

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TİROİD HASTALIKLARINDA (BENİGN VE MALİGN) SERUM
NİTRİK OKSİT, ENDOTELİN, VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ, TNF-Alpha, İNTERLÖKİN 8 DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ
VE VEGF GEN POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr.Özgen AVCI

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

2009

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TİROİD HASTALIKLARINDA (BENİGN VE MALİGN)SERUM
NİTRİK OKSİT,ENDOTELİN,VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ,TNF-Alpha,İNTERLÖKİN 8 DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ
VE VEGF GEN POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr.Özgen AVCI
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Uzmanlık tezi

Tez Danışmanı
Prof.Dr.Nuh Zafer CANTÜRK

Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı
Prof.dr.Mustafa DÜLGER
2009

Etik Kurul Onay Tarihi: 27.01.2008

Proje No:2008/7

İÇİNDEKİLER	Sayfa
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	1
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	3
ŞEKİLLER DİZİNİ	5
TABLolar DİZİNİ	6
TEŞEKKÜR	7
1.AMAÇ VE KAPSAM	8
2.GENEL BİLGİLER	9
2.1.Tarihçe	9
2.2.Embriyoloji	9
2.3.Anatomi	10
2.4.Tiroid fizyolojisi	13
2.5.Benign tiroid hastalıkları	14
2.5.1.Guatr tanımı ve multinodüler guatr	14
2.5.2.Toksik nodüler guatr	15
2.5.3.Graves hastalığı	16
2.5.4.Tiroiditler	17
2.6.Tiroid kanserleri	17
2.7. ET	22
2.8. NO	24
2.8.1. NO'nun etki mekanizması	26
2.8.2. NOS izoenzimleri	27
2.8.2.1.Yapısal (Constitutive) NOS (cNOS)	27
2.8.2.1.1. nNOS kaynaklı NO'nun bulunduğu yerler ve bilinen fonksiyonları	27
2.8.2.1.2. eNOS kaynaklı NO'nun sentezlendiği yerler ve bilinen fonksiyonları	27
2.8.2.2. Uyarılabilir (inducible) NOS (iNOS)	28
2.9. VEGF	29
2.9.1. DNA polimorfizmi	32
2.9.2. VEGF polimorfizmi	32
2.10. TNF- α	33

2.11. IL-8	33
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	34
3.1. Materyaller metodlar	34
3.1.1. NO _x (total nitrit + nitrat) ölçümü	34
3.1.2. Serum ET, VEGF, IL-8, TNF-alfa ölçümleri	35
3.2. Genotipleme	36
3.3. İstatiksel analiz	36
4. BULGULAR	37
4.1. Kontrol ve hasta gruplarındaki bireylerin istatiksel değerlendirme sonuçları	37
4.2. TPC' lu hastaların gruplara göre karşılaştırılması	39
4.3. VEGF gen polimorfizminin değerlendirilmesi	40
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	54
7. ÖZET	56
8. ABSTRACT	57
9. KAYNAKLAR	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NO: Nitrik oksit

NO₃: Nitrat

NO₂: Nitrit

ET :Endotelin

VEGF :Vasküler endotelyal büyüme faktörü

IL-2 :İnterlökin-2

IL-18 :İnterlökin-18

IL-8 :İnterlökin –8

EGF :Epidermal büyüme faktörü

PIGF :Plasental büyüme faktörü

FGF :Fibroblast büyüme faktörü

TGF- α :Transforme edici büyüme faktörü-alfa

TGF- β :Transforme edici büyüme faktörü-beta

HGF :Hepatosit büyüme faktörü

TNF- α :Tümör nekroz faktör-alfa

PDGF :Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

GCSF :Granülosit koloni uyarıcı faktör

ECM :Ekstrasellüler matriks

PA :Plazminojen aktivatörü

MMP :Matritiks metalloproteinaz

VEGFR :Vasküler endotelin büyüme faktörü reseptörü

DAG :Diaçilgliserol

IP3 :İnositol trifosfat

ECE :Endotelin dönüştürücü enzim

IL-1 :İnterlökin-1

ANP : Atrial natriüretik peptit

PGI₂ : Prostaglandin

IGF : İnsülin benzeri büyüme faktörü

IP-10 : Human interferon indükleyici faktör

NK : Natural killer

IL-2R : İnterlökin -2 reseptörü

GMCSF : Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör

LAK : lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hücreler

Γ-İFN : Gamma-interferon

EDRF : Endotel kaynaklı gevşetici faktör

NOS : Nitrik oksit sentetaz

NO_x : Total nitrit+nitrat

N : Azot

O : Oksijen

Mmol : Mikromol

pg :Pikogram

CEA :Karsinoembriyonik antijen

SNP :Single Nucleotide Polimorphism (tek Nükleotid polimorfizmi)

PCR : Polymerase Chain Reaction (polimeraz zincir tepkimesi)

NTNG :Non toksik nodüler guatr

T3 :Tiriiyodotironin

T4 :Tiroksin

TSH :Tiroid situmulan hormon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1- Tiroid anatomisi

12

TABLolar DİZİNİ	Sayfa
Tablo 1: Dünya sağlık örgütü guatr derecelendirmesi	14
Tablo 2: Tiroiditlerin sınıflandırılması	17
Tablo 3: Tiroid tümörlerinin WHO tarafından sınıflandırılması	18
Tablo 4: FTC' de kötü prognoza işaret eden faktörler	21
Tablo 5: Nitrojen oksitleri (NO _x)	26
Tablo 6: cNOS ile iNOS arasındaki farklılıklar	29
Tablo 7: Tiroid hasta ve kontrol gruplarının istatistiksel değerlendirme sonuçları	38
Tablo 8: Tiroid hasta ve kontrol gruplarında ;serum tiroid hormon değerlerinin istatistiksel değerlendirme sonuçları	39
Tablo 9: TPC'lı hastalardaki serum sitokin parametrelerinin okkült olan ve olmayan gruplardaki biyokimyasal istatistik sonuçları	39
Tablo10: TPC'lı hastalardaki serum sitokin parametrelerinin kapsül invazyonu olan ve olmayan gruplardaki biyokimyasal istatistik ve anlamlılık değerleri	40
Tablo 11: TPC'lı hastalarda AMES sınıflandırması ve anlamlılık testleri	40
Tablo 12: VEGF 634, 2578,936 gen değişimlerinin TMNG'li hastalardaki genotip dağılımı	42
Tablo 13: VEGF 634, 2578,936 gen değişimlerinin MNG'li hastalardaki genotip dağılımı	43
Tablo 14: VEGF 634, 2578,936 gen değişimlerinin TPC'li hastalardaki genotip dağılımı	44

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince yakın ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini bizlere aktarmak için fazlasıyla çaba ve hoşgörü sarfeden, mesleki, etik ve insani değerlerini her zaman örnek alacağım, sayın hocam Genel Cerrahi AD Başkanı Prof. Dr. Mustafa DÜLGER'e;

Asistanlık dönemim süresince eğitimim için her türlü imkanı sağlayan, sosyal ve bilimsel konularda bana yol gösteren ve yetişmemde büyük emeği olan sayın hocam Prof. Dr. Nuh Zafer CANTÜRK'e;

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel ve manevi desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübeleriyle yetişmemi sağlayan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Oğuz ÖZBAY, Prof. Dr. Nihat Zafer UTKAN, Prof. Dr. Ahmet ALPONAT, Prof. Dr. Nuri GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Anıl ÇUBUKÇU, Doç. Dr. Oğuzhan BÜYÜKGEBİZ, Doç. Dr. Erdem OKAY ve Yrd. Doç. Dr. Oktay YİRMİBEŞOĞLU'na

Uzmanlık tezimin hazırlanmasına büyük katkıları olan Dr. Emel ERGÜL, Dr. Gürler AKPINAR ve Dr. Mavi Deniz SOYUGÜZEL'e;

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma ;

Bana hayatımın her döneminde destek olan, maddi ve manevi her sıkıntıda yanımda olan, üzerimde sonsuz emekleri olan ve hayatımın bugününü onlara borçlu olduğum sevgili ailem; babam Servet AVCI, annem Şehrinaz AVCI ve kardeşim Özlem AVCI'ya

SONSUZ TEŞEKKÜRLER.

1.AMAÇ VE KAPSAM

Günümüzde tiroidin gerek benign gerekse malign hastalıkları dolayısıyla pek çok hasta hastanelere başvurmaktadır. Bu sebeplerle şifa arayan bu hastalara tanı ve tedavi girişimleri yanında biz hekimlere hastalıkların etyolojilerini araştırma görevi düşmekte. Bu açıdan sitokinler önemli araştırma konularından biridir. Sitokin gruplarında kendi aralarında bazı hastalıklarda ön plana çıkmışlardır.Yaptığımız literatür taramalarında çeşitli sitokinlerin tiroid hastalıklarıyla ilişkilerine rastladık.

Biz anabilim dalımızda tiroid hastalığı tanısı konulan 120 hasta ve 40 tane gönüllü sağlıklı kişiyi çalışmamıza dahil ettik . Tiroid hastalarının 40 tanesi multinodüler guatr (MNG), 40 tanesi toksik multinodüler guatr (TMNG) ve 40 tanesi de papiller karsinom (TPC) tanısı almış hastalardı. Ayrıca sonuçlar değerlendirilirken papiller karsinomlu hastalarda okkült olan ve olmayan, kapsül invazyonu yapan yapmayan ve risk özelliklerine göre gruplandırılarak incelendi.

Araştırmamızın temel amacı; tiroid hastalıklarında ve özellikle tiroid papiller karsinomlarında etyopatogeneizde rol aldığı düşünülen nitrik oksit, TNF-alfa, endotelin (ET-1),vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ve interlökin 8 gibi sitokin düzeylerinin ölçülmesi; bunların birbiriyle olan ilişki ve etkileşimlerinin incelenmesi idi. Ayrıca bu olgularda ve kontrol kişilerinde VEGF gen polimorfizminin durumunu değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Guatr hastalığı tiroit bezinin tanımlanmasından çok daha önce Hindulara ait gözlemlerden dolayı bilinmekte ise de (1), bezi ilk kez Galen (M.S.160-200) tarafından tarif edilmiştir. Leonardo da Vinci, çizimlerinde tiroidi larinksin iki yanında iki ayrı bez olarak göstermiştir. Tiroit bezi adı ilk kez Bartholomeus Eustachius tarafından kullanılmış; fakat çalışmaları yayınlanmadığı için, yazılı kayıtlarda tiroit adı ilk kez (1656) Thomas Wharton'un "Adenographia" adlı eserinde (1656) geçmektedir (1,2). Hipertiroidizm veya egzoftalmik guatrın tanımı ise; ilk kez Parry (1786), Greaves (1835) ve Basedow (1840) tarafından yapılmıştır (1,3).

Guatr tedavisinde, başta yosun gibi deniz ürünleri olmak üzere çok sayıda değişik maddeler kullanılmıştır. Çok yüksek ölüm oranı nedeniyle tiroit cerrahisi önceleri tehlikeli görülmüştür. İlk cerrahi girişimi 1170 yılında Roger Frugardi tanımladı (1,3). Tiroit cerrahisi ondokuzuncu yüzyılın ortalarındaki anestezi, antisepsi ve hemostaz konularındaki gelişmelere kadar %40 gibi bir mortalite ile çok tehlikeli olmaya devam etmiştir (1).

Modern anlamda tiroidektomi operasyonları ilk kez Emil Theodor Kocher ve Theodor Billroth yapmışlardır. Hastaların tiroidektomi operasyonundan sonra uzun süre yaşamaları, daha önce fark edilemeyen bazı klinik sonuçları ortaya çıkarmıştır. Total tiroidektomi yapılan hastalarda miksödem ve çocuklarda kretinizm bulguları ortaya çıkmıştır (1). George Murrey, 1891'de bir koyun tiroidinden hazırladığı ekstreyi deri altına enjekte ederek miksödemi ilk defa tedavi etmiştir (4). İlk kez Kendall, 1915 yılında tiroksini kristalize etmiş; Harrington, 1926 yılında aktif hormon olan L-triiodotironin'i tanımlamıştır (1,2).

2.2. EMBRİYOLOJİ

Brankial arkus ve faringeal poşlar gelişirken, yaklaşık 24. günde primitif farinksin tabanında orta hatta, birinci ve ikinci poşlar arasında kalan bölgede, tiroit bezi bir divertikül şeklinde başlar ve ventrale doğru büyür. Divertikülün ağzı dil köküne açıktır ve foramen caecum adını alır. Embriyolojik olarak primitif mide

barsak sisteminin bir uzantısıdır. Divertikülün distal lümeni hücrelerin hızla çoğalmasıyla kapanırken hem ventrale hem de heriki laterale doğru büyümeye devam ederek iki loblu tiroit haline döner ve boyun orta hattında hyoid kemik ve larinksi oluşturacak yapıların önünden aşağıya doğru inmeye başlar (5).

Altıncı haftadan itibaren; üçüncü faringeal poşun dorsal bölgeleri alt paratiroidlere, ventral bölgeleri ise primitif timusa döner. Dördüncü faringeal poş da dorsal ve ventral olarak iki kısma ayrılır. Dorsal kısım üst paratiroidleri, ventral kısımlar nöral kristadan gelen hücrelerle beraber ultimobrankial cismi oluşturur.(5-7).

Tiroit kaudale doğru inerken, divertikülün açık kalan kısmı uzayarak tiroglossal kanal adını alır. Kanal, çoğunlukla dejenerasyona uğrayarak kaybolur ve yedinci hafta sonunda tiroit son şeklini alır. Tiroit gelişimindeki kritik devre yedinci hafta sonuna kadar olan devre olup, gelişim anomalilerinin çoğu bu sıralarda ortaya çıkar (5-9).

Gebeliğin onuncu haftasının sonunda tiroitte foliküller oluşur, onikinci haftanın sonunda da tiroit iyot tutmaya ve kolloid üretmeye başlar. Onüçüncü haftadan itibaren hipofiz ve serumda tiroit stimulan hormon (TSH) belirlenebilir. Onsekizinci haftadan itibaren TSH ve tiroksin (T4) paralel olarak artmaya başlar ve tiroitteki iyot konsantrasyonu yüksek düzeylere ulaşır. TSH, triiodotironin (T3) ve T4 doğumdan sonra, birkaç hafta içinde erişkindeki normal düzeye ulaşır (5,7,8).

2.3.ANATOMİ

Erişkin tiroid bezi ortalama 15-20 gr ağırlığındadır.Sağ ve sol iki lob ve bunları birleştiren isthmustan oluşmaktadır.Ayrıca %50-80 sıklıkla bu yapılara ilave olarak istmustan yukarıya doğru uzanan ve tiroglossal kanalın kalıntısı olan piramidal lob bulunur.(10)

Her bir lobun boyu 4-5 cm ,eni 2-3 cm ,kalınlığı 2-4 cm olup tiroid kıkırdağın ortası ile 6.trakeal halka arasında uzanır. Lateralinde karotis kılıfı ve sternokleidomastoid kası yer alır.Tiroid bezi yüzeyelden derine doğru ;deri, süperfisyel fasya, derin boyun fasyasının yüzeyel tabakası ve bu tabakanın örttüğü sternokleidomastoid, omohyoid, sternohyoid ve sternotiroid kasları (strap kasları)

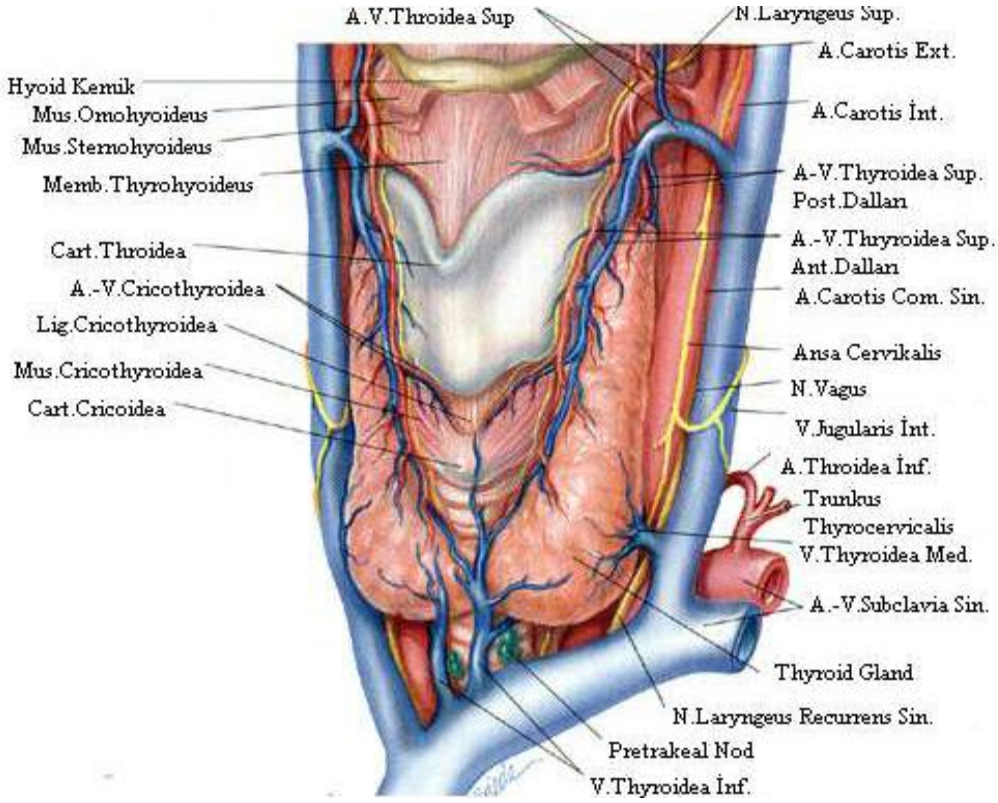
tarafından örtülür. Arka medialde özofagus ve trakea tarafından sınırlanmıştır (10,11). Tiroid normalde komşu organlardan rahatlıkla ayrılabilir durumdadır. Posterior süspansuar ligament (Berry ligamenti) aracılığı ile krikoid kıkırdak ve üst trakeal halkalara sıkıca yapışıktır. Lateral lobun posterosüperiorunda süperior, posteroinferiorunda inferior paratiroidler yerleşmiştir.

Bağ dokusundan oluşan bir kapsül, bezi sarar ve organın stromasını yapan septalar oluşturur. Buna tiroidin gerçek kapsülü denir. Gerçek kapsülün dışında pretrakeal fasyanın devamı olan ikinci bir kapsül vardır, ki buna yalancı veya cerrahi kapsül adı verilir. Tiroidektomide diseksiyon bu iki kapsül arasından yapılır.

Bezin kanlanması süperior ve inferior tiroid arterleri ile olur. Süperior tiroidal arter, bifurkasyonun hemen üzerinden eksternal karotis arterden çıkar ve aşağı doğru ilerleyerek tiroidin üst polüne girer. Bu bölgede süperior laringeal sinir artere paralel seyreder.

İnferior tiroidal arter genellikle truncus tirocervicalis' ten, nadiren subklavian arterden köken alır. Karotis arterinin ve juguler venin arkasından geçerek prevertebral fasyayı deler ve iki dala ayrılarak posterolateralden tiroide girer. N. Laryngeus Recurrens bu iki dalı ön, arka ve arasından çaprazlar. Nadir olarak Arcus aortadan çıkan ve inferiordan tiroide giren beşinci bir arter (thyroidea ima) bulunur.

Tiroidin venleri tiroid yüzeyinde bir pleksus oluşturarak üst, orta ve alt tiroidal venlere dökülür. Üst ve orta venler internal juguler vene, alt venler ise pleksus oluşturarak brakiosefalik vene drene olur (12).



Şekil 1.Tiroid anatomisi

Lenfatik drenaj subkapsüler bir pleksus aracılığı ile parakapsüler bölge, pretrakeal alan, internal juguler ve rekürren sinir komşuluğundaki lenf bezlerine olur. İstmusun üzerinde ve trakeanın önünde palpe edilen lenf bezine “Delphian Nodu” denir ve genellikle malignite veya tiroiditle birlikte görülür (10).

İnnervasyonunu üst ve orta servikal sempatik gangliyonlardan gelen lifler ve vagustan kaynaklanarak laringeal sinirlerin dalları ile gelen parasempatik lifler sağlar.

Rekürren laringeal sinirler larinksin intrensek kaslarını innerve ederler. Tiroidektomi esnasında zedelendiğinde aynı tarafta vokal kord paralizisi meydana gelmektedir. Sağ rekürren sinir sağ subklavian arterin önünde vagus sinirinden çıkar ve arterin altından dönerek arkasından yukarıya yönelir. Daha sonra trakeösefagial olukta seyrederek,tiroid sağ lobunun arkasından geçer ve krikotiroid kasının arkasından larinkse girer. Sol rekürren laringeal sinir arcus aorta düzeyinde vagustan ayrılır, aortun posterioruna dönerek trakeösefagial oluğa yönelir ve sağdaki sinire benzer

şekilde tiroide girer. Aslında insanların sadece %64'ünde sağ, %77'sinde sol rekürren sinir trakeösefajial olukta seyreder (12).

Süperior laringeal sinir, gangliyon nodosumun hemen altından nervus vagustan çıkar. Öne ve aşağı doğru ilerleyerek larinkse yaklaşınca iç (internal) ve dış (eksternal) olmak üzere iki dala ayrılır. İnternal dal epiglot ve larinks mukozasında dağılan sensitif dallar verir. Eksternal dal ise krikotiroid ve farinksin konstrüktör kaslarına motor dallar verir (13).

2.4.TİROİD FİZYOLOJİSİ

Tiroidin folliküler hücrelerinden tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) hormonları salgılanır. Ayrıca parafolliküler hücrelerden de kalsiyumun metabolizmasında etkili olan kalsitonin salgılanmaktadır. T3 ve T4 genel anlamda bazal metabolizmayı düzenleyen hormonlardır. Hücre içinde bulunan nükleus reseptörlerine bağlanarak protein yapımını regüle ederler. Ayrıca mitokondrilerde oksidasyon olaylarını hızlandırır, membran yapısında yer alan enzimlerin aktivitesini kontrol etmek gibi diğer fonksiyonları da vardır. Bu bağlamda tiroid hormonları yaşam için mutlak gereklidirler.(14)

Tiroidden T3 ve T4 sekresyonu anterior hipofizden salgılanan tiroid stimulan hormonun (TSH) kontrolü altındadır. TSH uyarısı T3 ve T4 salınımını uyarırken, kandaki T3 ve T4 artışı hipofizden TSH salınımını suprese eder (negatif feed-back) ve salınımı ise hipotalamustan salgılanan TRH'nın (tirotropin releasing hormon, tirotrop serbestleştirici hormon) kontrolü altındadır (15,16).

Tiroid hormonlarının oluşumu eksojen iyot alımına bağımlıdır. Follikül hücresinde tirozine bir iyot bağlanması ile monoiyodotirozin (MIT), iki iyot bağlanması ile diiyodotirozin (DIT) oluşur. İki DIT eşlendiğinde T4, bir MIT ile bir DIT eşlendiğinde T3 meydana gelir. Tiroid hormonları tiroglobuline (Tg) bağlı olarak follikül içindeki kolloidde depolanır. T3 ve T4 tiroglobulinden ayrılarak serbest hormon şeklinde kana salgılanırlar ve tamamına yakını plazma proteinlerine bağlanırlar. Plazmadaki tiroid hormonlarının %0,02'si serbest haldedir ve bunlar fizyolojik olarak aktif fraksiyonu oluşturur.

Tiroid bezinden salgılanan hormonun %90' ı T4, %10' u ise T3'tür. Bununla birlikte tiroksinin önemli bir bölümü (%75-85) kanda triiyodotironine çevrilir (T4'ün T3'e deiyodinasyonu). Bu çevrilme çok önemlidir çünkü T3 plazmada 10-20 kat daha az miktarda bulunsa da T4'ten dört kat daha aktiftir. Tiroid hormonları hedef hücreye pasif diffüzyonla veya ATP bağımlı aktif transportla geçer. Daha sonra hücre çekirdeğindeki tiroid hormon reseptörlerine (TR) bağlanarak etkilerini başlatırlar (15,16).

2.5. BENİGN TİROİT HASTALIKLARI

2.5.1. Guatr Tanımı ve Multinodüler Guatr

Tiroidin herhangi bir nedenle büyümesine guatr denir. Bezin büyüklüğü, objektif bir şekilde hacim ya da boyut olarak ultrasonografi ile belirlenebilir. Büyümesi durumunda kolayca palpe edilen ve çoğu zaman gözle görülen bu bezin büyüklüğü; Dünya Sağlık Örgütü'nün derecelendirmesine göre subjektif olarak saptanır (1,17,18) (Tablo 1.)

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü Guatr derecelendirmesi (18)

0	Palpasyon ve gözlemlenilen guatr yok
1	Palpasyonla farkedilebilen guatr
1A	Guatr yalnız palpasyonla farkedilebiliyor
1B	Guatr palpasyonla var, boyun ekstansiyonda gözle görülebiliyor
2	Boyun normal pozisyonda iken görülebiliyor
3	Uzaktan görülen belirgin guatr

Guatrlar endemik ya da nonendemik olarak sınıflandırılırlar. İyot eksikliği olan bölgelerde, nüfusun %10' undan fazlasında guatr ortaya çıkıyorsa; bu guatrlar endemik guatr olarak adlandırılır. İyot kaynakları yeterli olan ülkelerde ise, insanlara

yiyecek ve ilaçlarla fazla miktarda iyot verildiğinde, tiroit hormon sentezi azalır ve guatr gelişir; bu guatrlar da nonendemik guatr olarak adlandırılır (1,17,18). Multinodüler guatr (MNG) ise; tiroidin birçok alanında olan nodüllerle büyümesine verilen bir isimdir. Tiroit nodülleri; toksik ya da nontoksik, diffüz ya da nodüler ve soliter ya da multipl şeklinde sınıflandırılabilir (19).

Diffüz ve nodüler guatr patogeneğinde; yeni folikül oluşumu için foliküler epitel hücrelerinin proliferasyonu esastır. Neoplazik olmayan tiroit büyümesinde; tiroit uyarıcı hormonun (TSH) etkisi ve tiroidi büyüten immunglobülinler üzerinde durulmaktadır. Deneysel çalışmalarda; nodüler guatrlarda, epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü ve transforming büyüme faktörü β 'nın arttığı gösterilmiştir (20).

Soliter nodüler guatrlarda, ince iğne aspirasyon biyopsisi ile değerlendirilen 1.5 cm'nin altındaki nodüllerde hem klinik hem de sitopatolojik malignite kriterleri yoksa; medikal tedavi ile izlem yapılabilir. Diffüz ve ötiroid guatrlarda, supresyon tedavisinin yararı olmakla birlikte; özellikle soliter nodüllerde bu tedavinin yararı sınırlıdır (34). Supresyon uygulanan hastalar yakından izlenmeli, her yıl ultrasonografi ile nodülün büyüüp büyümediği belirlenmeli ve sitopatolojik olarak değerlendirilmelidir. Tedavi altında iken büyüyen nodülde; tek tedavi cerrahidir (1,21).

Multinodüler guatrlarda, kötü kozmetik görünüm, hava yolu tıkanıklığı, malignite şüphesi varsa cerrahi tedavi önerilmektedir. Baş ve boyuna radyasyon almış veya ailede tiroit kanseri öyküsü olan multinodüler guatrlı hastalarda, kanser riski %40'tır. Ayrıca; bu hastaların yarısında kanser, dominant nodül dışındaki bir bölgede yerleşmiştir. Bu hastalarda da cerrahi tedavi endikedir (18).

2.5.2. Toksik Nodüler Guatr

Toksik nodüler guatr, diğer adıyla 'Plummer' hastalığı; bir veya daha fazla tiroit nodülünün TSH'den bağımsız olarak fazla miktarda iyot tutması, tiroit hormonu sentezlemesi ve salgılamasıdır. Toksik nodüler guatr olguları daha çok endemik guatr bölgelerinde görülür . Toksik nodüler guatrda; hipertiroidizm genellikle Graves'ten daha hafiftir ve oftalmopati, pretibial miksödem, vitilligo veya tiroit arkropatisi gibi tiroit dışı bulgular yoktur (1,17,18,19).

Antitiroit ilaçlar ve beta blokörler ile tedavi; semptomları ortadan kaldırır. Ancak Graves hastalığındaki kadar etkili değildir. İyot tutulumu az olduğundan; radyoaktif iyot tedavisi, Graves'teki kadar etkili değildir ve hastaların daha yüksek dozda iyot alması gerekir. Başarı oranı düşük olduğundan; iyot tedavisi, sadece cerrahi yapılamayacak hasta grubunda uygulanır.

Tercih edilen tedavi şekli; tiroidektomidir. Soliter nodüllerde, nodülektomi veya lobektomi yapılabilir. Toksik multinodüler guatrda; çoğu hastada bir tarafa lobektomi karşı tarafa subtotal lobektomi önerilir. Bu yöntem; nüks olan olgularda tekrar bilateral girişim yapılmasını engeller (1,17,22),.

2.5.3. Graves Hastalığı

Graves hastalığı ya da diffüz toksik guatr, en sık rastlanan tirotoksikoz tipidir. Graves hastalığı kadınlarda 6 kat fazla görülür. Her yaşta görülebilse de; genç erişkinlerde daha sık ortaya çıkar (17,23). Graves hastalığı, tiroit folikül hücrelerindeki TSH reseptörlerine karşı, tiroidi uyaran antikor ve immunglobülinlerin olduğu bir otoimmün hastalıktır. Antikor bağlanması, reseptörleri uyarır ve klinik tabloyu ortaya çıkaran tiroit hormon salınımı gerçekleşir. Geçmişte sorumlu antikorun; 1956'da Adams ve Purves'in bulunduğu uzun etkili tiroit uyaran antikor olduğu (LATS) sanılmıştır. Ancak bugün; geniş bir grup antikorun bu hastalığı ortaya çıkardığı saptanmıştır. Günümüzde; bu antikorların tümüne birden tiroit reseptör antikorları (TRAb) denilmektedir (1,17). Graves hastalığının klasik triadı guatr, tirotoksikoz ve oftalmopatidir. Bu bulgular, tek başına veya birlikte olabilir. Guatr, genelde diffüz, büyük ve düzgündür. Egzoftalmi, tirotoksikozla birlikte ya da tirotoksikoz olmaksızın tek başına (ötiroit veya oftalmik Graves hastalığı) görülebilir (1).

Graves hastalığında üç tedavi vardır. Antitiroit ilaçlarla medikal tedavi, radyoaktif İ-131 tedavisi ve subtotal ya da total tiroidektomi. Tedavi seçimi hastanın yaşına, hastalığın şiddetine, egzoftalmi varlığına, organ büyüklüğüne eşlik eden patolojilere ve hastanın seçimi veya gebelik gibi faktörlere bağlıdır (1,17,23).

2.5.4. Tiroiditler

Tiroiditler, akut bakteriyel enfeksiyonlardan, kronik otoimmün hastalıklara kadar uzanan geniş bir yelpazeyi kapsar. Tiroiditler hastalığın başlangıç hızına, semptom ve bulguların şiddeti ve süresine göre akut, subakut ve kronik tiroiditler olarak 3 ana grup altında sınıflandırılırlar (1,17,24) (Tablo 2).

Tablo 2. Tiroiditlerin sınıflandırılması

AKUT TİROİDİTLER	Bakteriyel tiroidit
SUBAKUT TİROİDİTLER	Subakut granülomatöz tiroidit (De Quervain tiroiditi)
	Subakut lenfositik tiroidit (Sessiz tiroidit)
	Kronik lenfositik tiroidit (Hashimoto tiroiditi)
KRONİK TİROİDİTLER	İnvaziv fibröz tiroidit (Riedel struma)

Tedavi

Tiroiditlerde tedavi medikaldir. Hashimoto tiroiditinde, bası semptomu ya da malignite şüphesi varsa cerrahi tedavi endikedir. Riedel tiroiditinde bası semptomlarını ortadan kaldırmak için istmektomi yapılabilir (1,24).

2.6.TİROİD KANSERLERİ

Tiroid kanserleri, over kanserinden sonra en sık görülen endokrin sistemkanseridir. Tiroid kanseri prevalansı ile ilgili klasik bilgi her yıl 100000 kişide 4 yeni klinik tiroid kanserinin çıktığı biçimindedir. Tiroid kanserleri iki ana epitelyal hücreden kaynaklanır. Papiller, folliküler ve Hürthle hücreli kanserler primitif ön barsaktan kaynaklı hücrelerden gelişirler. Medüller tiroid kanseri nöral krestten kaynaklanan C hücrelerinden gelişir. Folliküler hücre kaynaklı tiroid kanserleri diferansiye (DTC) ve anaplastik tiroid kanseri (ATC) gibi iki ana gruba ayrılır.

Diferansiye kanserler tüm tiroid kanserlerinin %80-90'nını oluşturur ve alt grupları ile birlikte papiller ve folliküler kanserlerden oluşur (25,26).

Tablo-3. TİROİD TÜMÖRLERİNİN WHO TARAFINDAN BELİRLENEN SINIFLAMASI

TİROİD TÜMÖRLERİNİN WHO TARAFINDAN BELİRLENEN SINIFLAMASI	
EPİTELYAL TÜMÖRLER Benign -Folliküler adenom -Papiller adenom Malign -Folliküler karsinom -Papiller karsinom -Skvamöz hücreli karsinom -İndiferansiye(anaplastik)karsinom -Medüller karsinom SEKONDER TÜMÖRLER SINIFLANDIRILAMAYANLAR TÜMÖR BENZERİ LEZYONLAR	NON-EPİTELYAL TÜMÖRLER Benign Malign -Fibrosarkoma -Diğerleri NADİR GÖRÜLENLER Karsinosarkom Malign hemangioma Lenfoma Teratomlar

Etyoloji

- Radyasyon
- Diyette iyot yetersizliği
- Coğrafi bölge (İzlanda,Hawaii,volkanik bölgeler)
- Guatrojenler (kimyasal ve diyet)
- Daha önce varolan tiroid hastalıkları (kolloidal nodüler guatr,Graves hastalığı,Hashimoto tiroiditi)
- Daha önce geçirilen tiroid ameliyatları (parsiyel tiroidektomi)
- İlaçlar(fenobarbital,difenoksilat,griseofulvin,bisacodil,spironolakton,oral kontraseptifler ,prolaktin inhibitörleri,östrojen preparatları)
- Yaş (genç orta yaşta insidans yüksek,ama prognoz iyidir)
- Cinsiyet (kadınlarda insidans yüksek,ama prognoz iyidir)
- İrk (Yahudiler) -Aile öyküsü -Paratiroid Adenomu
- Obesite -Alkolizm -Allerji

-Multiparite -Meme kanseri -Tonsillektomi
-Gardner sendromu,Cowden hastalığı (27)

Yaş,cinsiyet,histolojik tip ve özellikler (kapsüler ve vasküler tutulum, atipi gibi), tümör yayılım özellikleri (tümör boyutu, çevreye yayılım, uzak metastaz gibi), tedaviye yanıt, moleküler genetik faktörler (reseptörler, onkogenler, HLA gibi), hormonlar (androjen, östrojen) tiroid kanseri prognozunda önemli yeri olan faktörlerdir (27).

Evreleme

Tümör davranışını tahmin edebilmek amacıyla diferansiye tiroid kanserleri için bir çok sınıflama yapılmıştır.

●European Organization for Research on Treatment of Cancer (**EORTC**), 1979 yılında multivaryasyon analizine dayanan prognostik indeks tanımlanmıştır. Çok farklı biyolojik davranışları olan diferansiye, medüller ve anaplastik kanserler beraber değerlendirildiği için bu sistem yaygın biçimde kullanılmamıştır. Bu sınıflamanın değişkenleri; yaş, cinsiyet, histolojik tip, anaplastik karsinom varlığı,tümör stage (Yük) ve metastatik odaklardır.

●1987'de Mayo Kliniği'nden Hay ve ark. tarafından önerilen **AGES** sisteminde; Age (yaş), Grade, Extension (yaygınlık), Size (tümör büyüklüğü)

●1988'de Lahey kliniğinde Cady ve Rossi'nin tanımladığı **AMES** sisteminde ; Age, Metastaz, Extension , Size

●Pasiaka ve ark.tek başına anlamlı olduğunu gösterdikleri nükleer DNA içeriğinin AMES sistemine eklenmesi ile **DAMES** biçiminde uygulanmasını önermişlerdir.

●**TNM** sınıflamasında; tümör boyutu ve çevreye invazyonu, lenf bezi tutulumu, metastaz

●AGES sistemine alternatif olarak **MACIS** sınıflamasında ise Metastaz, Age, Rezeksiyonun yeterliliği, İnvazyon, Size

TNM skorlama sistemi kurumlar arası tiroid kanser olgularını klinik ve patolojik açıdan karşılaştırmak için uygulanan bir yöntemdir.Diferansiye tiroid kanserli tüm hastalar AMES, AGES, MACIS sınıflamalarına göre ise nüks riskleri hesaplanmaktadır. Preoperatif olarak değerlendirildikten sonra yine aynı kriterler göz

önünde bulundurularak postoperatif olarak bu hastalar tekrar değerlendirilmelidir (28,29). Tüm çalışmalarda en önemli üç değişken hastanın yaşı, lokal invazyon ve uzak metastaz olup olmadığıdır (30).

Tiroid Papiller Karsinomu: Papiller karsinom (PTC) tiroid maligniteleri içinde en çok görülenidir. Tüm tiroid kanserlerinin %80'nini oluşturur (30). Tiroid papiller karsinom etyolojisinde external radyasyonun önemli bir rolü vardır. Radyasyonla karşılaşmayı takiben beşinci yıldan itibaren en çok da 10-25 yıl sonra görülmektedir. Bu insanların yaklaşık olarak %10'nunda tiroid kanseri gelişmektedir (30, 31, 32).

Papiller tiroid kanserleri makroskopik görünümüne göre okült, intratiroidal (enkapsüle) ve ekstratiroidal (massif) olarak ayrılır. WHO tarafından yapılan tiroid tümörleri sınıflandırmasında 'okült' yerine 'mikropapiller' kanser terimi önerilmiş ve bunun 1 cm'nin altındaki tümörleri ifade ettiği bildirilmiştir. Papiller tiroid kanserlerinin %70'ini oluşturan ve klinik önemi olan intratiroidal kanserlerin çapı çoğunlukla 1,5 cm veya daha fazladır. Kapsül içermedikleri zaman sınırları normal tiroid dokusundan zor ayrılır. Massif ya da ekstratiroidal papiller kanserler, çoğunlukla 5 cm'nin üzerinde çapı olan ve tiroid kapsülünü geçerek servikal yumuşak dokulara infiltre olmuş tümörlerdir (26, 30, 33, 34).

Foliküler Tiroid Karsinomu: Foliküler tiroid karsinomu (FTC), PTC'den sonra ikinci sıklıkta ve %5-15 oranında görülen diferansiye tiroid karsinomudur. FTC iyot açlığı olan bölgelerde daha sık görülür (26, 35). Sadece sitolojik kriterlere dayanarak foliküler adenom, atipik adenom ve FTC ayırımı yapmak mümkün değildir. İİAB ile foliküler neoplazi, foliküler adenom gibi tanılar konduğunda cerrahi tedavi gerekliliği ortaya çıkar. Nodülün histopatolojik incelemesinde kapsül ve damar invazyonu yoksa lezyon, foliküler adenom olarak kabul edilir. FTC'de prognoz PTC'ye göre daha kötüdür. FTC'de belirgin istatistiksel anlamı olan kötü prognostik faktörler tanı sırasında uzak organ metastazı, yaşın 50'den fazla olması ve belirgin damar invazyonudur. Bu faktörlerden en çok birini taşıyan tümörler düşük riskli tümörler olarak kabul edilir. Bu tümörlerde 5 yıllık mortalite %1'dir. Bu faktörlerden 2 ve daha çoğunu içeren tümörlerde (yüksek riskli tümörler) 5 yıllık mortalite % 53'tür. AMES sistemi gözönüne alındığında FTC'li hastaların %80'i düşük risk grubundadır.

Tablo 4. FTC’de KÖTÜ PROGNOZA İŞARET EDEN FAKTÖRLER

İleri yaş(>50)	Multifokalite
Cinsiyet	Büyük tümör(>5 cm)
Belirgin damar invazyonu	Anöploidi
Lenf düğümü metastazı	Tiroid kapsülü infiltrasyonu
Yüksek tümör grade’i	Çevre dokuda infiltrasyon
Uzak organ metastazı(kemik,akciğer,beyin)	

Hürthle Hücreli Tiroid Karsinomu: Hürthle hücreli karsinom (HCC) bütün iyi diferansiye tiroid karsinomlarının %0,4-%10’unu oluşturur. Medüller tiroid kanseri hariç diğer iyi diferansiye tiroid kanserlerine göre daha agresifdir. Literatürde, Hürthle hücreli neoplazmaları tanımlamak için çeşitli terimler kullanılmıştır. Bunlar Askanazy, langhans veya oksifilik tümör, onkositoma, mitokondrioma ve folliküler tiroid karsinomunun oksifil varyantıdır.

HCC için belirgin prognostik faktörler henüz tanımlanmamıştır. Anöploid HCC’ ler daha agresif seyredir. 60 yaş ve üstündeki kadınlarda, 5 cm’den büyük çaplı tümör varlığında prognozun daha kötü olduğu belirtilmektedir (26).

Medüller Tiroid Karsinomu: Medüller tiroid karsinomu (MTC), parafoliküler C hücrelerinin malign lezyonu olup tüm tiroid malignitelerinin yaklaşık %10’ unu oluşturur. Hereditör ve sporadik olmak üzere iki klinik tablo oluşturur. Hereditör formu, multipl endokrin neoplazi tip iki sendromunun bir parçasıdır (MEN-2) veya non-MEN formu ailevi olabilir (26).

MTC’de kalsitonin düzeylerinin ölçülmesinin iki ana nedeni vardır. Birincisi, serum kalsitonin düzeyi tanıyı kesinleştirir. Palpabl tiroid tümörü varlığında, bazal kalsitonin konsantrasyonu çoğunlukla 1000 pg/L’den fazladır. Tümör büyüklüğü ve bazal kalsitonin konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır. İkincisi, cerrahi öncesi bazal kalsitonin düzeyini saptamak ve pentagastrin uyarı testini yapmak, postoperatif dönemde cerrahinin yeterliliğini, lokal rekürrensi veya metastazları değerlendirmek açısından önemlidir.

Anaplastik Tiroid Karsinomu: Anaplastik tiroid karsinomu hızlı büyüme göstererek çevre dokulara kısa zamanda invazyon yapan ve seyrek rastlanan

indiferansiye tiroid tümörüdür. Tiroid kanserlerinin en agresif tipidir. Primer tiroid kanserleri arasında %5-14 orana sahiptir. Anaplastik kanserler ya doğrudan birincil olarak veya iyi diferansiye tiroid karsinomunun anaplastik kansere transformasyonu sonucu ortaya çıkar. Genelde anaplastik karsinomda 2 yıllık yaşam süresi %0-17,5 yıllık yaşam süresi %10 civarında bildirilmektedir.

2.7- ET

İlk olarak 1988'de Nature dergisinde Yanagisawa ve ekibi tarafından ayrıntılı bir şekilde tanımlanan endotelinler bilim dünyasında büyük ilgi uyandırmıştır (36). Şu ana kadar bilinen en güçlü vazokonstriktör peptid olan endotelin-1 (ET-1) ilk kez kültürdeki domuz aortası endotel hücrelerinden elde edilmiştir (36, 37). Ana endotelin kabul edilen ET-1 ile aynı peptid grubunda yer alan diğer endotelinler ise endotelin-2 (ET-2), endotelin-3 (ET-3) ve fare barsağından izole edilen endotelin- β ya da diğer adıyla vazoaaktif intestinal konstriktördür.

Tüm endotelinlerin genleri farklı doku ekspresyonuna sahiptir: ET-1 primer olarak endotel hücrelerinden, ET-2 böbrek ve intestinal epitelden ve ET-3 beyinden eksprese edilir. Fakat endotelinler ve reseptörleri, monositler ve makrofajlar gibi hareketli inflamatuvar hücrelerden de salgılanır. Bu hücrelerde nispeten daha düşük seviyelerde endotelin sentezi olur, fakat bu hücrelerdeki ET genleri hipoksi veya sitokinlerin salınımı gibi inflamatuvar stimuluslarda kolayca indüklenebilir.

Endotel hücresinde endotelinlere ait sekretuar granüllerin bulunmaması, bunların hücre içinde depo edilmediğini çeşitli kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt olarak hızla sentezlenip sekrete edildiklerini göstermektedir. Bu uyarılar arasında trombin, TGF- β , interlökin-1 (IL-1) ve TNF gibi sitokinler, epinefrin, norepinefrin, anjiotensin II, vazopressin, forbol ester, kalsiyum ve kalsiyum iyonoforları (A 23187 ve iyonomisin), endotoksin, insulin ve hipoksi yer alır.

ET-1 sentezini inhibe eden maddeler arasında ise atrial natriüretik peptid (ANP), prostasiklin (PGI₂) ve NO* gibi vazodilatatörler, ET-3 ve vasküler düz kas hücresi kaynaklı inhibitör faktörler sayılabilir.

Normalde dolaşımdaki ET düzeyi çok düşük olup 0,3-3 pg/mL olarak verilmektedir. Plazma ET düzeylerinin aşırı artışını engelleyen ajanlar arasında en önemlileri olan ANP ve NO*, etkilerini cGMP üzerinden gösterirler. Bazı hallerde ise

bizzat ET, bir negatif feedback mekanizması ile endotel hücresinden NO[•] ve/veya prostasiklin salınımını uyarır, bu maddeler de ET sentezini inhibe ederler.

Dolaşımdaki ET'lerin yarı ömrü 2 dakikadan kısadır. ET'lerin yıkıma uğradığı organlar akciğer, böbrek ve karaciğerdir. Yıkımda etkili enzim nötral endopeptidaz olup bu organların dışında vasküler düz kas hücresinde de bulunur.

ET reseptörleri tüm vücutta yaygın olarak yer alırlar. ET izopeptidlerine olan affinitelerine göre 3 ana gruba ayrılırlar:

1- ET_A reseptörü (ET-RA): ET-1'e yüksek affinite gösterirler; affinite sıralaması: ET-1 > ET-2 > ET-3

2-ET_B reseptörü (ET-RB): Non-selektif, affinite sıralaması: ET-1 = ET-2 = ET-3

3- ET_C reseptörü (ET-RC): ET-3'e yüksek affinite gösterir.

ET_A reseptörü, vasküler düz kas hücresi tarafından sentezlenir ve ET-1'in kasıcı etkisinden sorumludur. Bu tip reseptörler vasküler düz kas hücresi, böbrek ve kalpte bulunur.

ET_B reseptörü ise tüm ET'lerle aynı oranda bağlanır, endotel hücresi, vasküler düz kas hücresi, karaciğer, böbrek, uterus ve santral sinir sisteminde yer alır. ET'lerin endotel hücresi yüzeyindeki ET_B reseptörü ile etkileşmesi sonucu endotel hücresinden açığa çıkan NO[•] ve PGI₂ vazodilatasyona yol açar. Vasküler düz kas hücresinde ise, hem A hem de B tipi reseptörler kontraksiyon ve vasküler düz kas hücresi proliferasyonuna yol açarlar.

ET_C reseptörü ise en son keşfedilen reseptör tipi olup endotel hücresinde lokalizedir ancak memeli hücresinde varlığı gösterilememiştir.

ET-1; vasküler düz kas hücresi, aorta pulmoner arter, fibroblastlar, beyin kapiller endoteli, osteoblastlar, melanositler ve böbrek glomerul hücresi gibi pek çok hücrede DNA sentezini G-proteinler aracılığıyla uyarır, 1 nM konsantrasyonda ET-1, hücre kültüründe vasküler düz kas hücresi sayısını 2 kat artırır, otokrin büyüme faktörü gibi etki eder. DNA sentezi üzerine etki, ET-1 ve ET-2'de birbirine eşit, ET-3'de ise daha zayıftır. Endotelinler, büyüme faktörleri ve diğer damar kasıcı faktörlerle etkileşim içindedirler. Bu faktörler arasında PDGF, EGF, TGF- α ve β , bFGF ve IGF (insülin benzeri büyüme faktörü) gibi damar düz kasının proliferasyon ve intimaya geçişini uyarıcı maddeler sayılabilir. ET ve diğer vazoaktif peptidler ile büyüme faktörleri arasında varolan sinerjizmin spesifik mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. Bilinen bir gerçek ise ET'lerin kendi mitotik etkileri düşük

olduğu halde bunların diğer büyüme faktörlerinin etkileri üzerinde düzenleyici bir rol oynadıklarıdır (38). Endotelinler apoptozisi inhibe ederler, anjiogenezisi de uyarırlar (39). Ancak tümöre spesifik olarak, endotelinlerin kanserlere etkisi açık değildir (40).

2.8- NO•

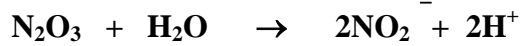
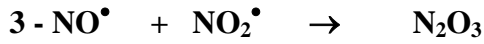
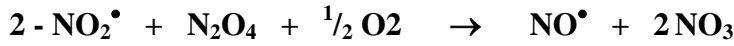
1980 yılında Furchgott ve Zawadski asetil kolin uyarısıyla endotel hücrelerince yapılan damar düz kasını gevşetici bir madde bildirdiler. Bu maddeye endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı verildi. 1987 yılında Palmer ve arkadaşları EDRF'nin bilinen biyolojik etkilerinde nitrik oksit (NO•) adlı bir gazın sorumlu olduğunu buldular (41, 42).

NO•; suda ve yağda çözünebilir, kolaylıkla nitrit (NO₂⁻) ve nitrate (NO₃⁻) okside olabilen renksiz, stabil bir gazdır. Nitrojenin son yörüngesindeki beş ve oksijenin son yörüngesindeki altı elektronun kovalent olarak katkısıyla oluşan yüksüz ve radikal özellikteki NO• molekülü üzerinde ortaklaşmamış bir adet elektron taşır. Bu elektron rezonans halindedir ve hem N (azot) hem de O (oksijen) atomuna aittir, bu özellik NO• molekülünün paramagnetik özellikli, yüksek reaktiviteye sahip bir radikal olmasına neden olur. NO•, üzerinde yük taşıması nedeniyle, eğer hemen oksidoredüksiyona uğramazsa, hücreden hücreye hiçbir engelle karşılaşmadan kolaylıkla geçebilmektedir. Belli konsantrasyonları aştığında son derece toksik ve renksiz bir gazdır. Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO•, bilinen en düşük molekül ağırlıklı biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir.

İnsan organizmasının normal fizyolojisinde NO• molekülü, moleküler oksijen ve 4 tane kofaktör varlığında, L-argininin L-sitrüline dönüştürülmesi esnasında ürün olarak oluşur. Bu reaksiyon sitokrom p450 redüktaz homologu olan nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi ile katalizlenir ve ko-substrat olarak nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve oksijen kullanılır.

Kofaktörler ise; Hem, flavin amid adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve BH₄ (tetrahidrobiyopterin)'tür.

Atmosferdeki bakteriler, asit yağmurları, jetler, baca gazları, egzoz gazları ve tüten sigaralar, NO• ve diğer reaktif oksijen türlerini üreterek hava kirliliğine neden olabilirler. NO•'nun yukarıdaki açık formülünde görülen çiftlenmemiş elektronu, azot ve oksijen atomları üzerinde yer değiştirerek "**rezonans stabilitesi**" sağlar. NO• elektriksel olarak yüksüz olduğundan, reseptöre bağımlı olmayan yollarla kolayca membranlardan diffüze olabilir. Tüm bu özellikleri NO'ya ideal bir haberci molekül özelliği kazandırmaktadır. NO•, su ve oksijen varlığında, 3 – 20 saniye gibi çok kısa bir yarı ömre sahiptir; kolayca oksitlenir. Böyle bir ortamda NO•, aşağıdaki reaksiyonlarda ve tablo 6'de gösterildiği şekilde bir dizi nitrojen oksitlerine (NOx) dönüşebilir.



Tablo 5- Nitrojen oksitleri (NO_x).

Sembol	İsim	Etki
NO [•]	Nitrik oksit	Serbest radikal.
NO ₂ [•]	Nitrojen dioksit	Serbest radikal, Nitroze edici ajan.
N ₂ O	Nitröz oksit	Anestezik.
N ₂ O ₃	Dinitrojen trioksit	Nitroze edici ajan.
N ₂ O ₄	Dinitrojen tetraoksit	Dimerik NO ₂ [•] , nitroze edici ajan.
NO ₂ ⁻	Nitrit	Asidik ortamda NO [•] oluşturur.
NO ₃ ⁻	Nitrat	Stabil anyon

2.8.1- NO[•]'nun Etki Mekanizması

Hücrelerarası iletişimi sağlayan moleküller (hormonlar, nörotransmitterler, büyüme faktörleri vb.) bu etkilerini daha çok plazma membranındaki spesifik proteinlere bağlanıp, hücre içi cAMP miktarını artırarak gerçekleştirirler. Buna karşın NO[•], üretildiği hücreden dışarı çıkarak, direkt hedef hücresi içine girer, hedef molekülüne bağlanır ve direkt yada enzim aktivitesini değiştirerek amaçlanan etkiyi oluşturur. NO[•]'nun karakterize edilmiş en önemli hedef molekülleri ; Demir, kükürt ve oksijen türevi yapılarıdır. Makrofajlardaki NO[•], tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki Fe-S taşıyan enzimleri nitrolayarak antimikrobiyal ve antitümöral sitotoksik etki gösterir. Aynı mekanizmayla MET (mitokondriyal elektr elektron transport) zinciri enzimlerinin aktivitesini azaltır. Yine NO[•], tümör hücresindeki ribonükleotid redüktaz'ı inhibe ederek DNA sentezini engeller. NO[•] ferritinle reaksiyona girerek serbest demir salınımına yol açabilir, bu serbest demir de lipid peroksidasyonunu başlatabilir.

NO[•]'nun bir diğer hedefi sülfhidril (-S-H) gurubudur; S-H ile reaksiyona girerek S- nitrozilasyon yapabilir ve plazminojen aktivatörü gibi bazı enzimlerin katalitik fonksiyonlarını artırabilir. NO'nun önemli bir hedefi de süperoksit (O₂^{•-}) molekülüdür. Bu ikisinin tepkimesiyle oluşan peroksinitrit (ONOO⁻)'ten, nitrojen dioksit (NO₂⁻) ve hidroksil (OH[•]) radikali oluşabilir. Peroksinitrit şekillenmesi ve aktivitesi, nitrotirozin residüleri'nin imminohistokimyasal olarak lokalizasyonlarının araştırılmasıyla takip edilebilir. Yapılan bazı araştırmalara göre peroksinitrit;

aterosklerozis gelişmesindeki başlangıç oksidan moleküllerdendir ve aterom plakları çevresinde nitrotirozinin artan immün reaktivitesi mevcuttur (43). Yapılan immünohistokimyasal araştırmalarda nitrotirozinin özellikle; villusların vasküler endoteliumunda, vasküler düz kasların etrafında ve villöz stromada yoğunlaştığı bildirilmiştir (44).

NO• sentezlenmesini sağlayan NOS enzimi iki ana formda incelenmektedir. Üretilen NO•'nun fonksiyonu bu enzim türleri ile de bağlantılıdır.

2.8.2- NOS izoenzimleri

NOS temel olarak iki ana grupta incelenir.

2.8.2.1– Yapısal NOS (cNOS):

Bu izoformun ayırıcı özelliği, aktivitesinin Ca⁺⁺'ya (ikincil haberci) bağımlı olmasıdır. İnsan vücudunda tespit edildikleri başlıca dokular şunlardır: damar endotel hücreleri, ürogenital sistem dokuları, santral ve periferik sinir sistemi nöronları, adrenal korteks ve medulla hücreleri, trombositler ve barsak interstiyumu. Hücre içi iyonize kalsiyumu artıran her türlü etkileşimde, kalsiyumun kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks (Ca⁺⁺/kalmodulin), cNOS'un aktifleşmesini sağlar ve NO• sentezlenir. Ancak kalsiyumu artıran uyarı kesilince, hücre içi Ca⁺⁺ da azalmaya başlar ve enzim aktivitesi ortadan kalkarak NO• sentezi durur. Bu yüzden bu izoform, normal biyolojik sistemlerde düşük miktarlarda NO• sentezler. cNOS ilgili hücrelerde daima mevcuttur fakat Ca⁺⁺ düzeyi yükselinceye kadar inaktif durumdadır.

Yapısal NOS (cNOS) izoformları'da kendi arasında iki kısımda incelenmektedir; Bunlar nNOS (nöronal) ve eNOS (endotelial)'tur.

2.8.2.1.1- nNOS kaynaklı NO•'nun bulunduğu yerler ve bilinen fonksiyonları:

Esas olarak sinir sisteminde bulunmakla beraber başka dokularda da tesbit edilmiştir .

a) Merkezi sinir sistemi;

- Nörotransmitter/nöromodulatör olarak görev yapar. Bilinen en düşük molekül ağırlıklı organik nörotransmitterdir. Presinaptik uçtan salgılanan glutamat'ın etkisiyle (glutamat NMDA reseptörlerine bağlanır), postsinaptik uçtaki hücrenin NOS'u aktifleştirilir ve buradan sentezlenen NO[•] hedeflenen etkisini oluşturur.
- Sinapsların şekillenmesine yardımcı olur.
- Koku alma, görme, ağrıyı algılama, ve hafıza oluşması işlevlerinde rol oynar.

b) Periferik sinir sistemi;

- Nonadrenerjik nonkolinerjik sistemde nörotransmitter olarak rol oynar.
- Solunum fonksiyonlarında, penil ereksiyonda, gastrointestinal sistem motilitesinde, mesane sfinkter işlevinde ve tüm bu organların kan basıncı ve akış hızının düzenlenmesinde rol alır.

2.8.2.1.2- eNOS kaynaklı NO'nun sentezlendiği yerler ve bilinen fonksiyonları:

- Düz kasları gevşeterek, kan basıncı ve akış hızını (dolayısıyla kalp kasılmasını) regüle eder.
- Trombositlerin, adezyon ve agregasyonlarını inhibe eder.
- Antiproliferatif etkisi vardır (endotel hücresi ve vasküler düz kas hücresinde).

2.8.2.2– Uyarılabilir NOS (iNOS):

İlk olarak endotoksin ve sitokinler tarafından uyarılan makrofaj ve karaciğer hücrelerinde tanımlanmıştır. Bu izoform aktivite için Ca⁺⁺ ya bağımlı değildir. Bunun nedeni enzimin kalmodulinle çok sıkı bağlanmış olması olabilir. Fakat, kalmodulinin buradaki rolü bilinmemektedir. iNOS başta makrofajlar (monosit, histiyosit, kupfer hücreleri vs.) olmak üzere polimorfonükleer lökositler, hepatositler, damar düz kası, damar endoteli, astrosit ve kondrositler tarafından üretilebilir. Enzim indüklendiği zaman NO[•] üretimi, yapısal formdaki gibi kısa sürmez, saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Özellikle non-spesifik immünitede önemli rol oynar. Bakteri, mantar, virüs, tümör hücreleri ve protozoonlara sitotoksik veya sitostatik etki oluşturur. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda da rol oynadığı bildirilmiştir (45). iNOS hücre içinde genel yapıda mevcut değildir. Ancak bakteriyel ürünler ve sitokinler ile teması takiben, birçok doku ve hücre tipinde üretimi uyarılarak

(transkripsiyonel indüksiyon: mRNA artışı) miktarı artırılır. cNOS ile iNOS'un özellikleri ve bazı önemli farklılıkları, tablo 6' da özetlenmiştir.

Tablo 6- cNOS ile iNOS arasındaki farklılıklar

Özellik	cNOS	iNOS
Ca ⁺⁺ bağımlılığı	Var	Yok
NO oluşum düzeyi	Pikomol	Nanomol
Uyarana yanıt	Ani	Geç
NO üretim süresi	Kısa	Uzun
Glukokortikoidlere etkisi	Etkilenmez	Uyarılması inhibe edilir

NO[•], fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda rol alan vazoregülasyon yapan ve hücrel toksisiteyi gösteren bir biyoregülatör moleküldür. Bunun yanı sıra damar basıncının ayarlanmasından ve kan hücreleriyle endotel arasındaki etkileşimin düzenlenmesinden sorumludur.

2.9- VEGF

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süper ailesinin üyesi olan VEGF ailesi, endotel hücreleri için özgüldür ve önemli etkileri vardır (46). Vücutta hem fizyolojik olaylarda hem de tümör büyümesi ve yayılmasını da içeren patolojik birçok hastalıkta rol oynar. VEGF, 6. kromozomun kısa kolunda (6p12) lokalize, molekül ağırlığı 45 kDA olan bir sitokindir.

VEGF'nin seçici olarak endotel hücrelerinde mitojenik etki ile damar gelişimini uyarmasının yanı sıra morfogenez ve kemotaksiste de önemli roller üstlendiği bilinmektedir (46). Anti-apoptotik proteinlerin sentezinin artması veya anti-apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu ile yeni damar oluşumunda yaşamsal rol oynar. VEGF; vasküler endotel hücreleri için potent bir mitojendir, ancak diğer hücre tipleri için mitojenik aktivitesi yoktur. Megakaryositler, VEGF'nin önemli kaynağıdır ve VEGF trombositlerin α granüllerinde depo edilir . Bunun yanında VEGF, vücutta değişik hücrelerden ve tümör hücrelerinden salgılanır ve hemodinamik bir glikoproteindir. Yapılan araştırmalar göstermektedir ki; endotel hücreleri, lökosit, megakaryosit, ovaryum follikülleri, korpus luteum, akciğer

alveolar hücreleri, renal glomerül visseral epitelyum hücreleri, kardiyak myositler, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteksin tüm hücreleri, Leydig hücreleri, aktive makrofajlar, arteriyolleri çevreleyen fibroblastlar, bronşiyal ve koroid pleksus epitelyum hücreleri, hepatositler ve özellikle de malign tümör hücrelerinde (Karaciğer, mesane, böbrek, over, mide, kolon, beyin ve meme kanserleri) VEGF sentezlenmektedir (47-49).

VEGF'nin yedi üyesi vardır: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve PlGF.

VEGF-A, Human-VEGF olarak da isimlendirilir. VEGF-A'nın plasentasyonda sitotrofoblastların ve sinsisyotrofoblastların gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir. VEGF-A geni, kromozom 6p21.3'teki lokalizasyonda kodlanmıştır. Şu ana kadar bilinen altı adet izoformu vardır: VEGF121, VEGF145, VEGF148, VEGF165, VEGF183, VEGF189, VEGF206. İsimlerindeki sayılar içerdikleri amino asit sayılarını göstermektedir. En baskın ve en etkin formu VEGF165'tir. VEGF121 hariç, hepsi heparine bağlanmaktadır. Ancak tüm bu izoformların fizyolojik önemi tam olarak tespit edilmemiştir.

VEGF-B, 167 aminoasitli bir proteindir ve vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1'e (VEGFR-1) bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmasında rol alır.

VEGF-C, 388 aminoasitten oluşur ve lenfanjiyogenezde rol oynar. VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotel hücrelerde mitojenik etki yapar. VEGF-C'nin Kaposi sarkomunda önemli rol aldığı rapor edilmiştir (50, 51).

VEGF-D, 334 aminoasitten oluşan ve VEGF-A'yla % 31 oranında aynı aminoasitler içeren bir proteindir. Bu da VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak VEGF-C gibi lenfanjiyogenezde rol alır (51).

VEGF-E'nin aminoasit dizilimi ise VEGF-A ile %25 oranında aynıdır. VEGF-E endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar ve kan damarlarının geçirgenliğini artırır. VEGFR-1'e bağlanmayı başaramaz ama VEGFR-2'ye seçici bağlanarak etkisini gösterir.

PlGF, 152 aminoasitten oluşur ve VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesidir. VEGFR-1'e bağlanarak etki gösterir.

Vasküler endotel hücrelerinde VEGF'nin yüksek afinite gösterdiği 3 reseptör gösterilmiştir.

1- VEGFR-1/ Flt-1(fms-like tyrosinekinase-1)

2- VEGFR-2/ Flk-KDR (kinase domain region-fetal liverkinase)

3- VEGFR-3/ Flt-4 (fms-like tyrosine kinase-4)

Tirozin kinaz reseptör ailesinden olan VEGF reseptörleri içinde anjiyogenez sürecinde en önemli rolü VEGFR-2/Flk/KDR reseptörü oynamaktadır. Alınan sinyali hücre içine ileterek hücre proliferasyonu ve kemotaksise neden olmaktadır. VEGF ailesi kan damarlarının yapılanmasını ve damar geçirgenliğini VEGFR-1/Flt-1 ve VEGFR-2/Flk-KDR reseptörleri ile etkileşerek kontrol ederler. VEGFR-1 çözünür durumda olsa bile VEGF için yüksek affiniteye sahiptir. VEGFR-2, VEGF'nin mitojenik ve permeabilite etkisinde en önemli reseptördür. VEGFR-1 patolojik anjiyogenezi negatif yönde etkileyerek, VEGFR-2'nin proanjiyojenik etkilerini azaltmaktadır. VEGFR-1 ve VEGFR-2 endotel hücreleri üzerinde bulunurken VEGFR-3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır (132). VEGF reseptörleri esas olarak endotel hücrelerinde eksprese olur ve hipoksi ve VEGF tarafından üretimi potansiyelize edilir (52). VEGFR-1, çözülebilir formda iken bile hem damarlardan hem de tümör hücrelerinden elde edilebilir.

VEGFR-2 bulunmayan farelerin endotel hücrelerinin farklılaşmadığı ve organize kan damarları üretmediklerini, VEGFR-1'den yoksun farelerde ise, endotel hücrelerinin farklılaştığı, ancak damarların büyük ve organize olmadığı gözlenmiştir. Her iki reseptörün eksikliği ise damarlanmayı ve embriyonik gelişimi önlemektedir (53).

VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; VEGF'nin reseptörü ile birleşmesini takiben reseptöre G proteinleri de bağlanır ve fosfolipaz-C'yi aktifler. Aktiflenmiş fosfolipaz C'nin etkisi ile ikinci haberciler olan diaçilgliserol (DAG) ve inositol trifosfat (IP₃) oluşur. DAG, protein kinaz C'yi aktive eder. IP₃ de hücre içi kalsiyum seviyesini arttırıp, kalsiyum-kalmodulin kompleksi oluşturarak kalmodulin kinazları aktive eder. Bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinleri, bu kinazlar aracılığıyla, fosforile edilerek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferensiasyonunu sağlar. VEGF'nin reseptörlerine bağlanmasını, heparan sülfat proteoglikanları düzenlemektedir. Düşük heparin konsantrasyonu VEGF bağlanmasını arttırırken, yüksek heparin konsantrasyonun bağlanmayı azalttığı bildirilmiştir(54).

2.9.1 - DNA polimorfizmi

Doğada, aynı türden organizmalar genellikle, bazı görünüşleri ile farklıdır. Bu farklılıklar genetik olarak belirlenmiştir ve polimorfizm olarak isimlendirilmektedir. Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşiklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm) veya DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde görülebilir.

Tek nükleotid pozisyonundaki değişikliği (substitusyonlar, delesyonlar ve insersiyonlar) temsil eden tek baz çifti polimorfizmi ya da tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olarak tanımlanmaktadır. Bu polimorfizmlerin çoğu bialleliktir. Birçok SNP'nin kodlamayan genomik bölgelerde bulunmasına rağmen, önemli bir kısmını hastalıkla veya diğer fenotiplerle ilgili mutasyonlar teşkil etmektedir (78).

2.9.2-VEGF polimorfizmi

VEGF geni 6p21.3 kromozomunda lokalize olup 8 eksondan oluşmaktadır, bu eksonların "alternatif splicing" ile VEGF protein ailesini oluşturur. Bu gende şimdiye kadar birçok polimorfizm tespit edilmiş olup bunların VEGF protein üretiminde varyasyonlara neden olduğu tespit edilmiştir. VEGF genindeki DNA varyasyonları VEGF üretimini veya aktivitesini değiştirebilir. Bu şekilde tümörlerin gelişiminde ve yayılmasında bireyler arasındaki farklılıkları açıklayabiliriz. VEGF gen polimorfizminin VEGF üretimi ile ilişkili olduğunu gösteren az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmaların sonuçları ise birbirleri arasında çelişki göstermektedir.

2.10-TNF- α

Tümör nekroz faktör-alfa kanser kaşeksisi ve endotoksik şokta yer alan başlıca kaynağı aktive makrofajlar olan bir sitokindir. Ateş yapıcı etkinliği vardır. Düşük konsantrasyonda nötrofilleri etkinleştirir ve bunların endotel hücrelerine yapışmasını arttırır. Yüksek derişimlerde septik şoka aracılık eder, kaşektin gibi davranır, tümörlerin nekrozuna neden olduğu bildirilmiştir (55). Proenflamatuar özellikleri nedeniyle in vivo olarak yeni damar oluşumuna yol açarak anjiogeneizde önemli rol oynar. Bunun yanı sıra T ve B hücre aktivitesini ve nötrofillerin adezyonunu arttırır(56). Çeşitli tiroid hastaları (Graves v. s.) otoimmün bozukluklarla ilişkilidir. Çeşitli antijenlere karşı oluşan antikorlar bu kanıtıdır.

2.11-IL-8

Molekül ağırlı 8.8 kD olan peptid yapıda bir sitokindir. Başlıca monosit, makrofaj, fibroblast, keratinosit ve endotel hücrelerinden salgılanır(57). IL-8 TNF- α gibi proinflamatuar bir sitokindir. IL-8 hedef hücrelerde büyümeden çok fonksiyonları üzerine etkilidir. Nötrofillerin aktivasyonu, degranülasyonu sağlar ve anjiogeneizde rolü vardır. IL-8' in endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyararak yeni kan damarlarının oluşumunu uyardığı artık bilinmektedir. Buda organogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi ve metastazlarda etkili olabileceğini düşündürmektedir (58- 61).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. MATERYALLER METODLAR

Bu araştırma için gerekli olan kan ve doku örnekleri, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı servisinde yatan, tiroid hastalığı tanısı almış fakat henüz cerrahi tedavi uygulanmamış, 40 multinodüler guatr, 40 toksik multinodüler guatr, 40 tiroid papiller ca' lı hastadan ve 40 normal sağlıklı gönüllülerden alındı. Hasta ve kontrollerin median venlerinden 10 ml kan alınarak, katkısız steril tüpe konuldu. Kan, pıhtılaştıktan hemen sonra bekletilmeden + 4 °C'de 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası, örneklerin süpernatant (üst) kısımları 5 ayrı eppendorfa konularak (gerekli tüm bilgiler eppendorf üzerine yazılarak) -80°C'de, saklandı. Numune toplama işlemi bittikten sonra -80 °C'deki örneklerden çalışılacak parametreye göre numune eppendorfları çıkartılarak oda sıcaklığında çözülmeye bırakıldı ve daha sonra analizler yapıldı. Ayrıca Gen polimorfizmi çalışması için de hasta ve kontrol gruplarından EDTA'lı tüplere 10 ml kan daha alındı.

3.1.1. NO_x (total nitrit + nitrat) ölçümü

NO•, biyolojik sistemlerde üretildikten sonra, 2–30 sn gibi çok kısa sürelerde nitrit (NO₂⁻) ve ardından nitrat (NO₃⁻)'a oksitlenir. Nitrat formu, NO• türevlerinin en kararlı yapısıdır.



Görüldüğü gibi stabil bir yapıda olmaması nedeniyle, nitrik oksidi direkt ölçmek oldukça zordur. Bu yüzden araştırmamızda, numunede bulunan nitratı nitrit formuna redükleyerek (kadmiyum redüksiyonu ile) ortamda bulunan toplam nitrit + nitrat formunu ölçtük. Bu iki formun toplamını ise NO_x ile gösterdik. Sonuçta NO• kaynaklı ürünler olan NO₂ ve NO₃'ün tamamı ölçülmüş oldu. Ölçümler Kocaeli Üniversitesi Tıp fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

Araştırmamızda NO_x ölçümünde numune olarak serum kullanıldı. Serum direkt deproteinizasyona tabi tutuldu. 0,25 ml numune üzerine, 0,5 mL çinko sülfat ve 0,5 mL sodyum hidroksit ilave edildi. Mikserle iyice karıştırıldı ve 5000 g de 15 dk santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası elde edilen süpernatant, redüksiyon

işleminde kullanıldı. Sonuçta elde edilen deproteinize serum 5 kez dilue edilmiş oldu. Deneyimizin ikinci aşamasında numunelerimizde (serum) bulunan nitrat moleküllerinin nitrit haline redüksiyonunu gerçekleştirdik. Bunun için kadmiyum metodunu kullandık. Her numune için boş bir deney tüpüne aktive olmuş kadmiyumdan 2 gram koyduk. Daha sonra üzerlerine 1000 µL glisin-NaOH, 500 µL bidistile su ve deproteinize edilmiş numunelerden ve standartlardan 500 µL koyduk. Deproteinizasyon sırasında 5 kez dilusyon yapmıştık. Bu aşamada da deproteinize numune 4 kez daha dilue edilmiş oldu. Sonuçta numunemiz toplam olarak 20 kez dilue edilmiş oldu. Daha sonra tüpleri 1,5 saat boyunca ışık görmeyecek şekilde 10 dakika aralıklarla kibarca döndürerek numune içinde bulunan NO₃⁻'ün NO₂⁻'ye dönüşümünü sağladık. 1,5 saat sonra tüpleri 3000 g'de 3 dk santrifüj ettik. Ardından yeni deney tüplerine kadmiyum içinde bulunan ve santrifüj edilen numunelerin süpernatantından 1000 µL, griess reaktifinden de 1000 µL koyduk ve kapalı ışık görmeyen bir ortamda 30 dakika inkübe ettik (**Griess reaksiyonu**)

Son olarak oluşan renkli solüsyonlar (numuneler ve standartlar) spektrofotometrede 545 nanometrede okunarak standart grafiği hazırlandı. Ardından numunelerin absorbanları kaydedildi ve standart grafiğinden faydalanılarak numunelerin konsantrasyonları hesaplandı ve dilusyon faktörleriyle çarpılarak gerçek konsantrasyonlar bulundu. Sonuçta total nitrit ölçülerek, numunede bulunan NO_x (nitrat + nitrit) konsantrasyonları bulunmuş oldu. Bu ölçüm de NO³⁻'in bir göstergesi olarak kabul edildi . Konsantrasyonlar µmol/L olarak sunuldu.

3.1.2.Serum ET, VEGF, IL-8, TNF-alfa ölçümleri

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi merkez laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, serum ET ; Cayman marka hazır kit (Katolog no: 583151), VEGF; İnvitrogen marka hazır kit (katolog no:KHG0112),IL-8; Biosource marka hazır kit (katolog no: KAP1301), TNF-alfa biosource marka hazır kit (KAP1751) kullanılarak elx 800 cihazında çalışıldı. Konsantrasyonlar ET için fentomol/ml ,VEGF için ng/ml, IL-8 için ng/ml, TNF-alfa için ng/ml olarak sunuldu.

3.2. GENOTİPLEME

Amonyum asetat çöktürme yöntemi ile periferik kandan DNA izolasyonu yapıldı. Genotipleme Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Polymerase Chain Reaktion- Restriction Length Polymorphism (PCR-RFLP)) metodu ile yapıldı. Poliakrilamid jelleri gümüş nitrat ile boyanarak genotipler değerlendirildi.

3.3. İstatiksel analiz

Biyokimyasal verilerin istatiksel analizinde SPSS(Statistical Package for the Social Scienses) 13.0 paket program kullanıldı. Verilerin normal dağılımına bakılarak One Way Anova testleri kullanıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık için ise posthoc test olarak Tukey testi kullanıldı. Papiller karsinom grubunda oluşturulan alt grupların istatistiki değerlendirmesi için student t testi kullanıldı.

VEGF gen polimorfizmini incelenmesi çalışmasının istatiksel ise Odds ratio, %95 güven aralığı ve χ^2 analizi, conditional logistic regression analizi kullanarak yapıldı. Hücre frekansları 5'ten az olduğunda gerçek metodlar kullanılarak risk oranları hesaplandı. Tüm analizler PC için SPSS 13,0 versiyonu kullanılarak yapıldı.

4.BULGULAR

Benign ve malign tiroid hastalıkları olan hastalar ile sağlıklı kontrollerde plazma nitric oksit, endotelin, TNF- alfa, Interlökin 8 ve VEGF düzeyleri incelenmiş gruplar kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma neticesinde nitrik oksit düzeyinin papiller karsinom olgularında yüksek olduğu ancak bu yüksekliğin sadece toksik multinodüler guatr tanısı almış olgulardaki değerle karşılaştırıldığında anlamlı olduğu anlaşılmıştır. Endotelin düzeylerine bakıldığında da sadece multinodüler guatr tanısı almış hastalarda anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görülmektedir. Ama gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldığında MNG grubundaki artışın papiller kanser toksik MNG ve kontrol grubu ile arasındaki farkın anlamlı olduğu anlaşılmaktadır. Bir akut faz reaktanı da olan TNF- alfa' nın plazma düzeyleri sadece kontrol grubunda daha yüksek kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu Tablo 7' de gösterilmiştir; ancak grupların kendi aralarındaki ilişki anlamlı değildir. VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmaktadır. Tüm olgular ötiroid hale geldiği için preoperative TSH, serbest T3 ve serbest T4 değerleri açısından gruplar arasında fark saptanmadı.

4.1. KONTROL VE HASTA GRUPLARINDAKİ BİREYLERİN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI.

Araştırmamızdaki grupların istatistiksel değerlendirme sonuçları tablo 7 ve 8 de verilmiştir.

Tablo 7-Tiroid hasta ve kontrol gruplarında serum sikokin değerlerinin istatistiksel değerlendirme sonuçları

GRUPLAR	NO ($\mu\text{mol/L}$)	ET(pg/ml)	VEGF(Fentomol/ml)	TNF α (Pg/ml)	IL-8(Pg/ml)
MNG	19,62 \pm 7,45	2,40 \pm 1,03	169,35 \pm 121,14	5,26 \pm 4,09	15,28 \pm 20,50
TPC	21,98 \pm 10,60	1,96 \pm 0,33	182,51 \pm 109,60	4,87 \pm 2,27	34,15 \pm 62,33
TMNG	16,56 \pm 5,29	1,89 \pm 0,20	164,22 \pm 117,26	5,48 \pm 2,38	25,04 \pm 47,33
KONTROL	19,41 \pm 7,46	1,95 \pm 0,48	226,44 \pm 216,39	7,80 \pm 4,16	27,97 \pm 22,11

Serum NO seviyesi ; TPC-TMNG; P: 0.012

Serum ET seviyesi; MNG-TPC; P: 0.008, MNG-TMNG; P: 0.001, MNG-Kontrol; P: 0.006

Serum TNF-Alfa seviyesi; MNG-Kontrol; P: 0.004, TPC-Kontrol; P: 0.001, TMNG-Kontrol; P: 0.01

Tablo 8-Tiroid hasta ve kontrol gruplarında serum tiroid hormon değerlerinin istatistiksel değerlendirme sonuçları.

GRUPLAR	TSH(uIU/mL)	sT3(pg/mL9	sT4(ng/dL)
MNG	1,64±1,93	3,21±0,60	1,61±1,91
TPC	6,91±23,88	3,37±1,04	1,54±1,95
TMNG	2,27±11,87	3,62±1,30	1,21±0,50
KONTROL	1,64±0,96	2,89±0,71	1,30±0,18

Serum sT3 seviyesi;TMNG-Kontrol; P:0.003

4.2. TPC'LU HASTALARIN GRUPLARA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

Tablo 9- TPC'lı hastalardaki serum sitokin parametrelerinin okkült olan ve olmayan gruplardaki biyokimyasal istatistik sonuçları

TPC'li hastalarda	Okkült olan (n=11)	Okkült olmayan(n=29)	Anlamlılık
VEGF	193,64±78,27	160,37±99,93	P=0,669
NO	22,67±7,01	22,31±11,67	P=0,435
ET	1,81±0,38	2,02± 0,30	P=0,728
TNF-alfa	4,85±2,73	4,83±2,13	P=0,403
IL8	29,60±26,91	34,82±71,74	P=0,164

Tablo10- TPC’lı hastalardaki serum sitokin parametrelerinin kapsül invazyonu olan ve olmayan gruplardaki biyokimyasal istatistik ve anlamlılık değerleri

GRUPLAR	Kapsül inv. var	Kapsül inv.yok	Anlamlılık
VEGF	154,59±98,80	175,19±94,24	P=0,911
NO	18,55±5,90	23,87±11,55	P=0,483
ET	1,90±0,12	1,99±0,38	P=0,412
TNF-alfa	5,00±2,07	4,78±2,40	P=0,345
IL8	15,73±15,84	40,08±71,79	P=0,049

Tablo 11 - TPC’lı hastalarda AMES sınıflandırması ve anlamlılık testleri

Gruplar	AMES Yüksek(n=24)	AMES Düşük(n=16)	Anlamlılık
VEGF	187,25±106,84	155,85±78,89	P=0,314
NO	19,73±5,75	27,49±14,16	P=0,119
ET	1,96±0,43	1,94±0,10	P=0,156
TNF-α	4,98±2,24	4,93±2,53	P=0,411
IL-8	15,58±13,18	64,21±94,40	P=0,001

4.3. VEGF gen polimorfizminin değerlendirilmesi:

VEGF geni ile tiroid hasta ve kontrol grupları arasındaki ilişkiyi inceleyen bu çalışmamızda PCR-RFLP yöntemi kullanılarak, VEGF geninin 3 ayrı polimorfizmi incelenmiştir. 40’ar kişilik TPC MNG ve TMNG hasta grupları, 40 kişilik sağlıklı

kontrol grubu ile karşılaştırılarak genotipleme yapılmıştır. Çizelgelerde tüm hastalıklar için allel ve genotip dağılımları, χ^2 , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri verilmiştir.

İstatistiksel incelemeler sonucu ilk anlamlı sonuç, TPC hasta grubunda VEGF 634 değişimi için görülmektedir. ($\chi^2 = 10.200$, df =2 p=0.006) Bu değişimde GG genotipinin, TPC hastalarında 6 kat risk oluşturduğu belirlenmiştir. (OR=6,000, %95 Güven aralığı=1.787-20.147, df=1, p=0.002)

İkinci anlamlı sonuç ise MNG hastalarında VEGF 634 değişimi için görülmektedir. ($\chi^2 = 8,844$, df =2 p=0.012) Bu değişimdeki GG genotipinin, MNG hastalarında 4,8 kat risk oluşturduğu belirlenmiştir. (OR=4,800, %95 Güven aralığı=1.430-16.420, df=1, p=0.007)

En son olarak TMNG hastalarında VEGF 634 değişiminde anlamlı bir değişim görülmektedir. ($\chi^2 = 9,751$, df =2 p=0.008) Bu değişimdeki GG genotipinin, TMNG hastalarında 4,8 kat risk oluşturduğu belirlenmiştir. (OR=4,800, %95 Güven aralığı=1.430-16.420, df=1, p=0.007)

Diğer VEGF değişimleri açısından, istatistiksel analize göre hasta grupları ve kontrol grubu arasında allel ve genotip dağılımları bakımından ilişki bulunamamıştır. (İstatistiksel olarak anlamlılık p<0.05 için geçerlidir).

Her 3 hasta grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişim, 634 değişimidir. Ayrıca MNG ve TMNG hasta gruplarında bulunan risk oranı 4,8 şeklindedir. Yani bu iki hastalığın birbirlerine daha yakın olduğu ve aynı değişimden aynı oranda etkilendiği görülmektedir.

Tablo 12- VEGF 634, 2578,936 gen değişimlerinin TMNG’li hastalardaki genotip dağılımı

Genotype	Cases(%)	Controls(%)	Allelic Frequency:		OR;95%CI;Chi2;df;P
			Cases	Controls	
	TMNG		634C; 634G		
VEGF634	40(100.0)	40(100.0)	43.75	56.25	Chi2=0.498;df:2;P=0.780
CC	9(22.5)	6(15)			1.645(0.525-5.154)
GG	14(35)	4(10)			4.846(1.430-16.420)
CG	17(42.5)	30(75)			0.246(0.095-0.638)
			2578C; 2578 A		
VEGF2578	40(100.0)	40(100.0)	61.25	38.75	Chi2=0.220;df:2;P=0.896
CC	16(40)	15(37.5)			1.111(0.452-2.733)
AA	7(17.5)	6(15)			1.202(0.365-3.955)
CA	17(42.5)	19(47.5)			0.817(0.338-1.974)
			936 C; 936 T		
VEGF936	40(100.0)	40(100.0)			Chi2=3.075;df:2;P=0.215
CC	26((65)	31(77.5)			0.539(0.201-1.446)
TT	0(0)	14(35)			0.975(0.928-1.025)
CT	14(35)	8(20)			2.154(0.784-5.920)

Tablo 13- VEGF 634, 2578,936 gen değişimlerinin MNG’li hastalardaki genotip dağılımı

Genotype	Cases(%)	Controls(%)	Allelic Frequency:		OR;95%CI;Chi2;df;P
			Cases	Controls	
	MNG		634 C; 634 T		
VEGF634	40(100.0)	40(100.0)	42.50	57.50	Chi2=8.841;df:2;P=0.012
CC	8(20)	6(15)			1.417(0.443-4.534)
GG	14(35)	4(10)			4.846(1.430-16.420)
CG	18(45)	30(75)			0.273(0.106-0.704)
			2578 C; 2578 A		
VEGF2578	40(100.0)	40(100.0)	67.50	32.50	Chi2=1.472;df:2;P=0.479
CC	20(50)	15(37.5)			1.667(0.684-4.063)
AA	6(15)	6(15)			1(0.293-3.412)
CA	14(35)	19(47.5)			0.595(0.242-1.462)
			936 C;936 T		
VEGF936	40(100.0)	40(100.0)	93.75	2.25	Chi2=1.935;df:2;P=0.380
CC	35(87.5)	31(77.5)			2.032(0.615-6.716)
TT	0(0)	1(2.5)			0.975(0.928-1.025)
CT	5(12.5)	8(20)			0.571(0.169-1.928)

Tablo 14- VEGF 634, 2578,936 gen değişimlerinin TPC’lu hastalardaki genotip dağılımı

Genotype	Cases(%)	Controls(%)	Allelic Frequency:		OR;95%CI;Chi2;df;P
			Cases	Controls	
	TPC		634 C; 634 G		
VEGF634	40(100.0)	40(100.0)	37.5	62.5	Chi2=10.200;df:2;P=0.006
CC	6(15)	6(15)			1(0.293-3.4129)
GG	16(40)	4(10)			6(1.787-20.147)
CG	18(45)	30(75)			0.273(0.106-0.704)
			2578 C; 2578 A		
VEGF2578	40(100.0)	40(100.0)	85	55	Chi2=0;df:2;P=1
CC	15(37.5)	15(37.5)			1(0.404-2.473)
AA	6(15)	6(15)			1(0.293-3.412)
CA	19(47.5)	19(47.5)			1(0.416-2.405)
			936 C;936 T		
VEGF936	40(100.0)	40(100.0)	78.75	21.25	Chi2=2.167;df:2;P=0.338
CC	25(62.5)	31(77.5)			0.484(0.182-1.289)
TT	2(5)	1(2.5)			2.053(0.179-23.589)
CT	13(32.5)	8(20)			1.926(0.695-5.335)

5. TARTIŞMA

En güçlü vazokonstrüktör peptidlerden biri olan **ET** mitojenik ve inflamatuvar modulator özelliklerinden dolayı pek çok kanserde olduğu gibi tiroidin, özellikle papiller karsinomu olmak üzere kanserin ve otoimmün hastalıklarına ait araştırmalarda artan bir ilgi ile incelenmektedir. Araştırmalara göre endotelinin ET-1,ET-2,ET-3 olmak üzere 3 tip ve 3 tip reseptörü (ET-RA,ET-RB ve ET-RC) vardır.ET-1 esasen endotel hücrelerinden, ET-2 böbrek ve intestinal epitelden ve ET-3 ise beyinden eksprese edilir.Endotel hücresinde endotelinlere ait sekretuar granüllerin bulunmayışı bunların hücre içinde depo edilmediğini çeşitli kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt olarak hızla sentezlenip salgılandığını göstermektedir.Araştırmamızda benign veya malign tiroid hastalığı saptanan bireylerde ve kontrollerde serum total ET seviyesini ölçerek aralarındaki ilişkiyi değerlendirdik.

Çalışmamızda, MNG'lı hastalarda TMNG'li, TPC'lu hastalar ve kontrollere ait örneklerde serum ET seviyeleri açısından anlamlı derecede fark bulduk.(Sırasıyla MNG:2,3910, TMNG:1,8869, TPC:1,9644, Kontrol:1,9544 pg/ml; P=0,001, P=0,008,P=0,006).

TPC'lı hastaları occult olan yada olmayan, yada kapsül invazyonuna göre alt gruplara ayırdık.Okült TPC' li hastalarla okült olmayan hastalar arasında ve yine kapsül invazyonu varlığına göre ayırdığımız gruplarda serum ET seviyeleri açısından anlamlı bir fark saptamadık (P>0,05).

TPC'lı hastaları kapsül invazyonu olan ve olmayan şeklinde alt gruplara ayırdığımızda serum Et seviyeleri açısından anlamlı bir fark saptamadık (P>0,05).

Donckier ve arkadaşlarının çalışmalarında ET -1 in mitojenik özellikleri ve inflamatuvar modulator özelliklerinden dolayı tiroid karsinogenezinde ve tiroiditlerde önemine işaret etmişlerdir. O çalışmada çalışmacılar inceleme için tiroid doku örnekleri kullanılmış.TPC' lı grubunda ET-1 ve reseptörü ETAR'ın mitojenik aktivitede önemli olduğunu göstermişlerdir. ET-1 ve reseptörü ETAR'ın Hashimoto tiroiditinde inflamatuvar süreçte rolü olduğunu iler sürmüşlerdir. Bu çalışma neticesinde ETAR antagonistlerinin mitojenik aktiviteyi önlemek için tedavide kullanılabileceğini iddia etmişlerdir (62).

Gasinska ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada benign nontoksik guatrli ve sağlıklı kişilerden oluşan iki grup alınmış, benign nontoksik guatr nedeniyle ameliyat edilen hastaların periferik ve tiroid venlerinden alınan örneklerde ET-1 düzeyi ile guatr büyüklüğü arasında bir bağlantı olmadığını iddia etmişlerdir (63).

Diğer bir çalışmada 22 hasta; 5 normal tiroid 9 hashimoto tiroiditi, 8 papiller ca'lı gruplar oluşturulmuştur. Operasyon sırasında tiroit doku örnekleri alınarak çalışılmış. Bu çalışmada nitric oksit sentetaz (NOS), VEGF ve reseptörleri, anjiopoetin-1 ve anjiopoetin -2 ile ET-1'in tiroid papiller kanserli hastalarda dokuda normallere göre yüksek olduğu gözlenmiştir. Tiroiditli hastalarda da NOS 'ın daha yüksek düzeyde olduğu gözlenmiştir. Bu bilgidan tiroid karsinomlarında NO ile beraber ET-1' in anjiogenik faktörlerle birlikte aşırı miktarda ortaya çıkarak etyopatogenezde rol oynayabileceği söylenmiştir (64).

Bizim çalışmamızda ise tespit ettiğimiz MNG ve TPC'li hastalar arası anlamlı farklılık ile yukarıda bahsedilen çalışmalarda dikkat çekilen TPC'li ve kontrol grupları arasındaki ilişkiye benzetilebilir. Sonuçta tiroid hastalıklarıyla serum ET seviyesi arasındaki ilişkiyi açıklamak için daha ileri ve geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Serumda total nitrit ölçümü, NO^{\bullet} radikal oluşumu için bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Çünkü NO^{\bullet} süratle nitrite (NO_2) ve o da hemoglobin tarafından kısa sürede ($> \%95$ saatte) nitrata (NO_3) okside olur. NO^{\bullet} 'in oluştuğu anda ölçülmesi neredeyse imkansızdır. Bu yüzden NO^{\bullet} 'in bir göstergesi olarak total $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$ ölçülmektedir. Bizim araştırmamızda ortamdaki NO_3 , NO_2 'e redükte edildi ve sonuçta total nitrit (NO_2) ölçümü yapıldı. Bu NO_2 , ortamda bulunan NO^{\bullet} radikalinin bir göstergesi olarak kullanıldı.

Çalışmamızda, TPC'li hastalarla TMNG'li hastalar arasında serum NO seviyesi açısından anlamlı derecede fark saptadık (sırasıyla: TPC: 21,9775 TMNG: 16,5600 $P=0,012$). Öte yandan TPC'li hastaları occult olan ve olmayan ile kapsül invazyonu yapan ve yapmayan diye gruplara ayırdığımızda aralarında serum NO seviyeleri açısından bir fark saptamadık ($P>0,05$). Ayrıca TPC'li hastalarda yaptığımız AMES risk skorlamasına göre, risk skoru yüksek ve düşük grup arasında serum NO seviyeleri açısından bir fark saptanmadı ($P>0,05$).

Bilindiği gibi, NO^{*} fizyolojik konsantrasyonlarda organizmanın pek çok farklı normal biyokimyasal süreçlerinde (vasodilatasyon, nörotransmisyon vb.) görev alan bir moleküldür. Fakat fizyolojik konsantrasyonların altındaki ve üstündeki değerleri, pek çok patofizyolojik tabloyla (tümörögenезis, anjiogenезis ve apoptozisin indüksiyonu vb.) ilişkilendirilmektedir (65). Bu özelliklerinden dolayı serum NO^{*} konsantrasyonunun tümör patofizyolojisiyle ilişkilendirilmesi beklenen bir süreçtir. Fakat tümörögenезisde yüksek bulunan NO^{*} düzeyleri araştırmacılar tarafından farklı farklı yorumlanmıştır

Nakamura ve arkadaşları çalışmalarında papiller tiroid karsinomlarında lenfogenез yoluyla lenf nod metastazı oluşmasında VEGF-D'önemli rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak PTC'da lenf nod metastazlarında VEGF-D yüksek oranda nin ortaya çıkışının nedeni çok iyi bilinmemektedir. VEGF-D'nin açığa çıkmasında NO'in rolü olabileceği NO ve VEGF-D arasında korelasyon nedeniyle olabileceği, VEGF-D'nin uyarımı ile NO'in papiller tiroid karsinomlarında lenf nod metastazına sebep olabileceğini iddia etmişlerdir (66).

Colin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada guatr oluşumu ve küçülmesi süresince dinamik olarak düzenlenen karmaşık bir vazoaaktif gen ağı ortaya çıkardığını ifade etmektedirler. NO'in ve ET'in bu vazoaaktif süreçte önemli mediatörler olduğunu belirtmişlerdir. NOS için inhibitör etkili olan N-nitro-L-arginine methyl ester vaskülariteyi azaltabileceğini çalışmalarında göstermişlerdir.(67)

Patel ve arkadaşları yaptıkları çalışmada NO'in guatrojen etkisini araştırmışlar ve NO'in benign adenomlar, papiller ve foliküler tiroid karsinomları olan gruplarda yüksek bulunması nedeniyle NO'in tiroidin tümöral ve otimmün hastalıklarında vaskülarizasyon artışında önemli olabileceği sonucunu çıkarmışlardır.(68)

Bilindiği gibi, NO^{*} organizmada geniş bir hücre yelpazesinde (damar endoteli, nöronlar, trombositler, karaciğer hücreleri, böbrek hücreleri, immün sistem hücreleri vb.) üretilmektedir. Karsinomlu hastalarda yapılan çalışmalara göre, tümör dokusunda ciddi bir makrofaj infiltrasyonu söz konusudur (69). Buradan yola çıkarak bu hastalardaki NO^{*} artışının kaynağının , ağırlıklı olarak bu makrofajlardan iNOS aracılığıyla üretilen NO^{*} olduğu iddia edilebilir. Çünkü organizmada başta makrofajlar olmak üzere immün system ile ilgili hücrelerde ağırlıklı olarak bulunan

iNOS'un, özellikle TNF- α aracılığıyla indüklenerek makrofajlarda yüksek düzeyde NO[•] üretimine neden olduğu bilinmektedir. Üstelik iNOS indüklendiğinde, NO[•] üretimi, cNOS'daki gibi kısa sürmez, saatlerce hatta günlerce devam edebilir (45). Dolayısıyla makrofajlar, tümör hücrelerinden ve vücuttaki diğer hücrelerden daha fazla seviyelerde NO[•] üretebilirler ve NO[•] sentezinin ana kaynağı oldukları söylenebilir (70). Makrofajlardaki yüksek miktardaki NO[•], yüksek enerji gereksinimi ve metabolizması olan tümör hücresindeki Fe-S taşıyan enzimleri nitrolayarak antitümöral sitotoksik etki yapar. Ayrıca aynı mekanizmayla mitokondriyal elektron transport zinciri enzimlerinin aktivitesini azaltır. Yine NO[•], tümör hücresindeki ribonükleotid redüktaz'ı inhibe ederek DNA sentezini engellemektedir.

Yukarıdaki doku ve serum çalışmalarında görüldüğü gibi, temelde hepsi bizim, tiroid papiller karsinomlu hastalarda serum NO[•] seviyesi artar şeklindeki sonucumuzu desteklemektedirler. Tiroid karsinomlu hastalarda serum NO[•] artışı, tümör hücrelerine karşı immün yanıtın bir parçası olarak makrofajların tümör dokusuna yüksek düzeyde infiltrasyonu ve iNOS aracılığıyla uzun süre üretilen NO[•]'in bu antitümöral etkisi ile ilgili olabilir. Tiroid kanserli hastalarda serum NO[•] artışı, tümör çapı, lenf nodu ve uzak metastaz durumlarından etkilenmediği için, NO[•]'in tümör anjiogenezinde etkin bir rolü olmadığını düşünmekteyiz.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü ailesinin üyesi olan **VEGF** ailesi, endotel hücreleri için özgüdür (46). Vücutta hem fizyolojik olaylarda hem de tumor büyümesi ve yayılmasında içeren patolojik bir çok olayda rol oynar. VEGF ailesinin çeşitli alt tiplerinin bazılarının belli hastalıkların oluşumunda önemli olduğu gösterilmiştir . Bazı subtiplerin özellikle tumor yayılımıyla ilgili olabildiğini gösteren literatür çalışmaları mevcuttur. Bizde çalışmamızda serum VEGF seviyesi ve gen polimorfizmlerini çalışarak, hastalıkların etyopatogenezini aydınlatmaya çalıştık. Özellikle belirteç olarak kulacağımız bir marker olup olmayacağını inceledik.

Çalışmamızda; serum VEGF seviyesini hasta grupları ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı bir fark oluşturmadığını tespit ettik. Ancak alt grup analizi için TPC' li okkült olan ve olmayan, kapsül invazyonu olan ve olmayan ,AMES risk skorlaması yüksek ve düşük grupları oluşturduk bu gruplar arasındada serum VEGF seviyeleri açısından bir fark olmadığı sonucuna ulaştık.

Klubo-Gwiezdzinska ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum VEGF konsantrasyonunun metastatik ve metastatik olmayan tiroid kanserli hastalarda, multinodüler guatrli hastalarda ve sağlıklı grupta farklılık gösterip göstermediğini araştırmışlardır. Çalışma grubu 62 kadın ve 9 erkek 71 hastadan oluşmaktadır. Bu hastalar 50 papiller, 17 foliküler ve 4 oksifilik kanseridir. Bu çalışma 30 toksik olmayan multinodüler guatr hasta ve 30 sağlıklı gruptan oluşan iki kontrol grubu vardır. Hastaların hepsi tam yada kısmen tiroidektomi ve radyoaktif iyot tedavisi almış ve 59 hasta remisyon ve 12 hastada hastalık tekrar etmiştir. Bu çalışmanın sonucunda serum VEGF konsantrasyonunun uzak metastazlı hastalarda sağlıklı kişilere göre daha yüksek seviyede olduğu ancak bölgesel yakın metastazlı hastalarda benzer durum olmadığı gözlenmiştir. Bu çalışma ile serum VEGF konsantrasyonunun uzak metastazlı tiroid kanserlerinde ek marker olarak kullanılabileceğini iddia edilmektedir (71).

Klein ve Catargi çalışmalarında tiroitlerin VEGF sentezleyebildiğini ifade etmektedirler. VEGF nin 7 alt bölümü bulunduğu ve VEGF-A nin tümör büyümesinde etkili diğer yandan VEGF-C ve VEGF-D'nin lenfanjiyogenez ve özellikle servikal lenf nodlarına yayılımda önemli olduğunu vurgulamışlardır. Tümör hücrelerinde yüksek olan serum VEGF seviyesinin tiroid papiller karsinomlarında daha zayıf olması arasında bir bağlantı olduğunu ifade etmektedirler. VEGF'nin malign hücre anjiyogenezde önemli rolü olduğu için araştırmalar yeni tedavi yöntemleri geliştirmede dikkate değer bulmuşlardır (72).

Xm ve arkadaşları papiller tiroid karsinomada VEGF ve VEGF-C'nin klinik rolünü değerlendirmek üzere yaptıkları çalışmada PTC ve benign tiroid hastalığı olan kontrol hastalarının serum VEGF ve serum VEGF-C seviyeleri ölçtüklerinde PTC hastalarında preoperative serum VEGF ve serum VEGF-C seviyeleri kontrol grubundan anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. PTC hastalarında serum VEGF seviyesi ile lenf nodu metastazı ve ileri tümör aşamalarında ilişki olabileceğini ileri sürmüşlerdir(73).

Tüm bu çalışmalar ve araştırma bulguları açısından çelişkiler bulunmaktadır. Çalışmamıza bizde TPC' li ,TMNG' li,MNG' li ve sağlıklı kontrol grupları arasında serum VEGF seviyeleri arasında anlamlı farklar bulamadık. Çalışmamızdaki hasta sayısını arttırarak, VEGF için daha spesifik subgrupları incelemek ve daha ileri çalışmalar yapmaya gereksinim vardır.

Çalışmamızda; VEGF geninin 3 ayrı polimorfizmi incelenmiştir. Çalışmamızda ; ilk anlamlı sonuç TPC hasta grubunda VEGF 634 değişimi için görüldü. Bu değişim GG genotipinin TPC' lu hastalarda 6 kat risk artışına neden olduğunu göstermektedir. Aynı şekilde MNG ve TMNG' li hastalardada 4.8 kat risk artışına neden olduğunu gösterdik.

Diğer VEGF değişimleri açısından, istatistiksel analize göre hasta grupları ve kontrol grubu arasında allel ve genotip dağılımları bakımından ilişki bulunamamıştır. (İstatistiksel olarak anlamlılık $p < 0.05$ için geçerlidir).

Her 3 hasta grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişim, 634 değişimidir. Diğer VEGF 2578 ve 936 da herhangi bir değişim saptanamamıştır. Her 3 hasta grubunda aynı genetik değişikliğin saptanması ilgi çekicidir.

VEGF'nin anjiyogenezin potent bir uyarıcısı olduğunu vurgulayan Hsiao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada VEGF artışının üç fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmiyle ilişkili olduğunu ifade etmektedirler. Bu SNP'ler VEGF için; -2578 C/A, -634 G/C ve + 936 C/T'dir. A alleli (-2578 C/A (SNP rs699947)) kontrol grubuna göre tiroid kanserleri için risk artışı yapmaktadır. Bu genetik analize göre risk artışı sadece erkek hastalardadır fakat kadın hastalarda bulunmamaktadır. Erkeklerdeki bölgesel lenf nodu metastazı ve tiroid kanser gelişiminde de A alleli riski arttırmaktadır (74).

Bizim çalışmamızda tiroid hastalıklarında VEGF 634 gen değişimi olduğunu saptadık. Literatürde TPC' lu hastalarda farklı gen değişimleri bildirilmiştir. Bu farklılık etnisite ile ilgili olabilir. Bu neden le aynı etnik gruptan hastaları yaş ve cinslerine göre ayırıp değerlendirmek yararlı olabilir. Bu arada TPC' li hastalardaki risk artışının benign hastalardan (MNG, TMNG) daha yüksek olması malign hastalıklarda VEGF gen polimorfizminin daha anlamlı olduğunu ispatlamaktadır.

TNF- α kanser kaşekşisi ve endotoksik şokta yer alan bir sitokindir. Ana kaynağı makrofajlardır. Düşük konsantrasyonda nötrofilleri etkinleştirir ve bunların endotel hücrelerine yapışmasını artırır. Yüksek derişimlerde septik şoka aracılık eder, kaşektin gibi davranır, tümörlerin nekrozuna neden olduğu bildirilmiştir(55). Ayrıca yine düşük derişimlerde endotelial hücre çoğalması ve tubul oluşumunu sağlarken, yüksek derişimlerde tam tersi etki sağlamaktadır. Çeşitli tiroid hastaları (Graves v. s.) otoimmün bozukluklarla ilişkilidir. Çeşitli antiijenlere karşı oluşan

antikorlar bu kanıttır. Araştırmamızda serum TNF- α seviyelerini ölçerek benign ve malign tiroid hastalarında etyopatogeneze bu sitokinin yerini araştırmak istedik.

Çalışmamızda; TPC' li, MNG' li ve TMNG' li gruplar ile sağlıklı kontrol grupları arası anlamlı farklılıklar tespit ettik. TPC' li occült olan ve olmayan grupları karşılaştırdığımızda serum TNF- α seviyeleri açısından bir fark saptamadık. TPC' li kapsül invazyonu yapan ve yapmayan gruplar karşılaştırıldığında serum TNF- α seviyeleri açısından bir fark saptamadık. Yine TPC' li AMES risk skorlaması yüksek ve düşük grup karşılaştırıldığında TNF- α seviyeleri açısından bir fark saptamadık.

Pang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada TNF- α ve TGF-beta 1' in tiroid papiller karsinomunda antiproliferatif etkili olduğunu ifade etmektedirler. TGF-beta 1' in foliküler hücrelere etki ederek TNF- α ile beraber, tiroid papiller karsinomunda antiproliferatif etkili olduğunu belirtmişlerdir. Fakat bu çalışmalarında TNF- α 'nın antiproliferatif etkisinin, TGF-beta 1' in tiroid papiller kanser hücrelerindeki otokrin aktivitesine bağlı olmadığı sonucuna varmışlardır.(75)

Şentürk ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 4 grup hastada serum sitokin seviyelerine bakmışlar. Bu gruplar; 14 gravesli, 9 toksik nodüler guatrli, 27 toksik multinodüler guatr ve 30 kontrol ötiroid hastadan oluşmaktadır. Hipertiroidizmi gruplar ile ötiroid gruplar arası fark saptamışlar, hipertiroidili grupta serum IL-8 ve TNF- α seviyesinde önemli artış saptamışlardır. Çalışma sonunda hipertiroidili hastalardaki serum sitokin seviyesinin çalışmadaki diğer tiroid hastalıklarından daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır.(61)

Kamaun –Krichen ve arkadaşlarının Tunus halkında 106 gravesli ve 190 kontrol gruplu yaptığı bir metaanalizde TNF- α gen polimorfizmlerine bakılmış. Bu çalışmada graves hastalığı gelişiminde gen polimorfizmi ilişkisi araştırılmış ve sonuç olarak Tunus halkı TNF-308 A Allelinin, graves hastalığı patogenezinde bir risk oluşturduğunu bildirmişlerdir.(76)

Yaptığımız çalışmalar sonucunda ve literatür bilgileri ışığında TPC' li hastalar ile hipertiroidi ile seyreden hastalarda serum TNF- α seviyeleri açısından yükseklikler oluşabileceğini söylebiliriz. Bunun yanında diğer benign tiroid hastalıklarında (MNG, TMNG v. s.) çalışmamızda fark saptadığımızdan dolayı TNF- α seviyeleri arasında bir anlamlılık düşünülebilir. TPC' li occült olan ve olmayan, kapsül invazyonu olan ve olmayan gruplarda fark saptamadığımızdan dolayı TNF- α seviyesinin tümör yayılımında etkili bir faktör olmadığı sonucunu

çıkardık.Fakat yayılımında rolü olmadığını net olarak ortaya koyabilmek için aynı etnik gruplardan, daha fazla hasta sayısı ile daha spesifik subgruplar çıkararak ileri araştırmalar yapmak gerekmektedir.

IL-8, TNF- α gibi proinflamatuvar bir sitokindir. IL-8' in kaynağı monosit, makrofaj, fibroblast, keratinosit ve endotel hücreleridir.IL-8 hedef hücrelerde büyümeden çok fonksiyonları üzerine etkilidir. Nötrofillerin aktivasyonu, degranülasyonu sağlar ve anjiogenezde rolü vardır.IL-8' in endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyararak yeni kan damarlarının oluşumunu uyardığı artık bilinmektedir. Buda organogenez,yara iyileşmesi, tümör büyümesi ve metastazlarda etkili olabileceğini düşündürmektedir (58- 61).

Ancak bizim çalışmamızda; serum IL-8 seviyeleri ile hasta grupları arası anlamlı farklılık yoktu. TPC' li hastalarda occült olan ve olmayan gruplar ile serum IL-8 seviyeleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı bir fark saptamadık. TPC' li hastalarda kapsül invazyonu yapan ve yapmayan gruplar ile açısından IL-8 AMES risk skorlaması yüksek grup ile düşük grup arasında karşılaştırma yaptığımızda anlamlı fark saptadık.

Bassowski ve arkadaşları, insan tiroisitlerinde , aktive T ve B lenfositlerden sitokin sentezlenebildiğini savunarak serum IL-6,IL-6 reseptörü ve IL-8 seviyelerinin gravesli hastalarda ,tedavi öncesi ve 8 haftalık tedavi sonrası belirgin yükseldiğini bildirmişlerdir (77)

Bu arada Şentürk ve arkadaşları, hipertroidili hastalarda IL-8 ve TNF- α seviyelerini yüksek saptamışlardır(61).

Chen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 60 sağlıklı kontrol ve 95 ilerlemiş gravesli hastada TNF- α , IL-6 ve IL-8 için gen polimorfizmlerini incelemiştirler.Kontrol ve hasta grupları arasında gen polimorfizmi açısından bir fark saptamamışlardır.(58)

Yaptığımız çalışmada proinflamatuvar bir sitokin olan aynı zamanda anjiogenezde önemli rolü olan IL-8 seviyelerini hipertroidili ve TPC' li hasta gruplarında yüksek bulacağımızı umuyorduk ancak böyle bir yükseklik saptamadık . TPC' li hastalardaki kapsül invazyonu yapan ve yapmayan gruplar arası fark olması bize bu sitokinin tümör oluşumundan çok yayılımında etkili olabileceğini düşündürdü . Yaptığımız çalışmada; bütün bu sitokin sonuçları arasında gözlenen

değişiklik ve literatür ile olan çelişkiler dikkate alındığında hasta sayısı düşüklüğü olabileceğini, etnik köken ve cins ayrımını gözetmek gerekebileceğini, doku düzeylerinin tayini gibi daha ileri çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Tiroidin MNG' li hastalarıyla TMNG' li, TPC' li hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum ET konsantrasyonları arası anlamlı derecede fark vardır. Tiroidektomi ameliyatları esnasında tiroid doku örnekleri alarak buradan yapılabilecek ET seviyesi tespiti ile TPC' li belkide TMNG' li hastalarda da sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı ET seviyesi farkı saptanabilir. TPC' lu okkült olan ve olmayan, kapsül invazyonu yapan ve yapmayan , AMES risk skorlaması yüksek olan ve olmayan gruplar arası serum ET konsantrasyonları açısından bir fark yoktur.Bu durum serum ET seviyesinin TPC'nın agresif seyri ile ilişkisi olmadığını düşündürmektedir.

2. TPC' lı hastalarda; serum NO seviyesi sadece TMNG' li hastalara göre anlamlı derecede yüksek idi. Bu durum tümör dokusunda tümör hücrelerine karşı artan makrofajlarda ve diğer immün hücrelerde TNF- α ' nın iNOS' u indükleyerek NO üretimini artırması ve onunda tümör hücrelerinin yıkımını kolaylaştırarak antitümöral etkiye katkı sağlaması ile ilgili olabilir. Bu arada TPC' lu hastalarda tümörün agresiflik ve prognostik özelliklerine göre oluşturulan alt gruplarda gruplar arasında çalışmamızda serum NO konsantrasyonları açısından bir fark yoktur.Bu durum NO'in tümör hücrelerinde yıkımı artırıcı etkisi ile ilgili olabilir.

3. MNG' li, TMNG' li, TPC' li hastalarla sağlıklı kontrol grupları arası serum VEGF seviyeleri açısından da anlamlı bir fark saptayamadık.Tiroid dokusunda tirositlerde ve endotel hücrelerinde VEGF' nin 7 alt tipi olduğu bilinmektedir. Tümör yayılımında önemli olan VEGF A gibi alt tiplerin izole olarak araştırılması ve serum örnekleri yerine doku çalışması daha anlamlı olabilir. Alt grup analizlerinde de fark olmadığı sonucuna vardık. Bu gruplar da da benzer doku çalışmaları daha geniş bir örneklem üzerinde yapılmalıdır.

4. VEGF gen polimorfizmini araştırıldığında ; TPC' li, MNG' li, TMNG' li hastalardaki VEGF634 gen değişimindeki GG genotipinin bu hastalıkların gelişiminde bağımsız risk faktörleri olduğu görülmektedir.VEGF 634 gen değişimindeki GG genotipi TPC de 6 kat, MNG ve TMNG' de 4.8 kat risk

oluşturmaktadır. Benign hastalıklarda VEGF 634 gen değişiminin GG genotipi aynı oranda risk artışı yapmaktadır. Bu değişimdeki GG genotipi TPC, MNG, TMNG hastalarında genetik marker olarak kullanılabilir.

5. TPC' li , MNG' li, TMNG' li hastalarla sağlıklı kontrol grupları arası, serum TNF- α seviyeleri açısından anlamlı fark olduğunu gördük. Başlıca kanser kaşekşisi ve endotoksik şokta yer alan başlıca kaynağı makrofajlar olan TNF- α ' nın düşük dozlarda nötrofilleri aktifleştirdiği yüksek dozlarda da tümörü nekroza uğrattığı bilinmektedir. Nötrofillerin aktifleşmesi gibi immünolojik olaylarda yer alabildiğinden benign tiroid hastalıklarının etyopatogenezinde de yer alması olası bir sitokindir. Tümör hücrelerinde nekroza yol açmasından dolayı tiroid papiller karsinomda da artmaktadır. TPC' li okkült olan olmayan, kapsül invazyonu yapan yapmayan, AMES skoru yüksek olan ve düşük olan alt gruplar arasında serum TNF- α seviyeleri açısından bir fark saptamadık. Bu TNF alfanın tümörde nekroik değişklikler yaratıcı etkisi ile ilgili olabilir.

6. Çalıştığımız hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubu arasında serum IL-8 seviyeleri açısından bir fark bulunmadı. TNF- α gibi proinflatuar bir sitokin olan aynı zamanda endotel hücrelerinin proliferasyonunu arttırarak anjiogeneizde önemli rol oynayan IL-8 TPC' li hastalarda agresifliği değerlendirmeye yarayan kapsül invazyonu ve AMES risk skoruna göre oluşturulan gruplar arasında anlamlı fark gösterdi. Bu durum IL-8' in anjiogenetik etki ile tümör yayılımını kolaylaştırabileceğini düşündürmektedir.

7.ÖZET

Giriş: Günümüzde çeşitli tiroid hastalıklarından dolayı şifa arayan hastalar için tedavi etme dışında biz hekimler, hastalıkların etyopatogenezlerine yönelik yapılan çalışmalarla çok sayıda veri elde etmekteyiz. Araştırmamızın temel amacı; genel anlamda tiroid hastalıklarında ve TPC'lerinde olmak üzere kanserli hastalarda etyopatogenezde rol aldığı üzerinde durulan NO, ET, VEGF, TNF- α ve IL-8 düzeylerinin kantitatif ölçülmesi; bunların birbiriyle olan ilişki ve etkileşimlerinin incelenmesi idi. Ayrıca tiroid hastalıklarıyla ilişkili VEGF gen polimorfizminin olup olmadığını da araştırmaktı.

Metod: Bu çalışmada 40 MNG, 40 TMNG, 40 TPC ve 40 sağlıklı kontrol grubunda serum NO, ET, VEGF, TNF- α ve IL-8 seviyeleri ölçüldü. Ayrıca bu kişilerde VEGF geninin polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelendi.

Sonuçlar: MNG'li hastalarla TMNG'li, TPC'li ve sağlıklı kontrol grubu arası serum ET konsantrasyonları arasında anlamlı fark vardır. TPC'li hastalarla TMNG'li hastalar arasında ise serum NO konsantrasyonları arası anlamlı fark vardır. TPC'li, MNG'li TMNG'li hastalarla sağlıklı kontrol grubu arası serum TNF- α seviyeleri açısından anlamlı derecede fark söz konusu idi. Serum IL-8 ve VEGF seviyeleri açısından hasta ve sağlıklı kontrol grupları arası bir fark saptanmadı. TPC li hastaların alt gruplarında; AMES sınıflamasına göre yüksek risk skoru ve kapsül invazyonu olan hastalarda tek farklılık serum IL-8 seviyesindedir.

TPC, MNG, TMNG gelişiminde VEGF C634G gen değişimi bağımsız risk faktörü olarak yorumlandı.

Sonuç olarak; serum ET, NO ve TNF- α seviyeleri genel anlamda tiroid hastalıkları ve TPC olmak üzere kanser hastalıklarının tanısında ve takibinde faydalı bir belirteç olabilir. TPC' lı hastalarda serum IL-8 seviyeleri ilerlemiş uzak metastazlı, prognozu kötü hastalarda bir belirteç olarak kullanılabilir. Bu sonuçları netleştirmek için uzun süreli takip ve daha geniş hasta popülasyonu içeren ve doku düzeylerinin tayin edildiği çalışmalara ihtiyaç vardır. VEGF C634G gen değişimi genel anlamda tiroid hastalıklarının gelişiminde bağımsız risk faktörü oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler: Tiroid, ET, NO, VEGF, TNF- α , IL-8, polimorfizm

8.ABSTRACT

Introduction: Recently, for the patients looking for remedy because of the different types of the thyroid diseases we the doctors ,besides the treatment,have obtained a number of data from the researches on the ethiopathogenesis of the disease.The aim of our study is to investigate the the association and the interactions between serum NO,ET,VEGF,TNF- α and IL-8 in we wanted to evaluate thyroid diseases and particularly TPC and additionally, whether VEGF gene polymorphism has a relation with thyroid diseases .

Method: In this study, serum NO,ET,VEGF,TNF- α and IL-8 levels in 40 MNG,40 TMNG, 40 TPC and 40 healthy control patients were measured and we also studied about VEGF C634G, C2578A ve C936T polymorphisms in these groups by PCR-RFLP method.

Results: The serum ET concentration was significantly different between the patients with MNG and the patients with TMNG, TPC and the healthy control group. Serum NO concentration of the patients with TPC and the patients with TMNG was also significantly different.Serum TNF- α levels between the patients with TPC, MNG, TMNG and the healthy control group was significantly different.No significant difference for IL-8 and VEGF levels was found among groups. In subgroups of TPC patients only significant differences were only detected for IL-8 levels in capsullary invasion group and high risk patients according to AMES classification.

C634G gene change generates independent risk factor during the development of TPC, MNG, TMNG.

Conclusion: Serum ET, NO and TNF- α levels may be a useful marker in diagnosis and follow up of thyroid diseases and TPC . Serum IL-8 levels may be useful marker for patients with TPC who has metastasis and poor prognose. However, clarification this hypothesis needs larger studies with long-term follow-up are necessary. VEGF C634G gene change is an independent risk factor in development of thyroid diseases.

Key words:Thyroid,ET,NO,VEGF,TNF α ,IL-8, Polymorphism

9.KAYNAKLAR

1. Sadler GP, Clark OH. Thyroid and parathyroid. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC(ed). Principles of Surgery. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1999. 1661-1687.
2. Clark T, Savı N. History, ontogeny and anatomy. Wener I (ed). The Thyoid. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. 1-5.
3. Basedow CA. Exophtalmos durch hypertrophie des Zelgewebes in der Augenhohle. Wochenschr Heilkd 1840; 197-220.
4. George R, Murray BA., Camb MB. Notes on the Treatment of Myxoedema by Hypodermic Injections of an Extract of the Thyroid of a Sheep. *British Medical Journal* 1891; 796-797.
5. İşgör A. Fonksiyonel embriyoloji. İşgör A (ed). Tiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1.baskı. İstanbul: Avrupa tıp kitapçılık; 2000. 3-12.
6. Yılmaz C.Embriyoloji. Yılmaz C (ed). Tiroit, Paratiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1.baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi; 2005. 6-8.
7. Henry JF. Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and recurrent and external laryngeal nerves. Clark O.H, Duh Q.Y (ed). Textbook of endocrine surgery. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1997.8-14.
8. Sanders LE, Cady B. Embryology and developmental abnormalities. Cady B, Rossi RL(ed). Surgery of the Thyroid and Parathyroid Glands. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders comp; 1991. 5-12.
9. Buckman LT. Lingual Throid. Laryngoscope 1986; **46**:765-784.
10. Skandalakis JE,Skandalakis PN,Skandalakis LJ.Anatomy of the thyroid gland. İn Surgical Anatomy and Technique. Springer-Verlag .New York.1995;31-44
11. Dere F.Glandula Thyroidea ve Parathyroidea. Anatomi 1990; 497-502.
12. Henry JF.Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and rekürrent and external laryngeal nerves.Clark OH,DuhQY(ed).Textbook of Endocrine Surgery. WB Saunders .Philadelphia.1997; **2**: 8-14
13. Kuran O.Sistematik anatomi.3.baskı.Filiz kitabevi .İstanbul.1993; bölüm 7:631-632
14. Tezelman ST,Siperstein AE.Signal transduction in thyroid neoplasms.Clark OH,Duh QY (ed):Textbook of Endocrine Surgery.WB Saunders. Philadelphia. 1997; **28**: 214-227

15. Kaynaroğlu ZV. Tiroid fizyolojisi ve fonksiyon testleri. Sayek İ. (ed). *Temel Cerrahi. 2. baskı*. Güneş Kitabevi. Ankara. 1996; Bölüm: **15**: 1523-1524
16. Guyton AC: Tiroid bezi ve Metabolik Hormonlar. *İn Tıbbi Fizyoloji. 3. baskı*. Nobel/W.B.Saunders .İstanbul. 1989; **2**: 1293-1309
17. Hanks JB. Thyroid. Sabiston D.C (ed). *Textbook of Surgery*. 16th ed. Philadelphia: WB Saunders Comp; 2001. 603-628.
18. İşgör A. Multinodüler guatr. İşgör A (ed). *Tiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1. baskı*. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık; 2000. 233-238.
19. Day AT, Chu A, Hoang HG. Multinodular Goiter. *Otolaryng Cli N Am* 2003; **36**: 35-54.
20. Peter HJ, Burgi U, Gerber H. Pathogenesis of nontoxic diffuse and nodular goiter. Brawerman LE, Utiger RD (ed). The thyroid. 7th ed. *New York: Lippincott-Raven*; 1996. 890-908.
21. Molitch ME, Beck JR, Deisman M. The cold thyroid nodule: analysis of diagnostic and therapeutic options. *Endocr Rev* 1984; **5**: 184.
22. Van Soestbergen MJM, Van der Vijver J, Graafland AD. Recurrence of hyperthyroidism in multinodular goiter after long-term drug therapy: A comparison with Graves' disease. *J Endo Invest* 1992; **15**: 797.
23. O'Donnell AL. Hyperthyroidizm: Systemic Effects and Differential Diagnosis. Falk SE (ed). *Thyroid Disease*. 2nd ed. Philadelphia: *Lippincott Raven*; 1997. 241-252.
24. Oğuz M, Cihan A, İşgör A. Tiroiditler. İşgör A (ed). *Tiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1. baskı*. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık; 2000. 465-473.
25. Hurng-Seng Wu J, Young M.T, Clark O.H. Tiroid Kanserlerine Genel Bakış. İşgör A (ed). *Tiroit hastalıkları ve Cerrahisi*. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2000; bölüm **8**: 367-372
26. Baskan S, Koçak S. Papiller Tiroid Karsinomu. İşgör A (ed). *Tiroit hastalıkları ve Cerrahisi*. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2000; bölüm **8**: 383-426
27. Collins SL. Thyroid cancer: controversies and etiopathogenesis. Falk SE. *Thyroid Disease: Second Edition*. *Lippincott Raven*. Philadelphia. 1997; 495-564
28. Kukora JS. Tiroid Kanseri. Cameron JL (ed). *Güncel Cerrahi Tedavi-1*. Avrupa Tıp Kitapçılık. İstanbul. 2001; **11**: 583-589

29. Blake Cady MD. Predictors of Thyroid Tumor Aggressiveness. Clark OH, Duh OY (ed) Textbook of Endocrine Surgery. *WB Saunders*. Philadelphia. 1997; **26**: 197-216
30. Sadler GP, Clark OH. Thyroid and parathyroid. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC: Principles of surgery, 7th ed. *McGraw-Hill*. New York. 1999; **36**: 1661-1687
31. Beagie JM. Principles of thyroid surgery. *Pitman Medical Publishing Co.* Oxford. 1975; 32-33
32. Hempelmann LH, Pifer JW, Burke GJ and Ames ME. Neoplasms in persons treated with x-rays in infancy for thyroid enlargement. *J nat Cancer Inst.* 1967; **38**: 31-36
33. Merino M, Boice J, Ron E, Ain KB, Alexander R, Norton J, Reynolds J. Thyroid cancer: A Lethal Endocrine Neoplasm. *Annals of Internal Medicine*. 1991; **115**: 133-147
34. Rossen Y, Rosenblatt P, Saltzman E. Intraoperative pathologic diagnosis of thyroid neoplasms. *Cancer*. 1990; **66**: 2001-2006
35. Ünal A. *Klinik Cerrahi Onkoloji*. Tiroid Kanseri 1997; **27**: 351-360
36. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; **332**: 411-5
37. Yanagisawa M, Masaki T. Molecular biology and biochemistry of endothelins. *Trends Pharmacol Sci* 1989; **10**: 378-8.
38. Hahn WA, Resink TJ, Kern F, Bühler FR. Peptide vasoconstrictors, vessel structure and vascular smooth muscle cell proliferation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; **22**(Suppl 5): 37-43
39. A. Bagnato, F. Spinella; Emerging role of endothelin-1 in tumor angiogenesis. *Trends Endocrinol. Metab* 2002; **14**: 44-50.
40. Bell KM, D.J. Chaplin; The effect of oxygen and carbon dioxide on tumor cell endothelin-1 production. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; **31** (Suppl. 1); 537-540.
41. Edwards AD. The pharmacology of inhaled Nitric oxide. *Arch Dis Child* 1995; **72**: F127-130.

42. Palmer RM, Ashton DS, Moncada J. Vascular Endothelial Cells Synthesize Nitric Oxide from L-Arginin. *Nature* 1988;**333**:664-6
43. Beckman JS, Ye YZ, Anderson PG, Draski DV.: Extensive nitration of protein tyrosines in human atherosclerosis detected by immunohistochemistry. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1994;**375**:81-8.
44. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxynitrite formation and action. *Hypertension* 1996;**28**:488-93.
45. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993;**268** (17):1231-35.
46. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacology* 2004;**68**:1017-1021
47. Yamaguchi R et al. Expression of vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998;**28**:68-77
48. Monacci W et al. Expression of vascular permeability/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am j Physiol.* 1993;**264**:995-1002.
- 49 Zachary I et al. Signalling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res* 2001;**49**:568-581
50. Zachary I et al. Signalling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res* 2001;**49**:568-581
51. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000;**26**:561-569
52. Kliche S et al. VEGF receptor signaling and endothelial function. *JUBMB Life* 2001;**52**:61-66
53. Shibuya M. Structure and dual function of vascular endothelial growth factor receptor-1(Flt-1). *Int J Biochem Cell Biol* 2001;**33**:409-420

54. Dvorak HF et al. Vascular permeability factor/ vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;**146**:1029-1039
55. Levinson W.Jawetz E.Bağışıklık Yanıtının Hücresel Temeli.Özgünen T (ed).Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji.Güneş Kitabevi.Ankara.2004;bölüm **58**:434-437
56. Kılıçturgay K.Sitokinler. *İmmünolojiye Giriş*.Güneş Kitabevi.Bursa.1994;72-84
- 57.Özbal Y.Sitokinler.*Temel İmmünoloji*.Nobel Tıp Kitabevleri.İstanbul.2000;bölüm **4**:150-169
58. Chen RH.Chen WC.Wang TY.Tsai CH.Lack of association between pro-inflammatory cytokine (IL6-8,TNF alpha)gene polymorphism and graves disease.*Int J Immunogenet* 2005 dec;**32(6)**:343-7
- 59.Chen RH.Cheng CT.Chen WC.Tsai CH.Tsai FJ.Proinflammatory cytokine gene poly morphisms among hashimoto'thyroiditis patients *Clin lab anal*.2006;**20(6)**:260-60
60. Chen K.Wei Y.Sharp GC.Braley- Mullen H.Decreasing TNF-alpha results in less fibrosis and earlier resolution of granulomatous experimental autoimmune thyroiditis *J Leukoc Biol*.2007;**81(1)**:306-14
61. Şenturk T.Kozacı LD.Kadikoylu G.Balman L.Proinflammatory cytokine levels in hiperthyroidism *Clin Invest Med*.2003apr;**26(2)**:58-63
- 62.Donckier JE.Michel L.Van Beneden R.Delos M.Havaux X.Increased expression of endothelin-1 and its mitogenic receptor ETA in human papillary thyroid carcinoma.*Clin Endocrinol (Oxf)*.2003 sep;**59(3)**:354-60
63. Gasinska T.dec R.Slomion U.Starzewski JEndothelin (ET-1) in patients with non-toxic nodular goiter.*Pol Arc Med Wewn*. 2004Oct;**112(4)**:1167-71
- 64.Donckier JE.Michel L.Delos M.Havaux X.Van Beneden R.İnterlelated overexpression of endothelial and inducible nitricoxide synthases,endothelin-1 and angiogenic factors in human papillary thyroid carcinoma.*Clin Endocrinol (Oxf)*.2006 jun ;**64(6)**:703-10
65. Ohshima H,baitsch H. Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res* 1994;**305**:253-264.

66. Nakamura Y, Yasuoka H, Zuo H, Takamura Y, Miyauchi A, Nakamura M, Kakudo K. Nitric oxide in papillary thyroid carcinoma: induction of vascular endothelial growth factor D correlation with lymph node metastasis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Apr; **91(4)**:1582-5.
67. Colin IM, Nava E, Toussaint D, Maiter DM, Vandenhove MF, Lüscher JF, Ketelslegers JM, Jameson JC. Expression of nitric oxide synthase isoforms in the thyroid gland : evidence for a role of nitric oxide in vascular control during goiter formation. *Endocrinology* 1995 Dec; **136 (12)**:5283-90
68. Patel A, Fenton C, Terrell R, Powers PA, Dinauer C, Tuttle RM, Francis GL. Nitrotyrosine , inducible nitric oxide synthase (iNOS) , and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) are increased in thyroid tumors from children and adolescents. *J Endocrinol Invest* 2002 Sep; **25(8)**: 675-83.
69. Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z, et al. Synthesis of nitric oxide from a terminal guanidino nitrogen atom of L-arginine: A molecular mechanism regulating cellular proliferation that targets intracellular iron. In: Moncada S, Higgs EA (eds) Nitric oxide from L-arginine: A Bioregulatory System: Proceedings of the symposium on biological importance of nitric oxide. Amsterdam: *Excerpta Medica* 1990;189-223.
70. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; **6**:3051-64.
71. Klubo-Gwiedzinski J, Junile R, Kopczyńska E, Juraniec O, Kardymowicz H. The comparison of serum vascular endothelial growth factor levels between patients with metastatic and non-metastatic thyroid cancer and patients with non toxic multinodular goitre. *Eur J Endocrinol* 2007 Oct; **157(4)**:521-7
72. Klein M, Catargi B. VEGF in physiological process and thyroid disease *Ann Endocrinol (Paris)* .2007 Dec; **68(6)**:438-48. Epub 2007 Nov 7.
73. Yu XM, Lo CY, Lam AK, Leung P, Luk JM. Serum vascular endothelial growth factor C correlates with lymph node metastases and high risk tumor profiles in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg* 2008 Mar; **247(3)**: 483-9.
74. Hsiao PJ, Lu MY, Chiang FY, Shin SJ, Tai YD, Juo SH. Vascular endothelial

growth factor gene polymorphism in thyroid cancer. *J. Endocrinol* 2007 NOV **195(2)**:265-70.

75. Pang XP, Yoshimura M, Wang J, Dubinett SM; TNF-alpha-induced antiproliferation is not dependent on the autocrine of TGF-beta 1 in a thyroid cancer cell line. *Lymphokine Cytokine Res.* 1994 Apr; **13(2)**; 93-7.

76. Kammoun –Krichen M, Bougacha-Elleuche N, Rebal A, Mnif M, Abid M, Ayadi H. TNF gene polymorphisms in Graves disease: TNF-308 A/G meta-Analysis. *Ann Hun Biol* 2008 Nov; **35(6)**:656-61

77. Bassowski A, Urban M. Serum Levels of cytokines in children and adolescents with Graves diseases and non-toxic goiter. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001 Jun; **14(6)**: 741-7.

78. Collins, F.S., Guyer, M.S., Chakravarti, A., (1997). Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science*. **278(5343)**:1580-1