATP translokaz yetmezliği ya da diğer enzim sisteminin aktivasyonu PS'nin dış yüzey tabakasına yerleşmesi ile sonuçlanır. Bu durum apoptotik cisimciğin fagositozu için bir uyarıdır (Israels ve Israels, 1999). Apoptozun aşamaları Şekil 3'de gösterilmiştir.

Apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasını ve inflamasyon oluşumunu uyarmaksızın, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosit edilirler. Apoptoz 30-60 dakika gibi bir sürede tamamlanır (Tomatır, 2003).



Şekil 3. Apoptozun Aşamaları (Smith vd., 2017).

Hücre iskeleti apoptozda önemli bir role sahiptir ve stabilizasyonu apoptozu engellemektedir (Israels ve Israels, 1999).

Apoptozun saptanmasında birçok biyokimyasal tahlil ve deney kullanılmış olsa da, Hücre Ölümü Nomenklatür Komitesi hücre ölüm yöntemlerinin sınıflandırılmasının tamamen morfolojik kriterlere dayanması gerektiğini önermiştir (Galluzzi vd., 2007). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin listesi Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler (Martinez vd., 2010)

Morfolojik Görüntüleme
Atomik Kuvvet Mikroskobu
Işık mikroskobu
Floresan mikroskobu
Konfokal mikroskobu
Elektron mikroskobu
İmmunoelektron mikroskobu
Spektroskopik Teknikler
Anneksin V Yöntemi
TUNEL Yöntemi (Terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP nick etiketleme)
CASP3 Yöntemi
Mitokondriyal membran potansiyelinin ölçümü
Proteomik ve Genomik Teknikler
Elektrokimyasal Teknikler
Western Blotting
Flow Sitometri
Jel Elektrofrezisi
DNA Microarrays

2.2.1. Apoptoz Mekanizmaları

Apoptoz oldukça karmaşık enerji bağımlı mekanizmalar içermektedir. Yapılan araştırmalar ekstrinsik (ölüm reseptörü) ve intrinsik (mitokondrial yol) olmak üzere iki başlatma yolu olduğunu ve bu yolaktaki moleküllerin birbirleriyle etkileşim halinde olduğunu göstermiştir (Azzwali ve Azab, 2019). Her iki yol da ortak bir yola çıkar. Son yapılan çalışmalar daha az bilinen üçüncü bir başlangıç yolu olduğunu göstermiştir. Bu yol intrinsik endoplazmik retikulum yoludur (Wong, 2011).

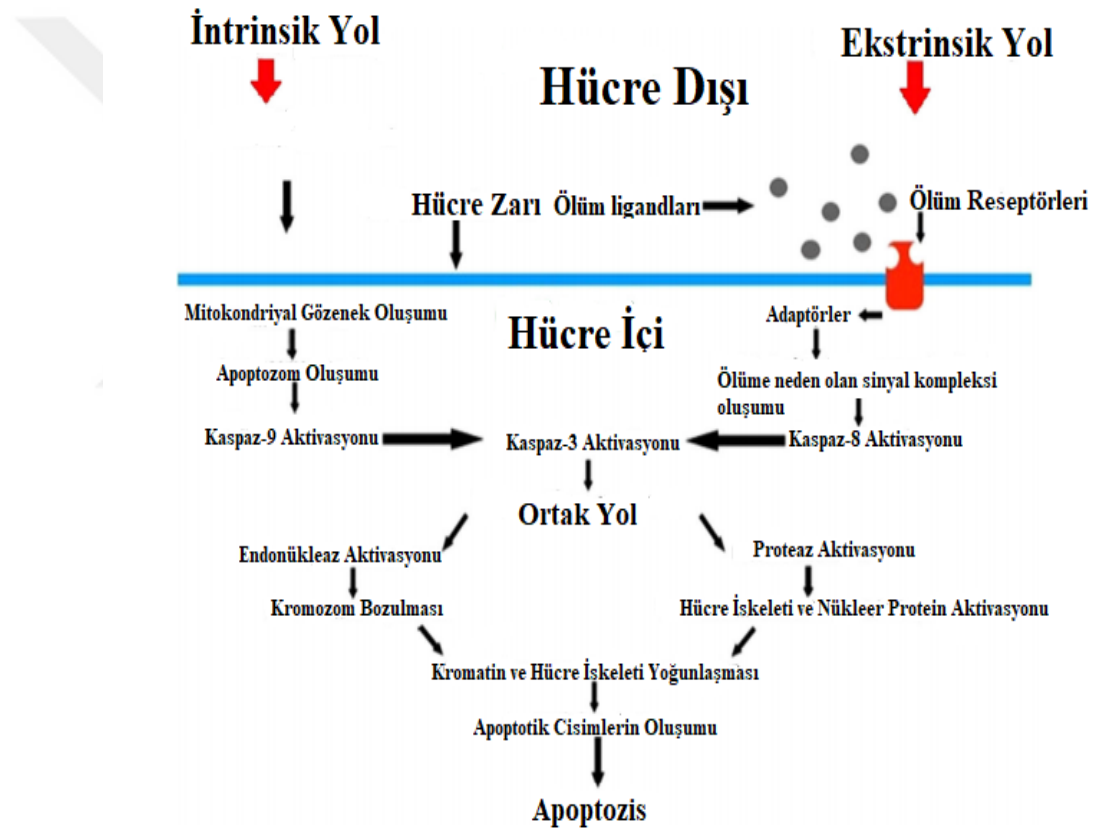
Apoptozun intrinsik mekanizması (mitokondriyal yol) hücre içinde başlatılır. Onarılamaz genetik hasar, hipoksi, yüksek sitozolik Ca^{++} konsantrasyonları ve şiddetli oksidatif stres gibi iç uyaranlar, intrinsik mitokondriyal yolun başlatılmasının tetikleyicileridir (Wong, 2011). Uyarılardan bağımsız olarak, bu yol artmış mitokondriyal geçirgenliğin ve sitokrom c gibi pro-apoptotik moleküllerin sitoplazmaya salınmasının bir sonucu olarak gelişir (Danial ve Korsmeyer, 2004). Bu yol BCL2 protein ailesi tarafından düzenlenir (Pfeffer ve Singh, 2018). Bu protein ailesinden anti apoptotik proteinler, sitokrom c'nin mitokondriyal salımını bloke ederek apoptozu düzenler. Sitokrom c'nin sitoplazmik salımı, sitokrom c, Apaf-1 ve kaspaz-9'dan oluşan apoptozom olarak bilinen bir kompleksin oluşturulması yoluyla kaspaz-3'ü aktive eder (Kroemer vd., 2007).

Ekstrinsik yol ise apoptozu indüklemek için hücre dışı sinyalleri kullanır. Ölüm ligandları olarak da bilinen hücre ölüm sinyalleri, ölüm reseptörlerine bağlanır. En iyi bilinen ölüm reseptörleri tip 1 tümör nekroz faktörü reseptörü (TNFR1) ve Fas (CD95) olarak adlandırılan proteinlerdir. Bu reseptörlerin ligandları sırasıyla tümör nekroz faktörü (TNF) ve Fas ligandı (FasL)'dir (Hengartner, 2001). Ölüm ligandları arasında TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL) da yer alır (Pfeffer ve Singh, 2018). Ölüm ligandının ölüm reseptörüne bağlanması, bir adaptör proteini sayesinde olur. Adaptör proteini ile ligand-reseptör-adaptör protein kompleksi oluşur. Bu kompleks için bir bağlanma bölgesi oluşturulur. Bu kompleksin tamamı ölüme neden olan sinyal kompleksi (DISC) olarak bilinir. DISC daha sonra pro-kaspaz 8'in birleştirilmesini ve aktivasyonunu başlatır. Pro-kaspaz 8 enzimin aktive edilmiş formudur ve apoptozu başlatan bir kaspazdır (Schneider ve Tschopp, 2000).

Ortak yol: Bu yol bir dizi kaspazın aktivasyonunu içerir. İntrensik yol için akış CASP9 ile sağlanır. Ekstrinsik yol da ise bu akışı sağlayan kaspaz-8'dir. İntrensik ve ekstrinsik yollar kaspaz-3 ile buluşur. Kaspaz-3 daha sonra DNA inhibitörünü aktive eder. DNA inhibitörü nükleer apoptozdan sorumludur ve kaspazla aktive edilir (Ghobrial vd., 2005).

İntrensik endoplazmik retikulum yolu: Üçüncü bir yoldur ve daha az bilinir. Kaspaz-12'ye bağlı ve mitokondriden bağımsız olduğu düşünülmektedir (Szegezdi vd., 2003).

Apoptoziste görevli mekanizmalar Şekil 4'te özetlenmiştir.



Şekil 4. Apoptozun İntrensik ve Ekstrinsik yolları (D'Arcy, 2019)

2.2.2. Apoptozun Patolojik ve Fizyolojik rolü

Apoptoz çoğu dokuda gelişim ve homeostazın bir parçası olarak veya inflamasyon ve enfeksiyon gibi patolojik süreçlerde görev alır (Smith vd., 2017) (Tablo7). Apoptoz doku büyümesini, fetal gelişimi, bağışıklık tepkisi ve diğer birçok biyolojik süreci düzenlemeye yardımcı olan hayati bir hücrenel süreçtir.

Tablo 7: Apoptoz İçeren Durumlar (Wong, 2011)

Fizyolojik durumlar
Menstrüel siklusta endometriyal hücre yıkımı
Laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin küçülmesi
Bağırsak epitelinde yaşlanan hücrenin ortadan kaldırılması
Yenidoğan timusunun involüsyonu sonucunda T lenfositlerin yaklaşık %98'inin seleksiyona uğraması
Embriyonik gelişimde hücre yıkımı
Patolojik durumlar
Hepatit B veya C gibi bazı virüs kaynaklı hücre ölümleri
Antikanser ilaçlar ile tümörlerde hücre ölümü
Sitotoksik T hücresi, bağışıklık reddi ve doku reddi (graft versus host hastalığı) gibi hücre ölümüne neden olan durumlar
AIDS'te progresif hücre ölümü ve CD4 + hücrelerinin tükenmesi
Organ ve dokuların patolojik atrofisi
Radyasyon ve hipoksi gibi zararlı ajanlara bağlı hücre ölümü
Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi dejeneratif hastalıklarda hücre ölümü
Miyokard enfarktüsü gibi kalp hastalıklarında meydana gelen hücre ölümü

Apoptoz fizyolojik gelişim, homeostaz ve karsinogenezi önlemede önemli bir rol oynar (Klim vd., 2018). Deri, bağırsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım yıkımının hızlı olduğu dokularda yaşlanan hücreler apoptoz ile ortadan kaldırılarak yeni hücrelerin oluşması sağlanır. Embriyogenez ve hücrelerin yenilenmesi sürecinde rol oynar (Xu vd., 2019). El ve ayak parmaklarının arasındaki ara dokunun ortadan kalkmasına yardımcı olur. Apoptotik mekanizmalar fetal anormalliklerin de önemli

belirleyicileridir. Hem sinir sistemi hem de bağışıklık sistemi hücrelerinin seçiminde de apoptoz önemli rol oynamaktadır. Yetişkinliklerde her gün yaklaşık 10 milyar hücre üretilir. Vücutta yeni hücre sayısı ile dengeyi korumak gerekir. Bu süreç apoptoz ile düzenlenir. Aynı mekanizma hasarlı hücreleri temizlemeye de yarar. Böylece dejeneratif hastalıkların tedavisine de katkı sağlayabilir (Renehan vd., 2001).

Apoptozun moleküler mekanizması üzerine yapılan araştırmalar, apoptoz sürecindeki bozuklukların birçok hastalığa yol açtığını ortaya koymaktadır (Xu vd., 2019). Amyotrofik lateral skleroz, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, miyokard enfarktüsü, inme ve reperfüzyon sonrası iskemik hasar, hepatit, viral enfeksiyonlar, tümör oluşumu ve kazanılmış immün yetersizlik sendromu (AIDS) apoptozla ilişkili bulunmuştur (Renehan vd., 2001). Yaşam ve ölümün hücresel düzeyde düzensizliği çeşitli hastalıklara yol açar. Apoptozun olması gerekenden daha az olması kanser gelişimine veya otoimmün hastalığa katkıda bulunabilir. Böylece hasarlı hücrelerin hayatta kalmasını ve birikmesini teşvik edebilir. Buna karşılık, gerekenden daha yüksek apoptoz gerçekleşmesi birçok ilerleyici hastalık ile ilişkilidir (Cavallucci ve D'Amelio, 2010). Sinir sisteminin embriyonik gelişimi sırasında, fazla hücre üretilir. Apoptoz ile hedefe ulaşamayan nöronlar ortadan kaldırılır. Oksidatif stres, glutamat ve Ca akışı merkezi sinir sisteminde apoptozu indükleyebilir. Birçok virüs buldukları hücrelerde apoptozu inhibe eder. Böylece konak hücre ömrünü uzatır ve viral replikasyona izin verir. Genellikle, apoptotik yolağın herhangi bir işlev bozukluğu otoimmün hastalık, immün yetmezlik ve lenfoid malignitelerine neden olur. Apoptozun ilerleyen inhibisyonunun, gastrointestinal neoplazi, özellikle kolorektal kanser patogenezinde rol oynadığı görülmektedir (Joshi vd., 2017).

2.2.3. Kanserde Apoptoz

KontROLSÜZ büyüme, anjiyogenez ve apoptoz artışı türüne bakılmaksızın tüm kanser hücrelerinde görülür. Apoptozun ana işlevlerinden biri kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasıdır. Genel olarak kanserli hücreleri ortadan kaldıran mekanizma intrinsik apoptotik yoldur. Apoptotik kontrolün ortadan kalkması kanser hücrelerinin daha uzun süre hayatta kalmasına neden olur (Pfeffer ve Singh, 2018). Genel olarak, apoptozun olmaması şu sebeplerden kaynaklanmaktadır:

- 1) Pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin bozulmuş dengesi
- 2) Azaltılmış kaspaz fonksiyonu
- 3) Bozulmuş ölüm reseptörü sinyali (Wong, 2011).

Apoptozis kanserli hücrelerin kontrolsüz büyümesinin engellenmesine ve bu hücrelerin yok edilebilmesine olanak sağlar. Bu amaçla hücrenin kendi ölüm mekanizmasını kullanması etkili bir yöntemdir. Apoptozu tetiklemek tüm kanser türleri ile mücadelede etkilidir. Hem intrinsik hem de ekstrinsik yollarda çeşitli mekanizma veya molekülleri hedefleyen birçok antikanser ilaç vardır. Terapötik tedavi için iki yaygın yöntem vardır; proapoptotik moleküllerin uyarılması ve antiapoptotik moleküllerin inhibisyonudur. Araştırılan bazı tedaviler arasında ölüm reseptörleri için ligandlar (Lopez ve Tait, 2015), BCL-2 için inhibitörler (Zaman vd., 2014) bulunmaktadır. İntrinsik ve ekstrinsik yollardaki herhangi bir aşama tedavi için hedeflenebilir, ancak hangi hedefin en etkili olduğuna dair bir gösterge yoktur (Pfeffer ve Singh, 2018).

2.2.4. Kaspazlar

Kaspazlar, multigen ailesinden meydana gelen Ca bağımsız hücre içi sistein proteaz sınıfının en önemli bölümünü oluştururlar ve intrasellüler proenzimler olarak sentezlenmektedirler (Rathore vd., 2015). Aktive edilmiş kaspazlar birçok hayati hücre proteinini ayırır ve çekirdek ve hücre iskeletini parçalar (Lavrik vd., 2005). Fonksiyonel kaspaz birimi bir homodimerdir, her monomer NH-terminal kısım, büyük (~ 17-21 kDa) ve küçük (~ 10-13 kDa) alt birime sahiptir (Joshi vd., 2017). Kaspazlar ilk olarak, bir nematod olan *C. Elegans*'a keşfedilmiştir (Julien ve Wells, 2017). Kaspazlar, apoptozun gerçekleşmesinde anahtar rol oynayan enzimlerdir. Hücre döngüsü, hücre proliferasyonu, programlanmış hücre ölümü, DNA replikasyonu, doku yeniden modellenmesi ve bağışıklık yanıtı gibi çok sayıda önemli fizyolojik sürecin fonksiyonel regülasyonunda yer alır. Aktif merkezlerinde sistein aminoasidi taşırlar. Hedefledikleri proteinlerin aspartat aminoasidinden sonraki peptid bağını keserler (Hung vd., 2015; Kaya vd., 2012). Hücre içerisinde inaktif prekürsörler (zimojenler) olarak sentezlenirler ve prokaspaz adını alırlar (Li vd., 2017).

Sitokrom c membranlar arası boşlukta bulunan ve oksidatif fosforilasyon için elektron taşıma sisteminde yer alan iç mitokondriyal bir proteindir. Sitokrom c'ler

prokaspaz zimogenlerini aktive etmektedirler. Kaspaz aktivasyonunun inhibitörleri, sitokrom c'nin mitokondriden salınımını bloke etmez ancak ardışık kaspaz aktivasyonunu bloke ederek, hücre ölümünü önler (Bildik ve Bayar, 2018). Kaspazlar apoptozu aktive eden sinyaller tarafından tetiklenip, apoptoz yolaklarında aktif olarak görev alırlar (Xu vd., 2019). Kaspazlar hücrede inaktiftirler, ancak proteolitik olarak birbirlerini aktifleştirirler. Yaklaşık 100 farklı hedef proteini keserek apoptoza neden olurlar. Kaspazlar ilk önce mitokondride membran hasarı oluşturur ve bu olayların sonucunda; zar değişimleri, hücre iskeleti ve çekirdek değişimine yol açan hasarlar ortaya çıkar. DNA tamiri ve replikasyonu için gerekli enzimleri inaktive ederler. Hücre iskeleti proteinlerini keserek hücre zarının tomurcuklanmasına neden olurlar. Apoptoz aktive edildikten 1 saat ya da daha uzun bir süre sonra DNA da tek iplikte bir çentikle başlayan çok karakteristik ve geri dönüşsüz bir parçalanma görülür (Coşkun ve Özgür, 2014).

Proteolitik süreç esnasında aktivasyona uğrayan kısımlar olan geniş ve küçük alt üniteler arasında heterodimer oluşturacak şekilde birleşmeler açığa çıkar. NH-terminal kısmı yüksek değişime sahip bir dizilimden oluşmaktadır ve oldukça uzundur. Bu kısım aktivasyonun düzenlenmesi için önemli rol oynar. NH- terminal kısmı ile proenzimlerden elde edilen diğer tüm kısımlara kaspaz konsensüs bölgeleri denir. Kaspaz konsensüs bölgeleri kaspazların inaktif halden aktif hale geçmesi için gerekli olan bölgelerdir. Kaspazlar aspartatın karboksil ucundan peptit bağını kesme özelliğine sahip proteazlardandır (Li vd., 2017).

Kaspazların tümü benzer aminoasit dağılımına sahip oldukları için yapısal ve substrat spesifikliğı açısından da benzer özellikler göstermektedirler. Tüm kaspazlar inaktif şekilleri olan proenzimler şeklinde sentez edilirler. Günümüze kadar 14 memeli kaspazı tespit edilmiş olup hayvanlarda bulunan kaspaz-11 ve kaspaz-12'nin insandaki karşılığı hala gösterilememiştir. İlk bulunan Kaspaz ICE'dir. Sonradan prokaspaz-1 olarak adlandırılmıştır (Wardle vd., 2011).

Fonksiyona bağlı olarak, memeli kaspazlar apoptotik ve enflamatuar kaspazlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Apoptotik kaspazlar, çoğunlukla apoptozu başlatmak ve yürütmek için işlev görür. Bu apoptotik kaspazlar ayrıca apoptozun uygulanmasındaki işlev sıralarına göre başlatıcı ve efektör kaspazlar olarak alt gruplara ayrılır. Kaspaz 2, 8, 9 ve 10 başlatıcı kaspazlardandır. Efektör

kaspazları aktive etmek için işlev görür. Kaspaz 3, 6 ve 7 efektör kaspazlardandır. Apoptozu kolaylaştırmak için hedef bölgelerinde proteolitik olarak birkaç hücrel proteini ayırır. Kaspaz 1, 4, 5, 11 ve 12 enflamatuar kaspaz ailesine aittir ve fonksiyonel olarak apoptotik kaspazlardan farklıdır. Apoptotik kaspazların tersine, doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde merkezi rol oynarlar ve proenflamatuar bir hücre ölüm şekli olan piroptozu teşvik ederler. Kaspaz 14, apoptotik veya enflamatuar kaspaz olarak sınıflandırılmaz (Kesavardhana vd., 2020).

2.2.4.1. Kaspaz-9

Kaspaz-9 (CASP9) tüm kaspaz ailesinde olduğu gibi aktif merkezinde sistein molekülü taşır. Nadir olarak Apaf 3, ICE-LAP 6, Mch 6 gibi farklı alternatif isimlerle de belirtilebilmektedir. CASP9 başlatıcı kaspazlar olarak adlandırılan kaspaz ailesinin bir üyesidir (“MeSH Browser”, 2020). Diğer kaspazlar gibi CASP9 da prokaspaz olarak sentez edilir. Prokaspazlar tek zincirli inaktif zimojenler olarak sentezlenir ve hücre ölümünü kolaylaştırmak için aktive edilmektedir (Kesavardhana vd., 2020).

Apoptoz sırasında kaspazlardan ilk görev alanlar başlatıcı ya da öncü kaspazlardır ve bunların uzun öncül bölgeleri bulunur (Kim vd., 2001). Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara yani ikincil kaspazlara ileten kaspaz türleridir. Başlatıcı kaspazların üç önemli özelliği vardır;

1. Farklı şekillerde gelen uyarıları genel bitirici faza taşırlar
2. Yeterli miktarda bitirici kaspazın aktifleşmesini sağlayarak apoptotik sinyalin çoğalmasını sağlarlar
3. Ölümün en son basamağında bir kontrol noktası olarak bulunurlar.

CASP9, intrinsik yol ile apoptozu düzenler. CASP9 aktivitesi, bölünme yerine dimerizasyon ile uyarılır, ancak CASP9 arasındaki uzun bağlayıcı döngü nedeniyle dimerize olmamış formunda da tam aktivite gösterebilir. CASP9'un aktivasyonu için önerilen iki hipotez vardır. Birincisi, DNA hasarına veya oksidatif strese yanıt olarak sitokrom c'nin mitokondriden salınmasıyla başlar. Sitokrom c, Prokaspaz 9, aktive edici faktör (Apaf-1) ve deoksiadenozin trifosfatın oluşturduğu kompleks aktif CASP9'u meydana getirir ve oluşan bu kompleks ‘apoptozom’ olarak isimlendirilir. Bu multiprotein kompleksi, bir dizi efektör kaspazın aktivasyonunu

başlatır. Aktifleştirici CASP9, bir başlatıcı kaspaz olarak efektör olan CASP3 ve CASP7'yi aktive ederek ve apoptozun başlama sinyalinin oluşmasına ve apoptozun gerçekleşebilmesine aracılık etmektedir. Apaf-1 aynı zamanda ATP'ye de bağlanır. Bu olay apoptozun neden enerjiye gereksinim duyduğunu açıklamaktadır. Bu hipoteze “uyarılmış konformasyon modeli” denir. Diğer hipotez, “uyarılmış yakınlık modeli”, apoptozomun dimerizasyonunun CASP9'u aktive ettiği savunulur (Ercan vd., 2019; Li vd., 2017).

2.2.5. BCL2 protein ailesi BCL-2 geni

BCL2 (B-cell lymphoma leukemia-2) protein ailesi apoptozun regülasyonunda önemli role sahiptir. BCL-2 mitokondrinin dış membranında bulunmakta ve iyon değişimini düzenlemektedir. BCL-2 geni ilk olarak İnsan B Hücreli Foliküler Lenfomada tanımlanmıştır. BCL2 ailesindeki proteinlerin bazıları apoptozu bloke ederken bazıları apoptozu indüklemektedirler (Frenzel vd., 2012).

BCL2 ailesi proteinleri, apoptoz ve kanser tedavisinde hücrel yanıtın düzenlenmesindeki önemi nedeniyle son on yıl boyunca yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Bu çalışmalar da BCL-2'nin aşırı ekspresyonunun, hücre çoğalmasını desteklemediği aksine BCL-2'nin aşırı ekspresyonunun hücre ölümünü inhibe ettiği öne sürülmüştür. Ayrıca, kanserdeki rollerin ötesinde, BCL-2 ve ailenin diğer üyelerinin, gelişimsel olarak programlanmış hücre ölümü ve patojenlere karşı konak savunması dahil olmak üzere bir dizi apoptoz programı için de gerekli olduğu ortaya konmuştur (Shamas-Din vd., 2013).

BCL2 ailesi proteinleri BH1, BH2, BH3, BH4 olarak adlandırılan dört BCL2 homoloji (BH) domainini içerir (Shamas-Din vd., 2013). Bunlar benzer yapılarla sahip, birkaç alfa-heliks yumağından meydana gelmektedir. BCL2 protein ailesinin yapılarında merkezi konumda hidrofobik bir alfa heliks ve bunu çevreleyen 5 tane amfipatik alfa heliks yapısı mevcuttur (Frenzel vd., 2012; Tzifi vd., 2012).

Bu protein ailesi; bölge (domain) yapısına göre üç temel gruba ayrılmaktadır.

Grup I: BCL-2, BCL-xL, BCL-w, MCL1, BFL-1/A1,BOO ve diğerlerinden oluşur. Birinci grup, BCL2 ile yüksek yapısal ve fonksiyonel homolojiyi paylaşan antiapoptotik üyelerden oluşup apoptozu inhibe edici özellik göstermektedir. Dış mitokondri membranı ile ilişkili olup, mitokondri bütünlüğünü sağlarlar. Dört korunmuş BCL-2 homoloji bölgesi (BH) içerirler. Bunlardan yalnızca MCL1'in 2 BH bölgesi vardır.

Grup II: BAX (BCL-2 ile ilişkili X proteini), BAK, BCL-xs ve diğerlerinden oluşur. Çoğunun üç bazen de iki BH bölgesi mevcuttur. BCL-2 ile daha az homoloji paylaşan ve proapoptotik aktivite gösteren proteinleri içerir. Apoptozu tetikleyici olarak iş görür.

Grup III: BID, BIK, BAD ve diğerlerinden oluşur (sadece BH3 içeren grup). Karakterize etmesi en güç olan gruptur. Sadece BH3 bölgesini içerirler. Bu moleküller mitokondri dış membranı ile ilişkilidir. Bu aile üyeleri birbirleriyle ve dış mitokondriyal membran proteinleriyle etkileşime girerek mitokondri membranında porlar oluşturmak suretiyle sitokrom c'nin ayrılmasını sağlar. Normalde inaktiftirler, aktive olduklarında grup II'nin aktifleşmesini sağlarlar. Farklı apoptotik uyarı farklı molekülün uyarılmasına neden olmaktadır (Chandrasekar, 2020). Sadece BH3-içeren grup proteinleri birbirleriyle aynı homolojiyi paylaşırlar. BID dışında, sadece BH3 içeren proteinlere ait öngörülen genel yapılarının diğer BCL2 ailesinin üyeleri ile alakasız olduğu ve yakın bir evrimsel ilişki olmadığı belirtilmiştir. Ancak, bu Grup III proteinlerin tümü, apoptozu desteklemek için BCL2 ailesi proteinleri ile etkileşime girer ve apoptozu düzenler (Kale vd., 2018).

BCL2 ailesindeki proteinlerin bazıları apoptozu bloke ederken bazıları apoptozu indüklemektedir. Pro-apoptotik olanlar mitokondriden sitokrom c'nin sitoplazmaya salınımını indüklerken anti-apoptotik grup ise sitokrom c salınımı engeller. Pro-apoptotik proteinler ile anti-apoptotik proteinler arasında etkileşim hücre yaşamında kritik öneme sahiptir. Hücrenin yaşayabilirlik durumu pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerin oranına bağlanmaktadır. Anti-apoptotik olanlar sitokrom c salınımını baskılamakta ancak pro-apoptotik üyelerin anti-apoptotik üyeler ile bağlanması durumunda bu inhibe edici etki ortadan kalkmakta ve sitokrom c salınımı ortaya çıkmaktadır (Frenzel vd., 2012).

Apoptotik sürecin kontrolünde rolü en iyi tanımlanmış olan anti-apoptotik ve aynı zamanda antioksidan olarak da bilinen BCL-2 proto-onkogeni ilk kez t(14;18) translokasyonunda yer alması ile keşfedilmiştir (Stadler vd., 2014). BCL-2 insan non-Hodgkin foliküler lenfomasında saptanmış bir anti-apoptotik gendir. BCL-2 düzeyi hücre çeşitlerine göre farklılık gösterir ve BCL-2 dış mitokondriyal membranda, nükleer membranda ve endoplazmik retikulum (ER)'nin sitoplazmik yüzünde bulunan bir iç membran proteinidir. Çekirdek membranına yerleşik olan BCL-2, p53 ve AP1 gibi transkripsiyon faktörlerinin nükleustaki aktivitelerini kontrol eder. ER'de yerleşim gösteren BCL-2 ise hücrenin hem apoptotik hem de normal fizyolojik süreçlerinde intrasellüler Ca^{++} seviyesinin düzenlenmesinde görev alır (Hetz ve Glimcher, 2008). BCL-2 geni, C terminusunda tek bir yüksek hidrofobik alana sahip protein kodlar, bu da esas olarak mitokondriyal dış membran içinde lokalize olmasını sağlar. Böylece BCL-2'nin artmış ekspresyonuna ve apoptoza karşı hücrel dirence yol açar.

BCL-2'nin lipid peroksidasyonunu azalttığı, glutasyon tükenmesi ve H_2O_2 'nin yıkıcı etkilerinin neden olduğu apoptotik ölüme karşı direnç gösterdiği bilinmektedir (Warren vd., 2019). BCL-2'nin bu özelliğini direk bir antioksidan gibi davranarak, redoks aktif metalleri şelatlayarak ya da reaktif oksijen türlerini (ROS) üretiminin azaltılmasını sağlayarak yaptığı düşünülmektedir. Bunların içinde en kabul göreni ise BCL-2'nin ROS üretimini azaltan bir antioksidan olduğudur (Jang ve Surh, 2003).

BCL-2 proteininin ana rolü, mitokondriyal membranın bütünlüğünü korumak sitokrom c serbestleşmesini sağlamak ve daha sonra APAF1 (Apoptoz aktive edici faktör-1)'e bağlanmasını engellemektir. BCL-2 özellikle apoptozu bloke ederek hücrenin hayatta kalma kinetiğini artırır. Böylece, hücrenin; ATP, yeni RNA ve protein sentezi gerektiren, hücre büzüşmesi, nükleer parçalanma, DNA bozunması gibi çeşitli hücrel-yapısal değişikliklere neden olan faaliyetlere girmesini önler. BCL-2 lenfomalar, akciğer kanserleri, meme ve tiroid karsinomalarında pozitif bulunmuştur (García-Aranda vd., 2018).

2.2.6. Golgi Protein 73

GP73 ilk önce erişkin dev hücreli hepatitte diferansiyel ekspresyonu olan proteinler için tanımlanmıştır. Kladney ve arkadaşları, 73 kDa ağırlığında insan golgi proteini olan GP73'ü izole edip tanımlamıştır. GP73, 9q21.33 kromozomu içindeki

GOLM1 geni tarafından kodlanır. İn vitro transkripsiyon-translasyon çalışmaları, GP73'ün bir integral membran proteini (transmembran proteini) olduğunu göstermiştir. Ayrıca epitop ile etiketlenmiş GP73 kullanılarak yapılan immünlökizasyon deneyleri, proteinin golgi kompleksine lokalize olduğunu göstermiştir. GP73 sitoplazmik N-terminal, transmembran ve golgi lümenine bakan geniş C-terminal alanlarından meydana gelen golgiye yerleşik tip II transmembran proteini olarak tanımlanmıştır. Ayrıca golgi fosfoprotein (GOLPH2) olarak da adlandırılır. Son yıllarda, GP73'e benzer N- veya C-terminal alanlarına sahip bir dizi Golgi membran proteini tarif edilmiştir. Bunlardan bazıları yakın zamanda açıklanan Golgi-84, p63 ve GPP130'dır. Bu proteinlerin ortak özelliği, molekülün N- veya C-terminalinde sarmal bölgelerin varlığıdır. Bu proteinlerin biyokimyasal fonksiyonları henüz bilinmemektedir ve ekspresyonlarının düzenlenmesini ele alan az sayıda çalışma vardır. Fakat golgi cisimciği üzerindeki konumu nedeniyle posttranslasyonel protein modifikasyonu, hücre içi transport (sekretuar proteinlerin transportu), hücre içi sinyal iletiminin regülasyonu ve golgi cisimciğinin fonksiyonunun devamı gibi fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir (Xia vd., 2018).

GP73 Golgi kompleksi, endoplazmik retikulumdan çıkarılan proteinlerin sınıflandırılmasında ve modifikasyonunda önemli bir rol oynar. Bu gen tarafından kodlanan protein, bir tip II golgi transmembran proteindir. Endoplazmik retikuluma sentezlenen proteinleri işler ve proteinlerin Golgi aygıtı yoluyla taşınmasına yardımcı olur. Bu genin ekspresyonunun viral enfeksiyona yanıt olarak up regüle edildiği gözlenmiştir ("GOLM1 golgi membrane protein 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI", 2019).

GP73 inhibisyonunun golgi kompleksinin yüzey alanındaki azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, bazı araştırmacılar, GP73'ün, hücrel stres sırasında golgi kompleksinin yapısal bütünlüğünün korunmasında rol oynayabileceğini düşünmektedir. Bütün golgiye yerleşik golgi proteinleri periferik veya integral membran proteinleridir ve bunların çoğu salgı proteinlerinin hücre içi modifikasyonunda rol oynar. GP73, golgi kompleksinin nükleotid, şeker veya ATP taşıyıcılarının hiçbirisi ile yapısal benzerliğe sahip değildir (Ba vd., 2012).

GP73 insan vücudunun birçok dokusunda epitel hücreleri tarafından eksprese edilir. Özellikle barsak, prostat glandular epitel hücrelerinde, proksimal, distal

tubuller ve toplayıcı kanalların epitel hücrelerinde, akciğerlerin bronşlarında silyalı kolumnar epitel hücrelerinde, santral sinir sisteminde epitelyal hücrelerde ve kolonda intestinal glandların kolumnar epitel hücrelerinde eksprese edilir. Sağlıklı karaciğerlerde biliyer epitel hücrelerinde de sürekli olarak bulunur. Kladney ve arkadaşları normal karaciğerlerde GP73 sinyalinin baskın olarak biliyer epitel hücrelerden eksprese edildiğini, hepatositlerde GP73'ün çok az bulunduğunu göstermiştir (Kladney, Cui, vd., 2002). Fakat karaciğer hastalıklarında ekspresyonu belirgin olarak arttığı bilinmektedir. Ayrıca hepatasellüler kanser, prostat kanseri ve renal hücreli karsinom gibi diğer kanserlerde de up-regüle olduğu gösterilmiştir (Ba vd., 2012; Yang vd., 2019).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında yapıldı ve çalışmanın etik onayı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı (2019-10/04).

3.1. Kullanılan Gereçler

Çalışmada kullanılan gereçler, marka ve modelleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Çalışmada Kullanılan Gereçler

Cihazlar	Markaları
Buzdolabı ve (-80 ⁰ C) derin dondurucu	(Uğur-Wise Cryo)
Deiyonize Su Cihazı	(Ekoloji 200 Plus)
Otomatik Pipetler	(NICHIRYO-Nichipet EX II)
Santrifüj	(Nüve-NF-800R)
Vorteks	(Velp Scientifika-Rx ³)
Etüv	(Nüve FN-500)
ELISA okuyucu	(GF-M3000 Microplate Reader)

ELISA: Enzime Bağlı İmmünozorban Testi

3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışma grupları Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği'ne başvuran hastalardan oluşturulmuştur. Bu hastalardan alınan kan örnekleri (4-5 mL venöz kan), kırmızı kapaklı jelli tüplere (Vacuette-Lot No: A19074LM) alınarak en az 10 dakika 4000 rpm devirde santrifüj edilerek serumlar sekonder tüplere ayrıldı ve -80⁰C'de çalışma gününe kadar saklandı.

Hastaların çalışma grubuna alınması; tiroid bezinden ince iğne aspirasyon biyopsisi ile alınan örneklerin patoloji laboratuvarında incelenmesi ile PTK tanısı alan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastaların preoperatif ultrasonografi (USG), yaş, cinsiyet, Tiroid fonksiyon testi (TFT) düzeyi, postoperatif patoloji sonuçları, tümör boyutu, Ekokardiyografi (EKO) gözlemleri gibi verileri hastane bilgi işlem sisteminden taranarak toplandı.

Kontrol grubu ise klinik enfeksiyon şüphesi, karaciğer hastalığı, böbrek hastalığı, diabetes mellitus, alkol tüketimi, romatizmal hastalık, malignite, gebelik ve sigara kullanımı olmayan sağlıklı gönüllülerden oluşturuldu.

3.3. Serum BCL-2 Tayini

Toplanan serum örneklerinde BCL-2 düzeyleri kantitatif ELISA yöntemi ile tayin edildi. Serum BCL-2 düzeyi ticari ELISA kiti (Elabscience, ABD) lot no:E-EL-H0114 kullanılarak ölçüldü. Yöntem olarak ticari kitin önerdiği basamaklara göre sırasıyla şu işlemler yapıldı;

1. Standart çalışma solüsyonları derişimleri sırasıyla 10-5-2,5-1,25-0,63-0,31-0,16 ng/mL olacak şekilde 7 ependorf (EP) tüpünde hazırlandı. ELISA plate kuyucuklarına sırasıyla 100'er µL standartlar eklendi. Geri kalan kısımlara 100'er µL örnek eklendi. Plate 90 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
2. Platedeki sıvılar boşaltıldı ve 100µL Biotinylated Detection Ab solüsyonu her kuyucuğa eklendi. (Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu 100 kat sulandırılarak kullandı) Plate 60 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
3. Plate 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. 30 mL konsantre yıkama solüsyonu 750 mL deiyonize su ile dilüe edilerek kullanıldı.
4. 100 µL horse radish peroksidaz (HRP) konjugatı her kuyucuğa eklendi. HRP konjugat çalışma solüsyonu 100 kat sulandırılarak kullandı. Plate 30 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
5. Plate 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı.
6. 90 µL Substrate Reagent her kuyucuğa eklendi. Plate 15 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
7. 50 µL stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi.
8. 450 nm'de absorbans değerleri okundu.
9. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.

3.4. Serum Kaspaz-9 Tayini

Toplanan serum örneklerinde CASP9 düzeyleri kantitatif ELISA yöntemi ile tayin edildi. Serum CASP9 düzeyi ticari ELISA kiti (Elabscience, ABD) lot no: E-EL-H0663 kullanılarak ölçüldü. Yöntem olarak ticari kitin önerdiği basamaklara göre sırasıyla şu işlemler yapıldı;

1. Standart çalışma solüsyonları derişimleri sırasıyla 100 – 50 – 25 - 12,5 - 6,25 -3,13 - 1,56 ng/mL olacak şekilde 7 EP tüpünde hazırlandı. ELISA plate kuyucuklarına sırasıyla 100'er µL standart eklendi. Geri kalan kısımlara 100'er µL örnekler eklendi. Plate 90 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
2. Platedeki sıvılar boşaltıldı. 100µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu her kuyucuğa eklendi. Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu 100 kat sulandırılarak kullandı. Plate 60 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
3. Plate 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. 30 mL konsantre yıkama solüsyonu 750 mL deiyonize su ile dilüe edilerek kullanıldı.
4. 100 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu her kuyucuğa eklendi. HRP konjugat çalışma solüsyonu 100 kat sulandırılarak kullandı. Plate 30 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
5. Plate 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı.
6. 90 µL Substrate Reagent her kuyucuğa eklendi. Plate 15 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
7. 50 µL stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi.
8. 450 nm'de absorbans değerleri okundu.
9. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.

3.5. Golgi Protein 73 Tayini

Örneklerde GP73 ölçümü için SunRed (Çin, Şangay) lot no: 201-12-1433 ELISA kiti kullanıldı. ELISA kiti prosedürüne göre sırasıyla şu işlemler yapıldı:

1. Standart çalışma solüsyonları derişimleri sırasıyla 48, 24, 12, 6, 3 ng/mL olacak şekilde 5 EP tüpünde hazırlandı. ELISA plate kuyucuklarına 50 µL standartlar eklendi. Geri kalan kısımlara 40'ar µL örnek eklendi. Örneklerin konulduğu kuyucuklara 10 µL GP73-antibody eklendi. Daha sonra bütün kuyucuklara 50 µL streptavidin-HRP eklendi. Plate 60 dk 37⁰C'de inkübe edildi.
2. Plate 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. 50 mL konsantre yıkama solüsyonu 950 mL deiyonize su ile dilüe edilerek kullanıldı.
3. 50µL Chromogen solution A, 50 µL Chromogen solution B eklendi. 10 dk 37⁰C'de inkübe edildi.

4. 50 µL stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi.
5. 450 nm'de absorbans değerleri okundu.
6. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.

3.6. TSH Tayini

Test elektrokemilüminasans immünolojik (ECLIA) olarak sandviç prensibiyle çalışmaktadır. Toplam test süresi 18 dakikadır.

1. 50 µL numune, biotinlenmiş monoklonal TSH'ye özgü antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş monoklonal TSH'ye özgü antikor reaksiyona girerek bir sandviç kompleksi oluşturur.
2. Streptavidin-kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidinin etkileşimi aracılığıyla kompleks katı faza bağlanmış hale gelir.
3. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Bundan sonra bağlanmamış maddeler uzaklaştırılır. Elektrot üzerine voltaj uygulanması kemilüminasans emisyonunu indükler, bu da bir foton çoğaltıcı ile ölçülür.
4. Sonuçlar, 2 noktalı kalibrasyon ile cihaza özel olarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir ana eğri ile tayin edilir.

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver: 22.0) programına yüklenerek değerlendirilmiştir. Verilen dağılım karakteristikleri Shapiro-Wilk testi ve histogram ile değerlendirildi. Gruplar arasında CASP9, BCL-2 ve GP73 düzeyleri yönünden fark olup olmadığı Student's t testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet yönünden fark olup olmadığı ki kare testi ile değerlendirildi. Korelasyon analizi Pearson korelasyon testi ile yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlı farklılık olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada kesin tanı konulmuş PTK'lı hastalardan herhangi bir cerrahi müdahale yapılmadan önce alınmış serumlar kullanıldı. Kontrol grubu olarak da herhangi bir hastalığı bulunmayan gönüllü sağlıklı kontrol serumları kullanıldı. Hastalar, yaş ve cinsiyetleri bakımından herhangi bir ayrıma tabi tutulmaksızın, rastgele belirlendi. Yapılan çalışmada kontrol ve hasta grubuna ait bilgiler, Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9: Hasta ve Kontrollere Ait Yaş ve Cinsiyet Bulguları

Parametreler	Hasta	Kontrol	P
Yaş (ortalama \pm SD)	51 (\pm 16)	42 (\pm 15)	0,0116
Cinsiyet			
Erkek (n %)	9 (%29)	15 (%34)	0,625
Kadın (n %)	22 (%71)	29 (%66)	

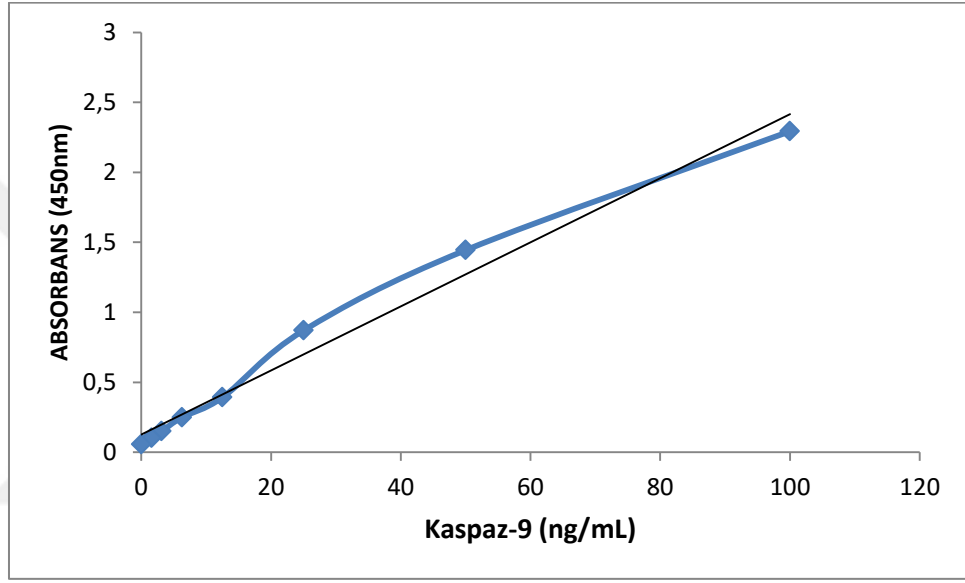
SD: Standart sapma n: Örneklem sayısı

Hasta grubunun %29'u erkek, %71'i de kadınlardan oluşmaktadır. Bu hastalardan %16,1'inde (n=5) ek olarak Hashimoto tiroiditi gözlemlendi. %3,2'sinde (n=1) toksik multi nodüler guatr (TMNG) gözlemlendi. Bu hastalardan %19,4'ünde (n=6) Hashimoto tiroiditi ve TMNG'den farklı olarak ek hastalıklar gözlemlendi. %6,5'inde (n=2) dislipidemi, %3,2'sinde (n=1) koroner arter hastalığı, %9,7'sinde (n=3) diyabet gözlemlendi. Ultrason değerlendirmesine göre hastaların %22,6'sında nodülünün etrafında santral kanlanma (n=7), %6,5'inde nodülün etrafında periferik kanlanma (n=2), %22,6'sında da hem santral kanlanma, hem de periferik kanlanma (n=7) gözlemlendi. Geri kalan hastalarda ise kanlanma gözlenmedi. Hastaların hepsinde en az 1, en fazla 7 tane nodül gözlenmiştir. Ortalama nodül sayısı $2,06 \pm 1,43$ 'dür. Her hastada ki en büyük nodülün çapı ölçüldüğünde hastalarda ortalama $21,97 (\pm 15,19)$ mm nodül çapı görüldü.

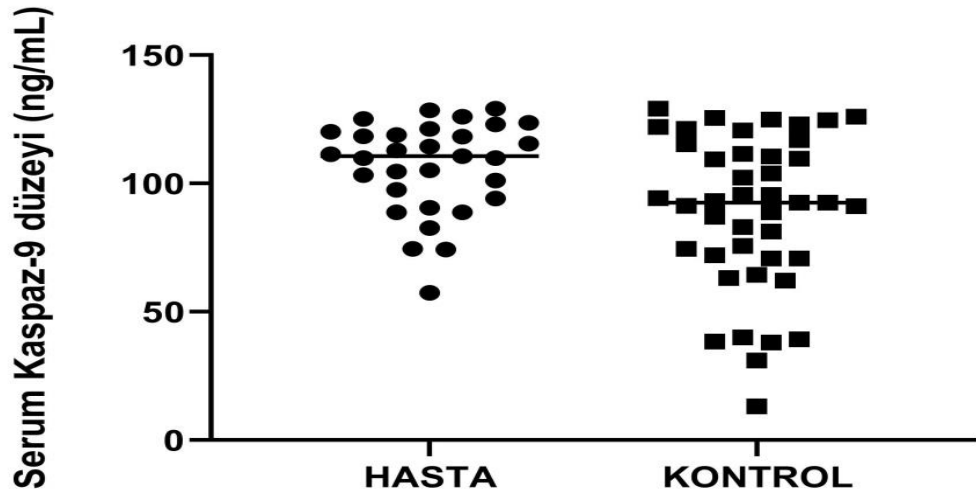
Kontrol grubunun %34'ü erkek, %66'sı da kadınlardan oluşmaktadır. Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,625$) (Tablo 9).

Hasta grubunun yaş ortalaması 51 (± 16), kontrol grubunun yaş ortalaması 42 (± 15)'dir ($p=0,0116$) (Tablo 9).

CASP9 için standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı (Grafik 1). Hasta ve kontrol grupları arasında CASP9 düzeylerine bakıldığında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,0055$) (Tablo 10) (Grafik 2).

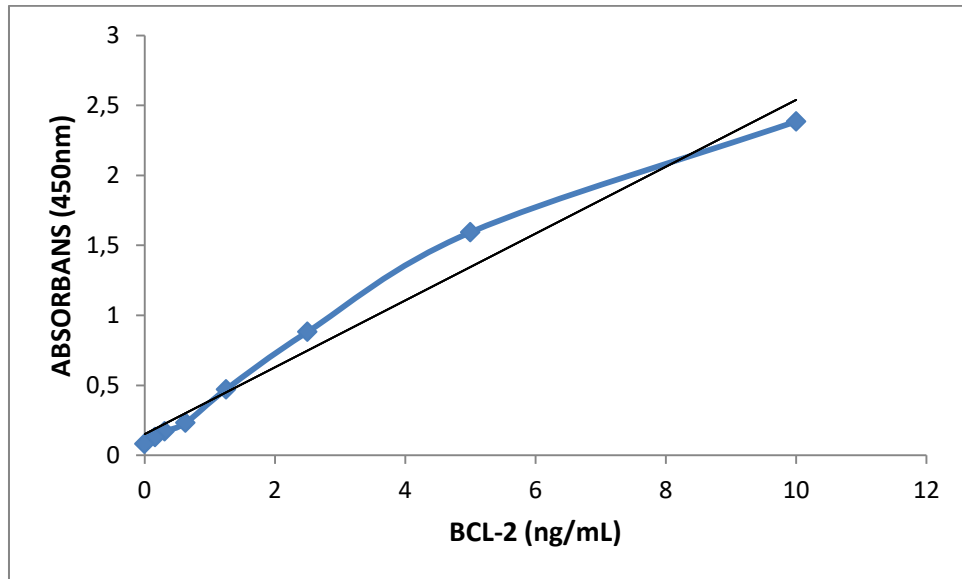


Grafik 1: Kaspaz-9 Standart Eğri Grafiği

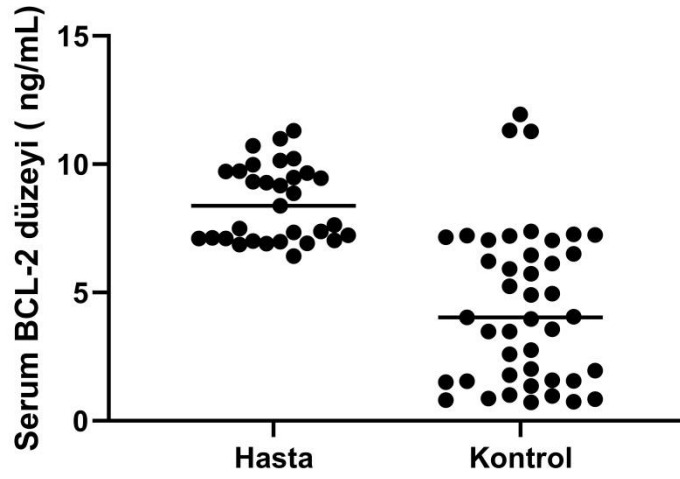


Grafik 2: Kaspaz-9 Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği

BCL-2 için standart derişimlerine karşı okunan absorbanslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı (Grafik 3). Hasta ve kontrol grupları arasında BCL-2 düzeylerine bakıldığında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,0001$) (Tablo 10) (Grafik 4).

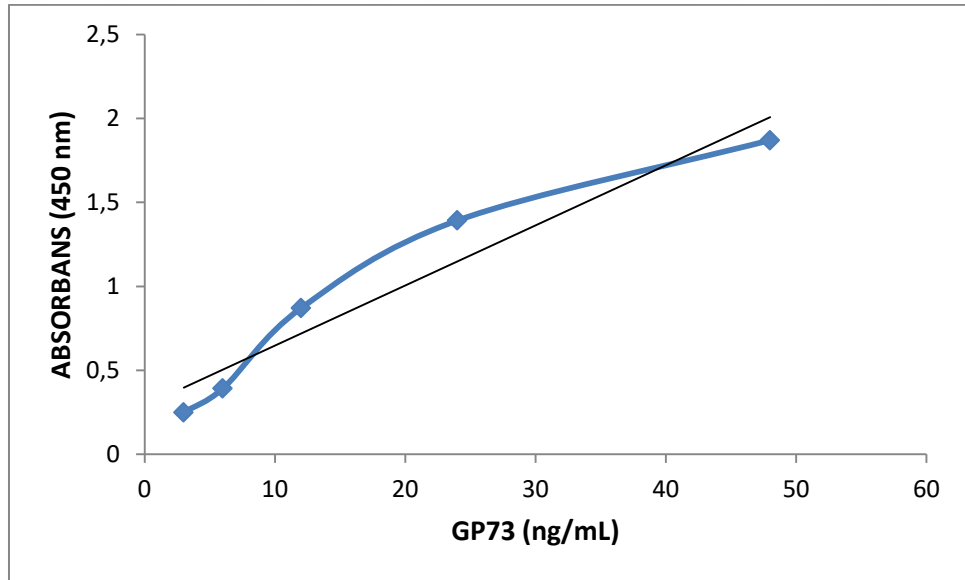


Grafik 3: BCL-2 Standart Eğri Grafiği

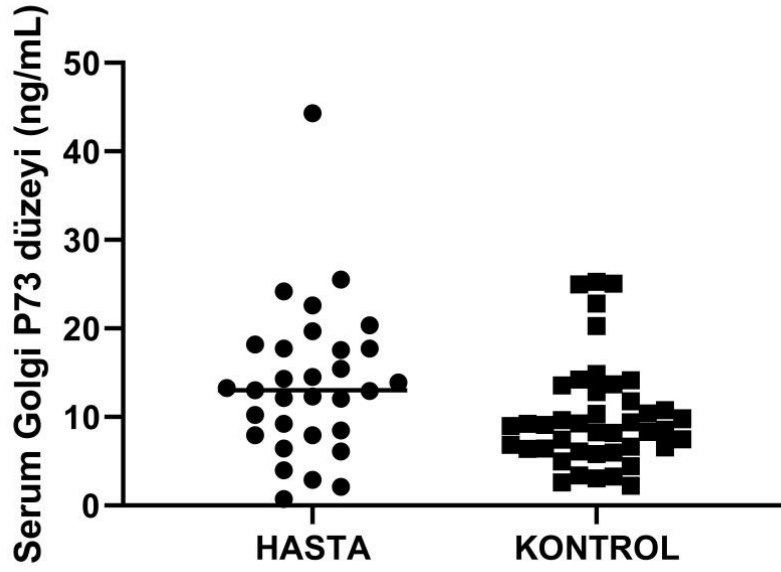


Grafik 4: BCL-2 Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği

GP73 için standart derişimlerine karşı okunan absorbanlar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı (Grafik 5). Hasta ve kontrol grupları arasında GP73 düzeylerine bakıldığında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,0253$) (Tablo 10) (Grafik 6).

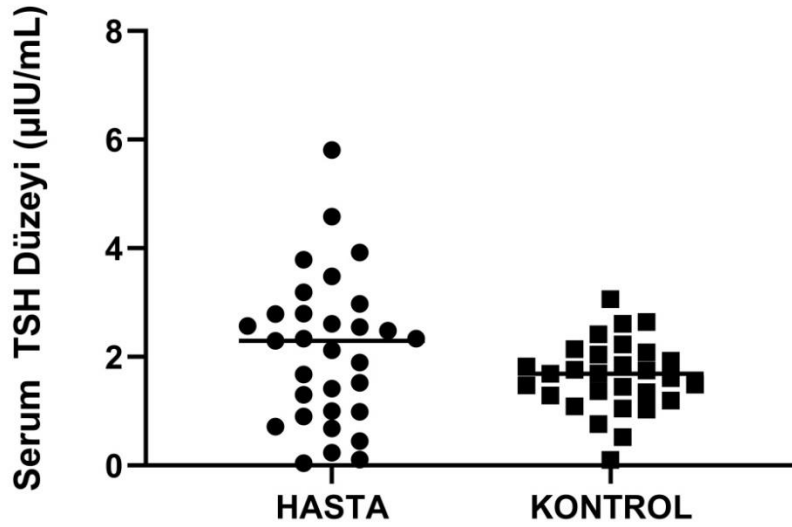


Grafik 5: GP73 Standart Eğri Grafiği



Grafik 6: GP73 Hasta ve Kontrol İstatistik Grafiği

Hasta ve kontrol grupları arasında TSH ($p=0,0918$) düzeylerine bakıldığında, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 10) (Grafik 7).



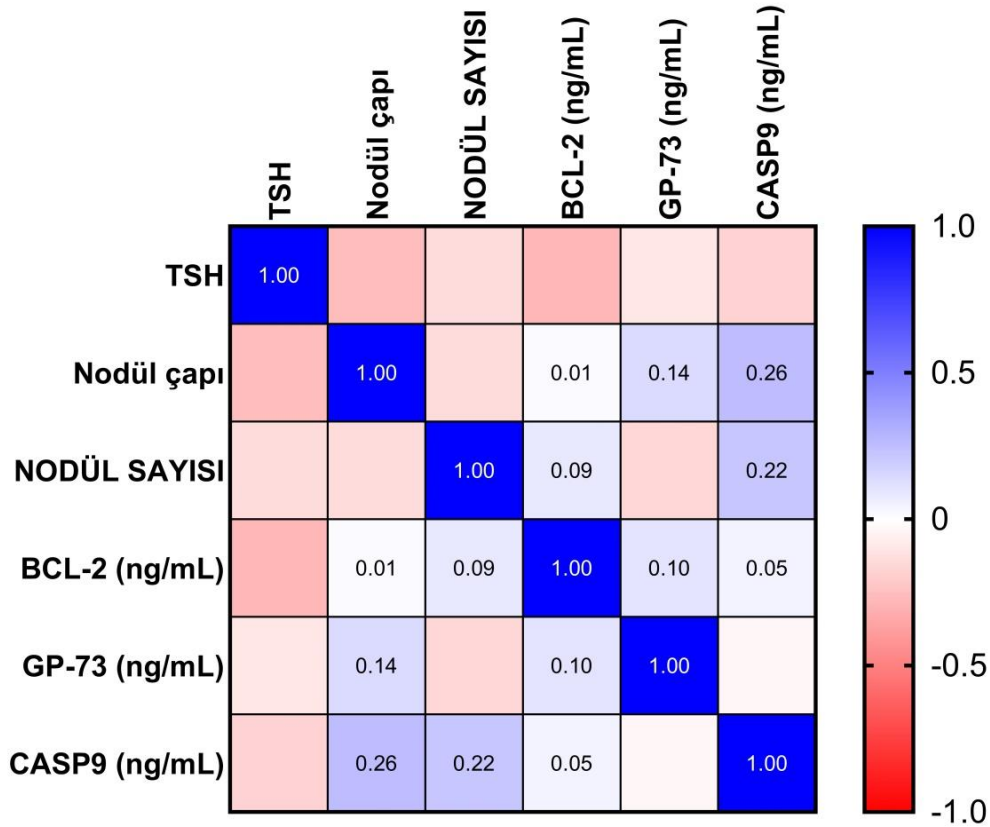
Grafik 7: TSH hasta ve kontrol istatistik grafiği

Tablo 10: Kontrol ve Hasta Gruplarında Serum GP73, CASP9, BCL-2, TSH Düzeylerinin Karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol (n:31)	Hasta (n:44)	P
GP73 (ng/mL)	10,08±5,96	13,80±8,51	0,0253
CASP9 (ng/mL)	89,25±29,91	106,5±17,88	0,0055
BCL-2 (ng/mL)	4,45±3,05	13,80±1.47	<0,0001
TSH (µIU/mL)	1,63±0,64	2,11±1,36	0,0918

GP73: Golgi Protein 73 TSH: Tiroid Stimüle Edici Hormon CASP-9:Kaspaz-9. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hasta grubunda TSH, nodül çapı, nodül sayısı, BCL-2, CASP9 ve GP73 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı (Şekil 5).



Şekil 5. Korelasyon Grafiği

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Pu ve arkadaşları meme kanserinde CASP3 ve kaspaz-8 (CASP8) ile hastalığa özgü sağ kalım arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve yüksek düzeyde CASP3 ekspresyonunun sağ kalım ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Fakat CASP8 de böyle bir ilişki bulunmamıştır (Pu vd., 2017). Blazquez ve arkadaşları CASP3 ve kaspaz-6 (CASP6) ekspresyonunu ve proliferasyon indeksini değerlendirmek için TUNEL tekniği ve immünohistokimyasal çalışmalar yapmışlardır. Kontrollere kıyasla meme karsinomlarında CASP3 ve CASP6 aşırı ekspresyonu ve gelişmiş apoptotik aktivitenin gözlendiğini belirtmişlerdir (Blázquez vd., 2006). Vakkala ve arkadaşları immünohistokimyasal çalışma ile CASP3, CASP6 ve CASP8 ekspresyonunun apoptoz ve meme lezyonunun histolojik agresifliğine paralel olarak arttığını bulmuşlardır (Vakkala vd., 1999). Metastatik meme karsinomu olan hastalarda ve sağlıklı kontrollerde serumda CASP3 ve CASP7 düzeylerine ELISA yöntemi ile bakılmıştır. Her iki belirteç de metastatik meme karsinomu olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Hammoud vd., 2014). John ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada baş ve boyun kanserinde CASP3 aktivitesine bakmışlar ve sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında baş boyun kanseri hastalarında daha yüksek serum CASP3 aktivitesi saptamışlardır (John vd., 2015). Mouwad ve arkadaşları metastatik melanom hastalarında serum kaspaz-1 (CASP1) düzeyini ELISA testi ile araştırmışlar ve medyan CASP1 seviyesini, melanom hastalarında sağlıklı donörlere kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır (Mouawad vd., 2002). Ercan ve arkadaşları serum CASP9 düzeyini akciğer kanserli hastalar ile sağlıklı kontrol grubunda ELISA testi ile analiz etmişlerdir. Serum CASP9 düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (Ercan vd., 2019). Wang ve arkadaşları yaptığı çalışmada CASP9'un kolon kanserinde aşırı ekspresyonunu gözlemlemişlerdir (Wang vd., 2014). Strater ve arkadaşları kolon karsinomunda CASP8 ve CASP9 ekspresyonlarını immünohistokimyasal olarak incelemişlerdir. Kolon karsinom epitel hücrelerinde normal kolon epiteline göre daha yüksek CASP8 ekspresyonu görülmüş ve kolon karsinomunda yüzey epitelinde daha yüksek ekspresyon seviyelerini tespit etmişlerdir. Yine normal kolon mukozasında CASP9, kript ekseni boyunca kolonositlerin sitoplazmasında oldukça kuvvetli bir

şekilde eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Karsinomlarda CASP9 ekspresyonunun normal epitelyumun ekspresyon seviyelerine kıyasla azalmış nadirinde tamamen kaybolduğu belirtilmiştir (Sträter vd., 2010). Kemper ve arkadaşları yaptığı çalışmada western blot analizi ile kolorektal kanser kök hücrelerinde CASP9'un dimerizasyonunun, in vitro olarak apoptozu indüklediğini bulmuşlardır (Kemper vd., 2012). Liu ve arkadaşları Western Blot tekniği ile yaptıkları araştırmada kafeinin CASP9 ve CASP3 sinyal yolunu aktive ederek insan mide kanseri hücrelerinin apoptozunu indüklediğini bulmuşlardır (Liu vd., 2017). Yoo ve arkadaşları Güney Kore'de mide kanserinde CASP3, CASP8, CASP9 ve kaspaz-10 (CASP10)'u analiz etmişlerdir. Mide kanserinde bu kaspaz türlerinin tamamının ekspresyonunun normal mide mukozal hücrelerine göre arttığını göstermişlerdir. Normal mide mukozal hücrelerinde CASP3, CASP8, CASP9 ve CASP10'un hiç eksprese edilmediğini veya çok az eksprese edildiğini gözlemlemişlerdir (Yoo vd., 2002). Yılmaz ve arkadaşları prostat kanseri hastalarının ve kontrollerinin kan örneklerinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) kullanarak CASP9 polimorfizmini incelemiştir. Bu çalışmada CASP9 genotiplerinin sıklığı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Yılmaz vd., 2017). Jiao ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada Western blot analizi ile Ganoderma lucidum yağının CASP3 ve CASP9'u aktive ederek meme kanseri hücrelerinin in vitro ve in vivo apoptozunu indüklediğini göstermişlerdir (Jiao vd., 2020). Önen-Bayram ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tiyazolidin bileşiğinin kanserde CASP9 bağımlı apoptozu indüklediğini göstermişlerdir. Tiyazolidin bileşiğinin biyoalkin aktif formu (ALC67) ilavesi CASP9 aktivitesinde önemli bir artışa yol açmıştır. Çalışmada karaciğer, meme, kolon ve endometriyal kanser hücreleri değerlendirilmiştir (Onen-Bayram vd., 2012). Shintani ve arkadaşları gastrointestinal adenokarsinomda hücre ölüm yollarının immünohistokimyasal analizini yapmışlardır. Bu çalışma ile gastrik ve kolorektal adenokarsinomlarda CASP8 ekspresyonunun farklılık göstermediğini bulmuşlardır. Çalışmada, CASP9 gastrik adenokarsinomlarda kolorektal adenokarsinomlardan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş ve gastrointestinal adenokarsinomlarda CASP8 ve CASP9 ekspresyonunun çok daha sık görüldüğü gösterilmiştir (Shintani vd., 2011).

Mishunina ve arkadaşları papiller tiroid kanserinde CASP3 aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada papiller karsinom dokusunda ortalama CASP3 aktivitesinin normofoliküler yapıya kıyasla biraz daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Mishunina vd., 2010). Zhang ve arkadaşları tiroid karsinomunda CASP3 aktivitesinin önemini araştırmışlardır. CASP3 immünreaktivitesini araştırdıkları araştırmada birçok tiroid kanseri vakası ve PTK hastalarını dahil etmişler ve 34 PTK vakasından 24'ünde CASP3 reaktivitesi gözlemlendiklerini belirtmişlerdir (Zhang vd., 2009). Saffar ve arkadaşları PTK hastalarında CASP3 reaktivitesine baktıkları çalışmalarında 107 PTK hastasının %86'sında CASP3 ekspresyonunun pozitif olduğunu göstermişlerdir (Saffar vd., 2013). Bona ve arkadaşları tiroidin otoimmün hastalıklarında CASP8 ve CASP9'u florometrik deneyle analiz etmişlerdir. Hipertiroidi hastalarında hem CASP8 hem de CASP9 aktivasyonunun normal kontrollerden anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır. Buna karşın Graves hastalarında CASP9 aktivasyonunu, normal kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek ve CASP8 aktivasyonunu normal kontrollere göre anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır (Bona vd., 2003) Wan ve arkadaşları florometrik analiz ile Melittinin bir analogu olan TT-1 maddesi ile tiroid kanser hücrelerinde CASP3 ve CASP9 ekspresyonunu analiz etmişlerdir. Sonuçlar, TT-1'in dozuna bağlı olarak CASP3 ve CASP9'un tiroid kanser hücrelerinde aktive edildiğini göstermiştir. Ayrıca RT-PCR analizlerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (Wan vd., 2018).

Çalışmamızda CASP9 düzeyi; PTK hastalarında kontrollere göre istatistiksel olarak daha yüksekti. Wang ve arkadaşları PTK hastaları ile sağlıklı kontrol grubunda CASP9 varyantı için gen polimorfizm analizi yapmışlar ve varyant allel frekansının hastalarda kontrollere göre daha yüksek olmasına rağmen farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir (Wang vd., 2012). CASP9 başlatıcı bir kaspazdır. Diğer kaspazları aktive ederek ölüm sinyallerini indükler ve artmış ekspresyonu apoptozu tetikler. CASP9, birden fazla kanser hücresi tipinde apoptozda çok önemli role sahiptir (Kim vd., 2015). Yapılan literatür taramalarında papiller tiroid kanseri hastalarında CASP9 düzeyinin incelendiği başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bizim çalışmamızda elde edilen bulgular benzer çalışmalar ile karşılaştırılamamıştır. Ancak farklı kanser türlerinde CASP9'a ait veriler göz önüne alındığında ve CASP9'un proapoptotik rolü düşünüldüğünde artan

CASP9 düzeyinin PTK hastalarında artmış apoptotik aktivitenin bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar CASP9'un PTK üzerindeki etkileri ile ilgili daha ileri çalışmalar için destekleyici kanıt işlevi görebilir.

Tiroid papiller karsinom prognozunun kısmen tümörün apoptotik eğilimine bağlı olabileceği öne sürülmüştür (Aksoy vd., 2005). BCL2 protein ailesi ve kaspaz kaskadı mitokondri aracılı hücre apoptozunda anahtar rol oynar (Leibowitz ve Yu, 2010). BCL2 proteinlerinin ayrıca hücre farklılaşması (epitelyal mezenkimal geçiş) (An vd., 2015; Ho vd., 2010; Sun vd., 2011; Zuo vd., 2010), erken yaşlanma (Crescenzi vd., 2003; Tombor vd., 2003), otofaji (Levine vd., 2008; Pattingre vd., 2005; Shimizu vd., 2004) ve mitokondriyal füzyon ve fisyon gibi diğer hücrel fonksiyonları düzenlediği düşünülmektedir (Autret ve Martin, 2009; Berman vd., 2009; Hoppins vd., 2011). İlk olarak BCL-2'nin, insanlarda B hücre lenfomalarında kromozomal translokasyon kırılma noktalarının yakınında aşırı eksprese edildiği keşfedildi (Tsujimoto vd., 1985).

BCL-2 ailesinin pro-apoptotik üyeleri, çok sayıda kanser hücresinde yukarı ve aşağı yönde regüle edilir. Bu durumun tümör oluşumuna ve tedaviye karşı dirence katkıda bulunduğuna inanılmaktadır (Adams ve Cory, 2007). BCL-2'nin tümör gelişimi ve metastazındaki rolü, onu kanser tedavisi için umut verici bir hedef haline getirmiştir. Kanserli hücrelerde aşırı eksprese edilen BCL-2 proteininin inhibe edilmesinin kanser tedavisi için alternatif bir tedavi olabileceği düşünülmektedir. BCL-2 geni ekspresyonunu baskılayan moleküller, kanser tedavisinde yeni bir terapötik ilaç sınıfı olarak da düşünülebilir (Wang vd., 2003). BCL-2 geni sadece kanserin gelişiminde değil, kanser hücrelerinin kemoterapötik ajanlara karşı direnç geliştirdiği mekanizmada da rol oynar (Leber vd., 2010). BCL-2 gen ekspresyonunu baskılayan ve hücreleri kemoterapötik ajanlara duyarlı hale getiren moleküller tedavi yöntemi olarak da dikkat çekmektedir. Bu yaklaşımı kullanan birçok araştırma grubu, BCL-2 proteinlerini inhibe eden birkaç molekül sentezlemiştir. Bu moleküllerden bazıları klinik çalışmalarda umut verici bir yanıt göstermiştir (Kang ve Reynolds, 2009). Bazı araştırmacılar BCL-2 gen ekspresyonunu inhibe etmek için anti-sense teknolojisi ve RNA etkileşimini kullanarak gen susturma yaklaşımından yararlanmışlardır. Bu çalışmalarda malign tümörlerin tedavisinde kullanılan anti-sense oligonükleotidlerin veya anti-sense BCL-2 ve BCL-xL kullanımının

proliferasyon hızını düşürerek kemoterapötiklerin etkilerini artırdığı bulunmuştur (Bolenz vd., 2007).

Bircan ve arkadaşları bazal hücreli karsinomu olan hastalarda artan BCL-2 ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir (Bircan vd., 2005). Androjenden bağımsız prostat kanserinde de yüksek seviyelerde BCL-2 eksprese edildiği bildirilmiştir (McDonnell vd., 1992). BCL-2 geninin artan ekspresyonunun, in vitro prostat karsinom hücrelerinde androjenden bağımsız büyümenin gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (Raffo vd., 1995). Küçük hücreli akciğer kanserinde hastaların %90'ında yüksek BCL-2 ekspresyonu gözlenmiştir (Jiang vd., 1995). Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda da yüksek BCL-2 ekspresyonu görülmüştür (Anagnostou vd., 2010). Over, nöroblastom, mesane, kolorektal ve bazı baş ve boyun kanserlerinde yüksek BCL-2 ekspresyonu gösterilmiştir (Henriksen ve Wilander, 1995; Lamers vd., 2012; Pena vd., 1999; Swellam vd., 2004; Zhao vd., 2005).

Çalışmamızda BCL-2 düzeyi; PTK hastalarında kontrollere göre istatistiksel olarak daha yüksekti. Gupta ve arkadaşları immünohistokimya yöntemi ile farklı tiroid kanseri türlerinde BCL-2 ekspresyonuna bakmışlar ve foliküler karsinomların %88,9'unda, papiller karsinomların %100'ünde ve medüller karsinom olgularının %83,3'ünde pozitif bulunmuş ve anaplastik karsinom vakalarının %40'ında fokal zayıf ekspresyon gözlemlendiğini belirtmiştir (Gupta vd., 2016). Cvejic ve arkadaşları BCL-2 ekspresyonu yönünden papiller mikrokarsinom ile PTK hastalarını incelemişler ve her iki grupta da BCL-2 ekspresyonunu göstermişlerdir (Cvejic vd., 2008). Lu ve arkadaşları tiroid kanser hücrelerinde Western Blot analizi ile Mikro-RNA-15 ile BCL-2 düzeylerine bakmışlardır ve BCL-2 ekspresyonunun tüm kanser hücrelerinde arttığı belirtilmiştir (Lu vd., y.y.). Pei ve arkadaşları PTK, nodüler guatr ve tiroid adenomu olan hastaları BCL-2 ekspresyonu yönünden karşılaştırmışlardır. Üç grupta da BCL-2 ekspresyonu tespit edilmiştir. 57 PTK hastasının 49'unda pozitif BCL-2 oranı görülmüştür (Pei vd., 2017). Mseddi ve arkadaşları PTK hastalarında BCL-2 ekspresyonunu western blot tekniği ile analiz etmişlerdir. Tüm PTK hücrelerinde BCL-2'nin aşırı ekspresyonunu göstermişlerdir (Mseddi vd., 2017). Muller-Hockey BCL-2 ekspresyon kaybının tiroidde onkositik neoplazmların oluşumunda rol alabileceğini ifade etmiştir (Müller-Höcker, 1999).

Farid ve arkadaşları BCL-2'nin p-53 ile ekspresyonunun ve oranının tiroid kanserlerinde onkogeneze katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir (Farid vd., 2001). Aksoy ve arkadaşları PTK hastalarında BCL-2 ekspresyonu ve prognostik değerini araştırmıştır. Mikrokarsinom PTK hasta grubunda BCL-2 ekspresyonunun normal tiroid dokusuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulmuşlardır (Aksoy vd., 2005). Wan ve arkadaşları Melittinin bir analogu olan TT-1 maddesi ile tiroid kanser hücrelerinde BCL-2 ekspresyonunu analiz etmişlerdir. Sonuçlar, TT-1'in dozuna bağlı olarak BCL-2'nin tiroid kanser hücrelerinde azaldığını göstermişlerdir (Wan vd., 2018). Pollina ve arkadaşları tiroid kanseri ve sağlıklı kontroller arasında BCL-2 düzeyini karşılaştırmışlar ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Pollina vd., 1996). Wang ve arkadaşlarının 2012 de Çin popülasyonu üzerine yaptığı çalışmada PTK hastaları ile sağlıklı kontrol grubunda BCL-2 varyantı gen polimorfizmine bakılmıştır. Varyant allel frekansı hastalarda kontrollere göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Wang vd., 2012).

CASP9 ve BCL-2'nin apoptozun düzenlenmesindeki sırayla apoptotik ve anti-apoptotik rolleri göz önüne alındığında PTK hastalarında bozulmuş apoptotik dengenin hastalığın oluşumunda etkili olabileceği düşünülmektedir. BCL-2 hedefli yeni tedavi yaklaşımlarının kanserlerin tedavisinde katkı sunabileceği belirtilmektedir (Campbell ve Tait, 2018). Bu nedenle PTK hastalarında da BCL-2 ve CASP9 hedefli yeni tedavi seçeneklerinin hastalık ile mücadelede etkili olabileceğini düşünüyoruz.

Epitop etiketli GP73 kullanılarak yapılan immüno-lokalizasyon deneyleri, proteinin golgi aparatında lokalize olduğunu göstermiştir. GP73'ün henüz biyokimyasal fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir ve ekspresyonlarının düzenlenmesini ele alan az sayıda çalışma vardır (Ba vd., 2012). İftikhar ve arkadaşları siroz hastalarının hepatositlerinde GP73'ün yüksek oranda eksprese edildiğini belirttiler (İftikhar vd., 2004). Marrero ve arkadaşları serum GP73 düzeylerinin hepatosellüler karsinom hastalarında siroz hastalarına göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada hepatosellüler karsinom hastalarında GP73'ün hepatositlerde up regüle olduğunu gösterdiler ve GP73'ün hepatosellüler karsinom belirteci olabileceğini öne sürdüler (Marrero vd., 2005). Fritzche ve arkadaşları renal

hücreli kanserde immünohistokimyasal yöntem ile GP73 ekspresyonunu araştırmışlardır. Çalışmada, hem renal hücreli kanserde hem de normal renal tübüllerde ekspresyon görmüşlerdir (Fritzsche vd., 2008). Wei ve arkadaşları RT-PCR, western blot ve doku mikrodizi analizi ile prostat kanserlerinde yüksek GP73 ekspresyonunu gözlemlemişlerdir (Wei vd., 2008). Morota ve arkadaşları kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinomlu hastaların serumunda GP73 seviyelerini ELISA testi ile araştırmışlardır. Hepatosellüler karsinom ve siroz hastalarında serum GP73 konsantrasyonunun, hepatit hastalarından ve sağlıklı kontrol grubundan daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Morota vd., 2011). Mao ve arkadaşları sağlıklı kontroller, hepatit B virüsü taşıyan hastalar, siroz hastaları, hepatosellüler karsinomu olan hastalar, diğer karaciğer malignitesi olan hastalar, benign karaciğer lezyonu olan hastalar ve karaciğer kanserinden farklı diğer 14 kanser türüne sahip hastaların serumlarındaki GP73 düzeyini immüno blot testi ile araştırmışlardır. Çalışılan diğer kanser türleri şunlardır; kolon kanseri, rektum kanseri, mide kanseri, özefagus kanseri, pankreas kanseri, akciğer kanseri, tiroid kanseri, böbrek kanseri, mesane kanseri, prostat kanseri, meme kanseri, over kanseri, serviks kanseri ve endometrium kanseridir. Çalışmada, kanser türlerinin önemli bir bölümünde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek GP73 seviyesi bulunmuştur (Mao vd., 2010).

Çalışmamızda serum GP73 düzeyi PTK hastalarında sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak daha yüksekti. Tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynayan apoptotik mekanizma tümör hücrelerinin parçalanmasına yol açar. Tümör hücrelerinin parçalanması sırasında golgi cisimciği de parçalanır ve fragmentlerine ayrılır. Golgi cisimciğinin parçalanması ile birlikte antiapoptotik kinazlar ortaya çıkar. Bu yapılar apoptozu inhibe etmeye çalışır. Aynı zamanda golginin parçalanması ile birlikte yapısında bulunan bazı golgi proteinleri de açığa çıkar (Machamer, 2003). Bizim çalışmamızda yüksek serum GP73 düzeyinin bulunmasının sebebi kanser hücrelerinin apoptozuna bağlı golgi fragmentasyonunun artışı olabilir. Golgi'ye lokalize ayrılmaz bir zar proteini olduğu için GP73'ün serumda bir biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı ile ilgili henüz kesin bir bilgi olmamakla birlikte (Kladney, Cui, vd., 2002; Kladney, Tollefson, vd., 2002; Natarajan ve Linstedt, 2004; Puri vd., 2002) çalışmamızda elde edilen sonuçlar dikkate alındığında serum GP73 ölçümünün PTK tanısında kullanılabilir bir

biyobelirteç adayı olabileceğini düşünüyoruz. Ancak bir biyobelirteç olarak GP73'ün tanısal doğruluğunu, duyarlılığını ve özgüllüğünü belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak; CASP9'un proapoptotik rolü düşünüldüğünde artan CASP9 düzeyinin PTK hastalarında artmış apoptotik aktivitenin bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. CASP9 ve BCL-2'nin apoptozun düzenlenmesindeki sırayla apoptotik ve anti-apoptotik rolleri göz önüne alındığında PTK hastalarında bozulmuş apoptotik dengenin hastalığın oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda bulunan yüksek serum GP73 düzeyinin sebebi kanser hücrelerinin apoptozuna bağlı golgi fragmentasyonunun artışı olabilir. Serum GP73 ölçümünün PTK tanısında kullanılabilir bir biyobelirteç adayı olabileceğini düşünüyoruz. Ancak bir biyobelirteç olarak GP73'ün tanısal doğruluğunu, duyarlılığını ve özgüllüğünü belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Abdel, M., Allam, R. (2017). Studying the Value of Golgi Protein 73 as a Serum Marker in Hepatocellular Carcinoma Versus Alfa Feto Protein. *Nature and Science*. 2016:14(1)
- Adams, J. M., Cory, S. 2007. "The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy.". *Oncogene*, 26(9), 1324–1337.
- Adaş, G., Adaş, M., Özüiker, F., Akçakaya, A., (2012). Tiroid Kanserleri. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 28, 26–34.
- Akcakaya, A., Koc, B., Ferhatoglu, F. (2012). Thyroid Anatomy and Surgical Approach. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 28, 1–9.
- Aksoy, M., Giles, Y., Kapran, Y., Terzioglu, T., Tezelman, S. (2005). Expression of bcl-2 in papillary thyroid cancers and its prognostic value. *Acta Chirurgica Belgica*, 105(6), 644–648.
- Allen, E., Fingeret., A. (2019). Anatomy , Head and Neck , Eye Fovea Blood Supply and Lymphatics.. *A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health*, 3–5.
- An, J., Lv, J., Li, A., Qiao, J., Fang, L., Li, Z., Li, B., Zhao, W., Chen, H.Wang, L. (2015). Constitutive expression of Bcl-2 induces epithelial-Mesenchymal transition in mammary epithelial cells. *BMC cancer*, 15, 476.
- Anagnostou, V. K., Lowery, F. J., Zolota, V., Tzelepi, V., Gopinath, A., Liceaga, C., Syrigos, K. N. (2010). High expression of BCL-2 predicts favorable outcome in non-small cell lung cancer patients with non squamous histology. *BMC Cancer*, 10:186.
- Arrangoiz, R., Cordera, F., Caba, D., Muñoz, M., Moreno, E., de León, E. L. (2018). Comprehensive Review of Thyroid Embryology, Anatomy, Histology, and Physiology for Surgeons. *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 07(04), 160–188.
- Autret, A., Martin, S. J. (2009). Emerging role for members of the Bcl-2 family in mitochondrial morphogenesis. *Molecular cell*, 36(3), 355–363.
- Azzwali, A. A., Azab, A. E. (2019). Apoptosis: Insight into Stages , Extrinsic and Intrinsic Pathways Apoptosis: Insight into Stages , Extrinsic and Intrinsic Pathways, *Open Science Journal of Clinical Medicine*, 7(3): 80-82.
- Ba, M. C., Long, H., Tang, Y. Q., Cui, S. Z. (2012). GP73 expression and its significance in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A review. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 5(9), 874–881.
- Becker, W. F. (1977). Pioneers in thyroid surgery. *Annals of Surgery*, 185(5), 493–504.
- Berman, S. B., Chen, Y., Qi, B., McCaffery, J. M., Rucker, E. B., Goebels, S., Hardwick, J. M. (2009). Bcl-x L increases mitochondrial fission, fusion, and biomass in neurons. *The Journal of cell biology*, 184(5), 707–719.
- Bikas, A., Burman, K. D. (2019). Epidemiology of Thyroid Cancer. *The Thyroid and Its Diseases*, 541–547.
- Bildik, A., Bayar, İ. (2018). Inhibition of Apoptotic Pathways in Cancer. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 9(2), 42–51.
- Binboga, S., Gemici, E., Binboga, E. (2019). Thyroid Anatomy. *Knowledges on Thyroid Cancer*, 1–11.

- Bircan S., Çandır Ö., Kapucuoğlu N., Başpınar Ş. (2005). Bazal Hücreli Karsinom ve Çevre Nontümöral Epidermiste p53, bcl-2, bax Ekspresyonu. *Türk Patoloji Dergisi*, 21(3-4), 044-048.
- Blázquez, S., Sirvent, J. J., Olona, M., Aguilar, C., Pelegri, A., Garcia, J. F., Palacios, J. (2006). Caspase-3 and caspase-6 in ductal breast carcinoma: A descriptive study. *Histology and Histopathology*, 21(10-12), 1321-1329.
- Bolenz, C., Becker, A., Trojan, L., Schaaf, A., Cao, Y., Weiss, C., Michel, M. S. (2007). Optimizing chemotherapy for transitional cell carcinoma by application of bcl-2 and bcl-xL antisense oligodeoxynucleotides. *Urologic oncology*, 25(6), 476-482.
- Bona, G., Defranco, S., Chiocchetti, A., Indelicato, M., Biava, A., Difranco, D., Dianzani, U. (2003). Defective function of Fas in T cells from paediatric patients with autoimmune thyroid diseases. *Clinical and Experimental Immunology*, 133(3), 430-437.
- Campbell, K. J., Tait, S. W. G. (2018). Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. *Open Biology*, 8(5), 1-11.
- Carling, T., & Udelsman, R. (2014). Thyroid cancer. *Annual review of medicine*, 65, 125-137.
- Cavallucci, V., D'Amelio, M. (2010). Apoptosome: An up-and-coming therapeutical tool. *Springer Netherlands*, 39(0), 1-26.
- Chandrasekar, A. P. (2020). The Role of the BCL-2 Family of Proteins in HIV-1. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1), 1-25.
- Coşkun, G., Özgür, H. (2014). Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(3), 145-158.
- Crescenzi, E., Palumbo, G., Brady, H. J. M. (2003). Bcl-2 activates a programme of premature senescence in human carcinoma cells. *The Biochemical Journal*, 375(Pt 2), 263-274.
- Cvejic, D., Selemetjev, S., Savin, S., Paunovic, I., Petrovic, I., Tatic, S. (2008). Apoptosis and proliferation related molecules (Bcl-2, Bax, p53, PCNA) in papillary microcarcinoma versus papillary carcinoma of the thyroid. *Pathology*, 40(5), 475-480.
- D'Arcy, M. S. (2019). "Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy". *Cell Biology International*, 43(6), 582-592.
- Danial, N. N., Korsmeyer, S. J. (2004). Cell Death: Critical Control Points. *Cell*, 116(2), 205-219.
- Degli Esposti, M. (1998). Apoptosis: who was first?. *Cell Death & Differentiation*, 5(9), 719-719.
- Dinets, A., Hulchiy, M., Sofiadis, A., Ghaderi, M., Höög, A., Larsson, C., Zedenius, J. (2012). Clinical, genetic, and immunohistochemical characterization of 70 Ukrainian adult cases with post-Chornobyl papillary thyroid carcinoma. *European journal of endocrinology*, 166(6), 1049-1060.
- Donaldson, I. M. L. (2014). Celsus: De medicina, Florence 1478. Part 2. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 44(4), 344-346.
- Dunn, J. T., Dunn, A. D. (2001). Update on intrathyroidal iodine metabolism. *Thyroid*, 11(5), 407-414.
- Ercan, S., Arinc, S., Yilmaz, S. G., Altunok, C., Yaman, F., Isbir, T. (2019). Investigation of caspase 9 gene polymorphism in patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Research*, 39(5), 2437-2441.

- Fan, C., Wang, W., Jin, J., Yu, Z., Xin, X. (2017). RASSF10 is Epigenetically Inactivated and Suppresses Cell Proliferation and Induces Cell Apoptosis by Activating the p53 Signalling Pathway in Papillary Thyroid Carcinoma Cancer.. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 41(3), 1229–1239.
- Farid, P., Gomb, S. Z., Péter, I., Szende, B. (2001). bcl2, p53 and bax in thyroid tumors and their relation to apoptosis. *Neoplasma*, 48(4), 299–301.
- Fong, P. (2011). Thyroid iodide efflux: A team effort?. *Journal of Physiology*, 589(24), 5929–5939.
- Frenzel, A., Grespi, F., Chmielewski, W., & Villunger, A. (2009). Bcl2 family proteins in carcinogenesis and the treatment of cancer. *Apoptosis*, 14(4), 584-596.
- Fritzsche, F. R., Riener, M. O., Dietel, M., Moch, H., Jung, K., Kristiansen, G. (2008). GOLPH2 expression in renal cell cancer. *BMC Urology*, 8(1), 6–11.
- Galluzzi, L., Maiuri, M. C., Vitale, I., Zischka, H., Castedo, M., Zitvogel, L., Kroemer, G. (2007). Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell death and differentiation*, 14(7), 1237–1243.
- García-Aranda, M., Pérez-Ruiz, E., & Redondo, M. (2018). Bcl-2 inhibition to overcome resistance to chemo-and immunotherapy. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 3950.
- Ghobrial, I. M., Witzig, T. E., & Adjei, A. A. (2005). Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA: a cancer journal for clinicians*, 55(3), 178-194.
- Global Cancer Observatory.
<http://gco.iarc.fr/>
- GOLM1 golgi membrane protein 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. (2019).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=51280>
- Gupta, A., Jain, S., Khurana, N., & Kakar, A. K. (2016). Expression of p63 and Bcl-2 in malignant thyroid tumors and their correlation with other diagnostic immunocytochemical markers. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 10(7), EC04.
- Gültekin, N., Karaoğlu, K., Küçükates, E. 2008. Hücrede apoptoz ve sağkalım mekanizmalarının keşfedilmesi ve yeni potansiyel tedavi stratejileri. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 36(2), 120–130.
- Hammoud, H., Saleh, J., Bachour, M., Salamoona, M. (2014). Serum Caspase-3 and Caspase-7 as Predictive Factors of Response in Locally Advanced and Metastatic Breast Carcinoma. *Journal of Cancer Therapy*, 05(06), 584–590.
- Hassan, M., Watari, H., Abualmaaty, A., Ohba, Y., Sakuragi, N. (2014). Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *BioMed Research International*, 2014.
- Hegedüs, L., Bonnema, S. J., Bennedbæk, F. N. 2003. Management of simple nodular goiter: Current status and future perspectives. *Endocrine Reviews*, 24(1), 102–132.
- Hengartner, M. O. 2001. Apoptosis: corralling the corpses. *Cell*, 104(3), 325–328.
- Henriksen, R., Wilander, E., & Oberg, K. (1995). Expression and prognostic significance of Bcl-2 in ovarian tumours. *British journal of cancer*, 72(5), 1324-1329.
- Hetts, S. W. (1998). To Die or not to die: An overview of apoptosis and its role in disease. *Journal of the American Medical Association*, 279(4), 300–307.
- Hetz, C., Glimcher, L. (2008). The daily job of night killers: alternative roles of the BCL-2 family in organelle physiology. *Trends in Cell Biology*, 18(1), 38–44.

History of Medicine: Leonardo Da Vinci and the Elusive Thyroid | Columbia University
Department of Surgery.

<https://columbiasurgery.org/news/2015/09/03/history-medicine-leonardo-da-vinci-and-elusive-thyroid-0>

- Ho, J.-N., Kang, G. Y., Lee, S.-S., Kim, J., Bae, I. H., Hwang, S.-G., Um, H.-D. (2010). Bcl-XL and STAT3 mediate malignant actions of gamma-irradiation in lung cancer cells. *Cancer science*, 101(6), 1417–1423.
- Hoppins, S., Edlich, F., Cleland, M. M., Banerjee, S., McCaffery, J. M., Youle, R. J., Nunnari, J. (2011). The soluble form of Bax regulates mitochondrial fusion via MFN2 homotypic complexes. *Molecular cell*, 41(2), 150–160.
- Hung, V. W. S., Veloso, A. J., Chow, A. M., Ganesh, H. V. S., Seo, K., Kendüzler, E., Kerman, K. (2015). Electrochemical impedance spectroscopy for monitoring caspase-3 activity. *Electrochimica Acta*, 162, 79–85.
- Iftikhar, R., Kladney, R. D., Havlioglu, N., Schmitt-Gräff, A., Gusmirovic, I., Solomon, H., Fimmel, C. J. (2004). Disease- and cell-specific expression of GP73 in human liver disease. *The American journal of gastroenterology*, 99(6), 1087–1095.
- Israels, L. G., Israels, E. D. (1999). Apoptosis. *The Oncologist*, 332–339.
- Jang, J. H., Surh, Y. J. (2003). Potentiation of cellular antioxidant capacity by Bcl-2: Implications for its antiapoptotic function. *Biochemical Pharmacology*, 66(8), 1371–1379.
- Jiang, S. -X, Sato, Y., Kuwao, S., Kameya, T. (1995). Expression of bcl-2 oncogene protein is prevalent in small cell lung carcinomas. *The Journal of Pathology*, 177(2), 135–138.
- Jiao, C., Chen, W., Tan, X., Liang, H., Li, J., Yun, H., Yang, B. B. (2020). Ganoderma lucidum spore oil induces apoptosis of breast cancer cells in vitro and in vivo by activating caspase-3 and caspase-9. *Journal of Ethnopharmacology*, 247, 112256.
- John, K., Rösner, I., Keilholz, U., Gauler, T., Bantel, H., Grünwald, V. (2015). Baseline caspase activity predicts progression free survival of temsirolimus-treated head neck cancer patients. *European Journal of Cancer*, 51(12), 1596–1602.
- Joshi, A., Haque, N., Lateef, A., Patel, A., Patel, P. (2017). Apoptosis and Its Role in Physiology. *International Journal of Livestock Research*, 7(10) 33-45.
- Julien, O., & Wells, J. A. (2017). Caspases and their substrates. *Cell Death & Differentiation*, 24(8), 1380-1389.
- Kale, J., Osterlund, E. J., & Andrews, D. W. (2018). BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death & Differentiation*, 25(1), 65-80.
- Kang, M. H., & Reynolds, C. P. (2009). Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy. *Clinical cancer research*, 15(4), 1126-1132..
- Kaplan, E., Angelos, P., Applewhite, M., Mercier, F., & Grogan, R. H. (2015). Surgery of the thyroid. In *Endotext [Internet]*. MDText. com, Inc..
- Kaya, C., Çalışkan, Y., & Yönden, Z. (2012). Apoptozis. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 3(11), 26-37.
- Kemper, K., Rodermond, H., Colak, S., Grandela, C., & Medema, J. P. (2012). Targeting colorectal cancer stem cells with inducible caspase-9. *Apoptosis*, 17(5), 528-537.
- Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239-257.
- Kesavardhana, S., Malireddi, R. K. S., Kanneganti, T. (2020). Caspases in Cell Death, Inflammation, and Gasdermin-Induced Pyroptosis. *Annual Review of Immunology*, 38, 567–595.

- Kim, B., Srivastava, S. K., Kim, S. H. (2015). Caspase-9 as a therapeutic target for treating cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 19(1), 113–127.
- Kim, P. K. M., Mahidhara, R., Seol, D. W. (2001). The role of caspase-8 in resistance to cancer chemotherapy. *Drug Resistance Updates*, 4(5), 293–296.
- Kladney, R. D., Cui, X., Bulla, G. A., Brunt, E. M., Fimmel, C. J. (2002). Expression of GP73, a resident golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease. *Hepatology*, 35(6), 1431–1440.
- Kladney, R. D., Tollefson, A. E., Wold, W. S., & Fimmel, C. J. (2002). Upregulation of the Golgi protein GP73 by adenovirus infection requires the E1A CtBP interaction domain. *Virology*, 301(2), 236–246.
- Klim, J., Gładki, A., Kucharczyk, R., Zielenkiewicz, U., Kaczanowski, S. (2018). Ancestral state reconstruction of the apoptosis machinery in the common ancestor of eukaryotes". *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8(6), 2121–2134.
- Kroemer, G., Galluzzi, L., Brenner, C. (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological Reviews*, 87(1), 99–163.
- Krohn, K., Führer, D., Bayer, Y., Eszlinger, M., Brauer, V., Neumann, S., Paschke, R. (2005). Molecular pathogenesis of euthyroid and toxic multinodular goiter. *Endocrine Reviews*, 26(4), 504–524.
- Lam, A. (2017). Pathology of Endocrine Tumors Update: World Health Organization New Classification 2017—Other Thyroid Tumors. *AJSP: Reviews & Reports*, 22(4), 209.
- Lamers, F., Schild, L., Den Hartog, I. J. M., Ebus, M. E., Westerhout, E. M., Ora, I., Molenaar, J. J. (2012). Targeted BCL2 inhibition effectively inhibits neuroblastoma tumour growth. *European Journal of Cancer*, 48(16), 3093–3103.
- Lavrik, I. N., Golks, A., Krammer, P. H. (2005). Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *The Journal of clinical investigation*, 115(10), 2665–2672.
- Leber, B., Geng, F., Kale, J., & Andrews, D. W. (2010). Drugs targeting Bcl-2 family members as an emerging strategy in cancer. *Expert reviews in molecular medicine*, 12.
- Leibowitz, B., Yu, J. (2010). Mitochondrial signaling in cell death via the Bcl-2 family. *Cancer biology & therapy*, 9(6), 417–422.
- Levine, B., Sinha, S., Kroemer, G. (2008). Bcl-2 family members: dual regulators of apoptosis and autophagy. *Autophagy*, 4(5), 600–606.
- Li, P., Zhou, L., Zhao, T., Liu, X., Zhang, P., Liu, Y., Li, Q. (2017). Caspase-9: Structure, mechanisms and clinical application. *Oncotarget*, 8(14), 23996–24008.
- Li, X., Li, Z., Song, Y., Liu, W., Liu, Z. (2018). The mTOR Kinase Inhibitor CZ415 Inhibits Human Papillary Thyroid Carcinoma Cell Growth. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 46(2), 579–590.
- Lim, H., Devesa, S. S., Sosa, J. A., Check, D., & Kitahara, C. M. (2017). Trends in thyroid cancer incidence and mortality in the United States, 1974–2013. *Jama*, 317(13), 1338–1348.
- Limaiem, F., Rehman, A., & Mazzoni, T. (2018). Cancer, Papillary Thyroid Carcinoma (PTC). *StatPearls*.
- Liu, H., Zhou, Y., Tang, L. (2017). Caffeine induces sustained apoptosis of human gastric cancer cells by activating the caspase-9/caspase-3 signalling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 16(3), 2445–2454.

- Liu, Y., Liewen, H., Markuly, N., & Stenner, F. (2019). A review of GOLPH2, an oncogenic protein and novel therapeutic options for GOLPH2 driven tumours. *Journal of Translational Science*, 6: 1-4.
- Liu, Y., Su, L., Xiao, H. (2017). Review of Factors Related to the Thyroid Cancer Epidemic. *International Journal of Endocrinology*, 2017
- Lopez, J., Tait, S. W. G. 2015. Mitochondrial apoptosis: Killing cancer using the enemy within. *British Journal of Cancer*, 112(6), 957–962.
- Lu, Z., Wu, Z., Hu, J., Wei, W., Ma, B., & Wen, D. (2019). MicroRNA-15 regulates the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells by targeting Bcl-2. *Journal of BU ON.: official journal of the Balkan Union of Oncology*, 24(5), 2114.
- Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J (eds) (2017) WHO classification of tumours of endocrine organs, 4th edn. IARC Press, Lyon
- Machamer, C. E. (2003). Golgi disassembly in apoptosis: cause or effect?. *Trends in cell biology*, 13(6), 279–281.
- Mao, Y., Yang, H., Xu, H., Lu, X., Sang, X., Du, S., Zhang, H. (2010). Golgi protein 73 (GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma. *Gut*, 59(12), 1687–1693.
- Marrero, J. A., Romano, P. R., Nikolaeva, O., Steel, L., Mehta, A., Fimmel, C. J., Block, T. M. 2005. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*, 43(6), 1007–1012.
- Martinez, M. M., Reif, R. D., Pappas, D. (2010). Detection of apoptosis: A review of conventional and novel techniques. *Analytical Methods*, 2(8), 996–1004.
- McDonnell, T. J., Troncoso, P., Brisbay, S. M., Logothetis, C., Chung, L. W., Hsieh, J. T., & Campbell, M. L. (1992). Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer research*, 52(24), 6940-6944.
- Meier, P., Finch, A., Evan, G. (2000). Apoptosis in development. *Nature*, 407(6805), 796–801.
- MeSH Browser. 2020.
[https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Caspase 9](https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Caspase%209)
- Mishunina, T. M., Kalinichenko, O. V., Tronko, M. D., Statsenko, O. A. (2010). Caspase-3 activity in papillary thyroid carcinomas. *Experimental Oncology*, 32(4), 269–272.
- Morota, K., Nakagawa, M., Sekiya, R., Hemken, P. M., Sokoll, L. J., Elliott, D., Dowell, B. L. (2011). A comparative evaluation of Golgi protein-73, fucosylated hemopexin, α -fetoprotein, and PIVKA-II in the serum of patients with chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 49(4), 711–718.
- Mouawad, R., Antoine, E. C., Gil-Delgado, M., Khayat, D., & Soubrane, C. (2002). Serum caspase-1 levels in metastatic melanoma patients: relationship with tumour burden and non-response to biochemotherapy. *Melanoma research*, 12(4), 343-348.
- Mseddi, M., Ben Mansour, R., Gouia, N., Mnif, F., Bouselaa, R., Abid, M., Lassoued, S. (2017). A comparative study of nuclear 8-hydroxyguanosine expression in Autoimmune Thyroid Diseases and Papillary Thyroid Carcinoma and its relationship with p53, Bcl-2 and Ki-67 cancer related proteins. *Advances in Medical Sciences*, 62(1), 45–51.

- Müller-Höcker, J. (1999). Immunoreactivity of p53, Ki-67, and Bcl-2 in oncocytic adenomas and carcinomas of the thyroid gland. *Human pathology*, 30(8), 926–933.
- Natarajan, R., & Linstedt, A. D. (2004). A cycling cis-Golgi protein mediates endosome-to-Golgi traffic. *Molecular biology of the cell*, 15(11), 4798–4806.
- Onen-Bayram, F. E., Durmaz, I., Scherman, D., Herscovici, J., Cetin-Atalay, R. (2012). A novel thiazolidine compound induces caspase-9 dependent apoptosis in cancer cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(17), 5094–5102.
- Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. Third edition - WHO – OMS. <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=70&codcch=8>
- Pattingre, S., Tassa, A., Qu, X., Garuti, R., Liang, X. H., Mizushima, N., Levine, B. (2005). Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*, 122(6), 927–939.
- Pei, C., Lina, W. U., Zheng, H., Liang, J., & Zhang, G. (2017). Expression of CIP2A, bcl-2 and p63 in papillary thyroid cancer and their significances. *Cancer Research and Clinic*, 29(5), 322-326.
- Pellegriti, G., Frasca, F., Regalbuto, C., Squatrito, S., Vigneri, R. (2013). Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: Update on epidemiology and risk factors. *Journal of Cancer Epidemiology*, 2013.
- Pena, J. C., Thompson, C. B., Recant, W., Vokes, E. E., Rudin, C. M. (1999). Bcl-xL and Bcl-2 expression in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer*, 85(1), 164–170.
- Pfeffer, C. M., Singh, A. T. K. (2018). Apoptosis: A target for anticancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2).
- Pollina, L., Pacini, F., Fontanini, G., Vignati, S., Bevilacqua, G., Basolo, F. (1996). Bcl-2, p53 and proliferating cell nuclear antigen expression is related to the degree of differentiation in thyroid carcinomas. *British Journal of Cancer*, 73(2), 139–143.
- Portulano, C., Paroder-Belenitsky, M., Carrasco, N. (2014). The Na⁺/I⁻ Symporter (NIS): Mechanism and medical impact. *Endocrine Reviews*, 35(1), 106–149.
- Pu, X., Storr, S. J., Zhang, Y., Rakha, E. A., Green, A. R., Ellis, I. O., Martin, S. G. (2017). Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*, 22(3), 357–368.
- Puri, S., Bachert, C., Fimmel, C. J., & Linstedt, A. D. (2002). Cycling of early Golgi proteins via the cell surface and endosomes upon luminal pH disruption. *Traffic*, 3(9), 641-653.
- Purohit, B. S., Ailianou, A., Dulguerov, N., Becker, C. D., Ratib, O., Becker, M. (2014). FDG-PET/CT pitfalls in oncological head and neck imaging. *Insights into Imaging*, 5(5), 585–602.
- Raffo, A. J., Perlman, H., Chen, M. W., Day, M. L., Streitman, J. S., Buttyan, R. (1995). Overexpression of bcl-2 protects prostate cancer cells from apoptosis in vitro and confers resistance to androgen depletion in vivo.. *Cancer research*, 55(19), 4438–4445.
- Rathore, S., Datta, G., Kaur, I., Malhotra, P., Mohmmmed, A. (2015). Disruption of cellular homeostasis induces organelle stress and triggers apoptosis like cell-death pathways in malaria parasite. *Cell Death and Disease*, 6(7), e1803-13.
- Renahan, A. G., Booth, C., & Potten, C. S. (2001). What is apoptosis, and why is it important? Education and debate. *Bmj*, 322(7301), 1536-1538.

- Saffar, H., Sanii, S., Emami, B., Heshmat, R., Panah, V. H., Azimi, S., Tavangar, S. M. (2013). Evaluation of MMP2 and Caspase-3 expression in 107 cases of papillary thyroid carcinoma and its association with prognostic factors. *Pathology Research and Practice*, 209(3), 195–199.
- Schlumberger, M. J. (2013). Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, 338, 297–306.
- Schneider, P., & Tschopp, J. (2000). Apoptosis induced by death receptors. In *Pharmacochimistry Library* 31, 281-286.
- Shamas-Din, A., Kale, J., Leber, B., Andrews, D. W. (2013). Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4), 1–21.
- Shimizu, S., Kanaseki, T., Mizushima, N., Mizuta, T., Arakawa-Kobayashi, S., Thompson, C. B., Tsujimoto, Y. (2004). Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. *Nature cell biology*, 6(12), 1221–1228.
- Shintani, M., Sangawa, A., Yamao, N., Miyake, T., Kamoshida, S. (2011). Immunohistochemical analysis of cell death pathways in gastrointestinal adenocarcinoma. *Biomedical Research*, 32(6), 379–386.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(1), 7-30.
- Siironen, P. (2005). Prognosis of papillary thyroid cancer.
- Smith, A. Parkes, M.A, Atkin-Smith, G.K., Tixeira, R., Poon I.K. (2017). Apoptotic cell clearance: Basic biology and therapeutic potential. *WikiJournal of Medicine*, 4(1):8
- Soh, S. B., Aw, T. C. (2019). Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Annals of laboratory medicine*, 39(1), 3–14.
- Stadler, L. K. J., Tomlinson, D. C., Lee, T., Knowles, M. A., Ko Ferrigno, P. (2014). The use of a neutral peptide aptamer scaffold to anchor BH3 peptides constitutes a viable approach to studying their function. *Cell Death and Disease*, 5(1), e1037-9.
- Sträter, J., Herter, I., Merkel, G., Hinz, U., Weitz, J., Möller, P. (2010). Expression and prognostic significance of APAF-1, caspase-8 and caspase-9 in stage II/III colon carcinoma: Caspase-8 and caspase-9 is associated with poor prognosis. *International Journal of Cancer*, 127(4), 873–880.
- Sun, T., Sun, B., Zhao, X., Zhao, N., Dong, X., Che, N., Liu, Z. (2011). Promotion of tumor cell metastasis and vasculogenic mimicry by way of transcription coactivation by Bcl-2 and Twist1: a study of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 54(5), 1690–1706.
- Swellam, M., Abd-Elmaksoud, N., Halim, M. H., Khatab, H., Khiry, H. (2004). Incidence of Bcl-2 expression in bladder cancer: Relation to schistosomiasis. *Clinical Biochemistry*, 37(9), 798–802.
- Szegezdi, E., Fitzgerald, U., Samali, A. (2003). Caspase-12 and ER-stress-mediated apoptosis: the story so far. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1010, 186–194.
- Tomatır, A. G. (2003). Apoptoz : Programlı Hücre Ölümü. *T. Klin. Tıp Bilimleri*, 23, 499–508.
- Tombor, B., Rundell, K., Oltvai, Z. N. (2003). Bcl-2 promotes premature senescence induced by oncogenic Ras. *Biochemical and biophysical research communications*, 303(3), 800–807.
- Tsujimoto, Y., Cossman, J., Jaffe, E., Croce, C. M. (1985). Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*, 228(4706), 1440–1443.

- Tzifi, F., Economopoulou, C., Gourgiotis, D., Ardavanis, A., Papageorgiou, S., Scorilas, A. (2012). The role of BCL2 family of apoptosis regulator proteins in acute and chronic leukemias. *Advances in Hematology*, 2012.
- Vakkala, M., Pääkkö, P., Soini, Y. (1999). Expression of caspases 3, 6 and 8 is increased in parallel with apoptosis and histological aggressiveness of the breast lesion. *British Journal of Cancer*, 81(4), 592–599.
- Wan, L., Zhang, D., Zhang, J., Ren, L. (2018). Tt-1, an analog of melittin, triggers apoptosis in human thyroid cancer TT cells via regulating caspase, Bcl-2 and bax. *Oncology Letters*, 15(1), 1271–1278.
- Wang, C., Xu, D., Yu, Y. (2014). The expression of caspase-9 in colon mucosa, adenoma, cancer and the lentivirus mediated over-expression of it in colon cancer cells. *Journal of the American College of Surgeons*, 219(4), e179–e180.
- Wang, S., Yang, D., Lippman, M. E. (2003). Targeting Bcl-2 and Bcl-XL with nonpeptidic small-molecule antagonists. *Seminars in oncology*, 30, 133–142.
- Wang, Y. X., Zhao, L., Wang, X. Y., Liu, C. M., Yu, S. G. (2012). Role of Caspase 8, Caspase 9 and Bcl-2 polymorphisms in papillary thyroid carcinoma risk in Han Chinese population. *Medical Oncology*, 29(4), 2445–2451.
- Wardle, D. J., Burgon, J., Sabroe, I., Bingle, C. D., Whyte, M. K., & Renshaw, S. A. (2011). Effective caspase inhibition blocks neutrophil apoptosis and reveals Mcl-1 as both a regulator and a target of neutrophil caspase activation. *PLoS One*, 6(1).
- Warren, C. F. A., Wong-Brown, M. W., Bowden, N. A. (2019). BCL-2 family isoforms in apoptosis and cancer. *Cell Death and Disease*, 10(3).
- Wei, S., Dunn, T. A., Isaacs, W. B., De Marzo, A. M., Luo, J. (2008). GOLPH2 and MYO6: putative prostate cancer markers localized to the Golgi apparatus. *The Prostate*, 68(13), 1387–1395.
- Wong, R. S. Y. (2011). Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 30(1), 1–14.
- Xia, Y., Zhang, Y., Shen, M., Xu, H., Li, Z., He, N. (2018). Golgi protein 73 and its diagnostic value in liver diseases. *Cell Proliferation*, 52(2), 1–13.
- Xu, X., Lai, Y., Hua, Z. C. (2019). Apoptosis and apoptotic body: Disease message and therapeutic target potentials. *Bioscience Reports*, 39(1), 1–17.
- Xue, S., Wang, P., Liu, J., Li, R., Zhang, L., Chen, G. (2016). Prophylactic central lymph node dissection in cN0 patients with papillary thyroid carcinoma: A retrospective study in China. *Asian journal of surgery*, 39(3), 131–136.
- Yang, J., Meng, X., Yu, Y., Pan, L., Zheng, Q., Lin, W. (2019). LncRNA POU3F3 promotes proliferation and inhibits apoptosis of cancer cells in triple-negative breast cancer by inactivating caspase 9. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 83(6), 1117–1123.
- Yilmaz, S. G., Yencilek, F., Yildirim, A., Yencilek, E., Isbir, T. (2017). Effects of caspase 9 gene polymorphism in patients with prostate cancer. *In Vivo*, 31(2), 205–208.
- Yoo, N. J., Kim, H. S., Kim, S. Y., Park, W. S., Kim, S. H., Lee, J. Y., & Lee, S. H. (2002). Stomach cancer highly expresses both initiator and effector caspases; an immunohistochemical study. *Apmis*, 110(11), 825–832.
- Zaman, S., Wang, R., & Gandhi, V. (2014). Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies. *Leukemia & lymphoma*, 55(9), 1980–1992.
- Zhang, H. Y., Meng, X., Du, Z. X., Fang, C. Q., Liu, G. L., Wang, H. Q., Deng, W. W. (2009). Significance of survivin, caspase-3, and VEGF expression in thyroid carcinoma. *Clinical and Experimental Medicine*, 9(3), 207–213.

- Zhao, D. P., Ding, X. W., Peng, J. P., Zheng, Y. X., & Zhang, S. Z. (2005). Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *Journal of Zhejiang University Science B*, 6(12), 1163-1169.
- Zuo, J., Ishikawa, T., Boutros, S., Xiao, Z., Humtsoe, J. O., & Kramer, R. H. (2010). Bcl-2 overexpression induces a partial epithelial to mesenchymal transition and promotes squamous carcinoma cell invasion and metastasis. *Molecular Cancer Research*, 8(2), 170-182.



EKLER

EK 1: Hasta Grubu Bilgilendirilmiş Olur Formu



SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU HASTA GRUBU BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Tiroid Papiller Kanser Hastalarında Serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 Düzeyinin İncelenmesi” dir.

Bu araştırmanın amacı, Tiroid kanserinde ve sağlıklı kontrollerde Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi-P73 denilen maddelerin düzeylerine bakılmasıdır. Elde edilecek verilerin hastalığın oluşumunun anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmada, size tiroid papiller kanseri tanısı konursa bazı kan tahlilleri yapılacaktır. Bu araştırmada yer almanız için bir defa kan örneği vermeniz yeterli olacaktır, araştırmada yer alacak sizin gibi gönüllülerin sayısı 45’dir. Çalışma 6 ay sürecektir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizden beklenen istenen tahlilleri yaptırmak, araştırmacının sorularına uygun ve doğru cevap vermek ve sonuçlarını zamanında araştırmacıya ulaştırmaktır.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir. Sizin için beklenen yararlar tiroid bezinde meydana gelen iyi huylu ve kötü huylu değişikliklerin oluşumunda rol oynadığını düşündüğümüz bazı etkilerin tanımlanmasıdır. Yapılacak olan kan alma işleminin size verebileceği olumsuz etkiler normalde alınan kan tahlillerinden daha fazla değildir. Ayrıca sizden bu çalışmada kullanılmak üzere; yaş ve cinsiyet bilgileriniz alınacaktır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Öğr. Üyesi Gülhan DUMAN veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular

kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5-8 ml (1 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda Kaspaz-9, BLC-2 ve Golgi P73 düzeyi ölçülecektir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0533 642 08 48 numaralı telefonda araştırmacı doktorunuz Gülhan DUMAN'a başvurabilirsiniz.

Ayrıca bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununuzun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahale sizden ücret talep edilmeden ve sosyal güvenceniz kullanılmadan sağlanacaktır.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi çalışmadan çıkarabilir. Çalışmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak çalışmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

EK 2: Kontrol Grubu Bilgilendirilmiş Olur Formu



**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KONTROL GRUBU
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU**

Sayın

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Tiroid Papiller Kanser Hastalarında Serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 Düzeyinin İncelenmesi”dir.

Bu araştırmanın amacı, Tiroid kanserinde ve sağlıklı kontroller de serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 denilen maddelerin düzeylerine bakılmasıdır. Elde edilecek verilerin hastalığın oluşumunun anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu çalışmada, size bazı kan tahlilleri yapılacaktır. Bu çalışmada yer almanız için bir defa kan örneği vermeniz yeterli olacaktır, çalışmada yer alacak sizin gibi gönüllülerin sayısı 45’dir. Çalışma 6 ay sürecektir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizden beklenen istenen tahlilleri yaptırmak, araştırmacının sorularına uygun ve doğru cevap vermek ve sonuçlarını zamanında araştırmacıya ulaştırmaktır.

Bu çalışmada sizin için herhangi bir risk, zarar ve yarar söz konusu değildir. Çalışmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda tiroid bezinde meydana gelen iyi huylu ve kötü huylu değişikliklerin oluşumunda rol oynadığını düşündüğümüz bazı etkilerin tanımlanmasına yardımcı olmuş olacaksınız. Yapılacak olan kan alma işleminin size verebileceği olumsuz etkiler normalde alınan kan tahlillerinden daha fazla değildir. Ayrıca sizden bu çalışmada kullanılmak üzere; yaş ve cinsiyet bilgileriniz alınacaktır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Öğr. Üyesi Gülhan DUMAN veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya

alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5-8 ml (1 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda Kaspaz-9, BLC-2 ve Golgi-P73 düzeyi ölçülecektir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0533 642 08 48 numaralı telefonda araştırmacı doktorunuz Gülhan DUMAN'a başvurabilirsiniz.

Ayrıca bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununuzun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahale sizden ücret talep edilmeden ve sosyal güvenceniz kullanılmadan sağlanacaktır.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tiroid Papiller Kanser Hastalarında Serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 Düzeyinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Halef Okan Doğan			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması	<input type="checkbox"/>				
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>				
Diger ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tiroid Papiller Kanser Hastalarında Serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 Düzeyinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
	Karar No:2019-10/04	Tarih: 01.10.2019				
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner (Başkan)	Gastroenteroloji	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık	Biyofizik	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Doç. Dr. Derya Özdemir Doğan	Protetik Diş Tedavisi	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Doç. Dr. Gülay Yıldırım (Başkan Yardımcısı)	Tıp Tarihi ve Etik	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Doç. Dr. Ahmet Altun (Bildirimlerden sorumlu üye)	Tıbbi Farmakoloji	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Dr. Öğret. Üyesi Ziyet Çınar	Biyostatistik	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Dr. Öğret. Üyesi Mahmut Ekici	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Dr. Öğret. Üyesi Hatice Acar Çınar	Din Psikolojisi	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tiroid Papiller Kanser Hastalarında Serum Kaspaz-9, BCL-2 ve Golgi P73 Düzeyinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Uzm. Dr. Mesut Parlak	Tıbbi Farmakoloji	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Ahmet Yılmaz	Aile Hekimi	Sivas Sağlık Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Mehmet Sevim	Hukukçu	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Mehmet Şahin	Türk Dili Edebiyatı Öğretmeni	Sivas Kongre Anadolu Lisesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. N. Özlem Saygılı Yöner
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı Şeyma Nur Yıldız
Doğum Yeri ve Tarihi Sivas-1994
Yabancı Dil İngilizce
E-posta Adresi yldzseyma30@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lisans Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya
Bölümü, 2017

Yayınlar

1. Doğan, K., Urhan, M. E., Yıldız, Ş., Derin, E., Şahin, A., & Doğan, H. O. (2019). Level of Serum Adiponectin in Sjögren's Syndrome. *Erciyes Medical Journal/Erciyes Tıp Dergisi*, 41(2).
2. Doğan, H. O., Karakaya, Ö., Doğan, K., Karakuş, S., & Yıldız, Ş. N. (2018). Urine iodine deficiency in pregnant women living in Sivas. *JCAM*
3. Demirtaş, E., Korkmaz, İ., Cebecioğlu, K., Ayan, M., Demirtaş, E., Yurtbay, S., Yıldız, Ş. ... & Szarpak, L. (2020). Serum TLR9 and NF-κB Biochemical Markers in Patients with Acute Pancreatitis on Admission. *Emergency Medicine International*, 2020.