

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAPİLLER TİROİD KANSERİNDE SAPTANAN GEN EKSPRESYON
DEĞİŞİKLİKLERİNİN TÜMÖROGENEZ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Elif Büşra YILMAZ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ

2018

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAPİLLER TİROİD KANSERİNDE SAPTANAN GEN EKSPRESYON
DEĞİŞİKLİKLERİNİN TÜMÖROGENEZ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Elif Büşra YILMAZ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU

KOCAELİ

2018

SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

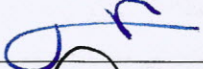
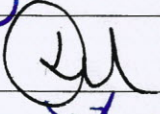
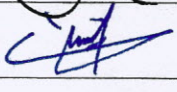
Tez Adı: Papiller Tiroid Kanserinde Saptanan Gen Ekspresyon Değişikliklerinin Tümüroenez ile İlişkinin İncelenmesi

Tez yazarı: Elif Büşra YILMAZ

Tez savunma tarihi: 30/01/2018

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN	Doç. Dr. Naçir Çilincik	
ÜYE(DANIŞMAN)	Yrd. Doç. Dr. Deniz S. Akkoyunlu	
ÜYE	Doç. Dr. Cevit Işık YAKUZ	
ÜYE		
ÜYE		

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

30/01/2018

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖZET

Papiller Tiroid Kanserinde Saptanan Gen Ekspresyon Değişikliklerinin Tümörögenез ile İlişkinin İncelenmesi

Amaç: Papiller tiroid kanseri (PTK), tiroid kanser tipleri arasında en yaygın olanıdır. PTK'lerin prognozları oldukça iyidir fakat agresif formlara da dönüşebilirler. Ayrıca uzak metastazı olan hastalar geleneksel tedavilerden faydalanamazlar. Bu nedenle, tanı, prognostik ve terapötik biyolojik belirteç olarak kullanılabilen genetik molekülleri tanımlamak gereklidir. Bu çalışmada papiller tiroid kanser örnekleri ile normal tiroid örnekleri arasında ekspresyon farklılığı gösteren genleri tanımlamayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmamızda 2016-2017 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na, Kocaeli Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndan yönlendirilen 20 papiller tiroid kanseri hastası ve 10 normal tiroid hastası ile gen ekspresyon mikroarray çalışması yapıldı. IPA analizi ile PTK ile ilgili sinyal yollarını ve PPE (protein-protein etkileşimi) ağları oluşturularak hastalığa sebep olan anahtar genleri tespit ettik.

Bulgular: Papiller tiroid kanseri dokularıyla normal tiroid dokuları karşılaştırıldığında 1554 genin ekspresyonu artarken, 912 genin ekspresyonunun azaldığı tespit edildi. Pıhtılaşma sistem yolağı en anlamlı yolak olarak bulundu ve SERPINA1 ekspresyonu en fazla artan gen olarak tespit edildi. PPE gen ağında saptanan anahtar genler şunlardır: CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU ve MDM2.

Sonuç: SERPINA1, CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU ve MDM2 PTK tanısında biyobelirteç olarak kullanılabilir. Verilerimiz PTK tanı ev tedavisi için yol gösterici niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Gen ekspresyon mikroarray, Papiller tiroid kanseri, tümör oluşumu

ABSTRACT

An Investigation of the Relation between Identified Gene Expression Changes in Papillary Thyroid Cancer and Tumorigenesis

Objective: Papillary thyroid cancer (PTC) is the most common type of thyroid malignancies. PTC has good prognosis, but it can dedifferentiate into aggressive forms. Besides, patients with distant metastasis can not benefit from the traditional therapies. Therefore, it is essential to identify genetic molecules that can be used as a diagnostic, prognostic, therapeutic biomarker. In this study, we aimed to identify differentially expressed genes (DEGs) between PTC samples and normal controls.

Metod: In our study, 20 patients who had been diagnosed with papillary thyroid carcinoma and 10 patients who had a diagnosis of normal thyroid for control group guided were studied by gene expression microarray to Kocaeli University General Surgery Department from Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics between the years of 2016 and 2017. We performed to discover the signaling pathways associated with PTC and construct protein-protein interaction (PPI) networks to find out key genes for the disease.

Results: 1554 up-regulated, 912 down-regulated DEGs were identified in PTC samples compared to normal thyroid tissues. Coagulation system was determined as the most significant pathway and SERPINA1 was the most up-regulated gene of this pathway. CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU and MDM2 were key nodes in the PPI networks.

Conclusions: SERPINA1, CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU and MDM2 were found to have potential for use as diagnostic biomarker for PTC. Our study may shed light on the diagnosis and treatment of PTC.

Key words: Gene ekspression microarray, papillary thyroid cancer, tumorigenesis

TEŞEKKÜR

Genetik alanında kendimi geliştirebilmek adına bana imkan kapılarını aralayan **Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Hakan SAVLI' ya,**

Çalışmalarım süresince deneyim ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan, her konudakiengin bilgisini esirgemeyen **Doç. Dr. Naci ÇİNE' ye,**

Tez çalışmam süresince bilgi ve görüşleriyle beni yönlendiren, desteğini esirgemeyen, tez konumun belirlenmesi, çalışmalarımın yönlendirilmesinde bilgi ve önerilerinden faydalandığım danışman hocam **Yrd. Doç. Dr. Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU' ya,**

Tez çalışmamın deney aşamasında gerekli doku materyallerini elde edebilmem konusunda yardım ve desteğini esirgemeyen KOÜ Tıp Fakültesi Başhekimi **Prof. Dr. Nuh Zafer CANTÜRK' e,**

Çalışma sürecim boyunca bana her konuda destek ve yardımcı olan, sosyal hayatta da çok şey paylaştığımız değerli iş arkadaşlarım; **Uzm. Biyolog Nisa DEVRİM' e** ve **Gıda Mühendisi Elmas Tuna İSKENDEROĞLU' na** ve tüm laboratuvar ekibine,

İyi günde yanımda, kötü günde daha çok yanımda olarak desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çocukluk arkadaşlarım **Nergis ÇAVDAR KARAKELEK' e** ve **Ece ŞEN' e,**

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez aşamasında da bana hiçbir karşılık beklemeden her türlü maddi manevi desteği veren ve her zaman yanımda olan, evlatları olmaktan onur duyduğum canım babam **İsmail YILMAZ' a** ve sevgili annem **Nebahat YILMAZ' a,** desteklerini her zaman arkamda hissettiğim canım kardeşim **Mesut YILMAZ' a,** değerli abim **İhsan YILMAZ' a,** canım ablam **Sakine ONAY YILMAZ' a** ve her daim yanımda olduğundan ve olacağından emin olduğum, sonsuz sabır ile beni dinleyen ve beni destekleyen çok değerli ablam **Dilek YILMAZ SAKALILAR' a** ve ailemin küçük, büyük diğer tüm değerli üyelerine ayrı ayrı sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın bu aşamaya gelmesinde payı olan herkese ve yanımda olan tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Elif Büşra YILMAZ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÇİZİMLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1-GİRİŞ	1
2-GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kanserin Tarihçesi	2
2.2. Kanser İnsidansı	2
2.3. Kanserin Tanımı	4
2.4. Kanser Hücresinin Özellikleri	5
2.5. Kanser Gelişimi	6
2.6. Kanserin Genetik ve Kalıtım İle İlişkisi	9
2.7. Kanser Gelişiminde Etkili Olan Genler	10
2.7.1. Onkogen ve Protoonkogenler	11
2.7.1.1. Ras Ailesi	11
2.7.1.2. Myc Ailesi	11
2.7.2. Tümör Süpresör (Baskılayıcı) Genler	12
2.7.2.1. p53 Geni	12
2.7.2.2. Retinoblastoma geni (Rb)	12
2.8. Hücre Ölüm Mekanizmaları	13
2.8.1. Apoptoz	13
2.8.1.1. Kaspazlar	14
2.8.1.2. Apoptozda hücre içi sinyallerle tetiklenme	14
2.8.1.3. Apoptozda Hücre Dışı Sinyallerle Tetiklenme (Ölüm Reseptör Yolu)	15
2.8.2. Nekroz	16
2.9. Hücre Yaşam Döngüsü ve Kansere İlişkisi	17
2.9.1. Hücre Döngüsü	17
2.9.2. Kontrol Noktaları	19
2.10. Tiroid Glandı	20
2.10.1. Fizyolojisi	20
2.10.2. Embriyolojisi	21
2.10.3. Anatomisi	22
2.11. Tiroid Kanseri	22
2.11.1. Papiller Tiroid Kanseri	24
2.11.1.1. Epidemiyoloji	24
2.11.1.2. Patoloji ve Sınıflandırma	25
2.11.1.2.1. Klasik Tip Papiller Karsinom	26
2.11.1.2.2. Papiller Mikrokarsinom (Okult)	28
2.11.1.2.3. Kapsüllü Varyant	30
2.11.1.2.4. Solid Varyant	32
2.11.1.2.5. Folliküler Varyant	32
2.11.1.2.6. Uzun Hücreli (Tall cell) Varyant	33
2.11.1.2.7. Onkositik (Oksifil) Varyant	34
2.11.1.2.8. Kolumnar Hücreli Varyant	35
2.11.1.2.9. Diffüz Sklerozan Varyant	36
2.11.1.3. Etyoloji	37

2.11.1.3.1. Genetik Faktörler	37
2.11.1.3.2. Radyasyon	38
2.11.1.3.3. İyot	38
2.11.1.4. Papiller Tiroid Kanserinde Evreleme	38
2.11.1.4.1. TNM Evreleme Sistemi	39
2.11.1.4.1.1. Primer Tümör (T)	39
2.11.1.4.1.2. Bölgesel Lenf Gangliyonu (Node) (N)	39
2.11.1.4.1.3. Uzak Metastaz (M)	39
2.11.1.5. Tanı ve Tedavi	40
2.11.1.5.1. Tanı	40
2.11.1.5.2. Tedavi	41
2.11.1.5.2.1. Cerrahi Tedavi	41
2.11.1.5.2.2. Radyoaktif İyot Tedavisi (RAI)	41
2.11.1.5.2.3. Kemoterapi ve Hedefe Yönelik Tedaviler	41
2.11.1.6. Papiller Tiroid Kanserinin Moleküler Biyolojisi	42
2.11.1.6.1. Moleküler Belirteçler	42
2.11.1.6.2. Genetik Belirteçler	42
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	44
3.1. Yöntemler	44
3.1.1. Dokudan RNA İzolasyonu	45
3.1.2. RNA Kalite Kontrolü	46
3.1.3. cDNA Sentezi	47
3.1.4. cRNA Sentezi	48
3.1.5. Pürifikasyon	48
3.1.6. Hibridizasyon	49
3.1.7. İşaretleme ve Yıkama	50
3.1.8. Mikroarray Görüntü Tarama	50
3.1.9. Ekspresyon Analizi	50
3.1.10. Gen Ağı ve Altyol Analizleri	51
4. BULGULAR	52
4.1. Ekspresyonu Değişen Genler	52
4.2. Protein-protein Etkileşimi Ağ Analizi	53
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR DİZİNİ	69
ÖZGEÇMİŞ	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RNA: Ribo Nükleik Asit

Rb: Retinoblastoma

TNF: Tumor Necrosis Factor

AIF: Apoptoz İndükleyici Faktör

ATP: Adenozin trifosfat

AP1: Aktivatör Protein 1

CDK: Cyclin Dependent Kinase

CKI: Cyclin Kinase Inhibitory

T3: Triiyodotironin

T4: Tetraiyodotironin

TSH: Triroid Stimulan Hormon

TRH: TSH Releasing Hormone

FHIT: Fragile Histidine Triad

GTP: Guanozin Trifosfat

GDP: Guanozin Difosfat

ASP: Aspartik asit

Apaf-1: Apoptotic protease activating factor

USG: Ultrasonografi

İİAB: İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi

DTK: Differansiye Tiroid Kanseri

PTK: Papiller Tiroid Kanseri

TTF-1: Tiroid Transkripsiyon Faktör-1

PTC: Papillary Thyroid Cancer

GWAS: Genome Wide Association Study

FAP: Familyal Adenomatöz Polipozis

KV: Kribriform Varyant

APC: Adenomatosis Polipozis Coli

AJCC: American Joint Cancer Committee

UICC: Union International Contre le Cancer

RAI: Radyoaktif İyot

HMBE-1: Hektor Battiflora Mesothelial Cell Antibody

dNTP: Deoksi-Nükleotit Trifosfat

NTP: Nükleotit Trifosfat

cDNA: Complementary DNA

cRNA: Complementary RNA

Cy3: Cyanine 3

PCR: Polymerase Chain Reaction

DTT: Dithiothreitol

SEER: Surveillance Epidemiology End Results

DEGs: Differentially Expressed Genes

IPA: Ingenuity Pathway Analysis

PPE: Protein-protein Etkileşimi

PPI: Protein-protein Interaction

tPA: Doku plazminojen aktivatörü

ER α : Östrojen reseptör- α

AML: Akut miyeloid lösemi

ER: Estrogen Receptor

MDM2: Murine Double Minute 2

uPA: Urokinase Plasminogen Activator

PAI: Plasminogen Activator Inhibitors



ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 2.1. Uluslararası Kanseri Ajansı'nın 2012 yılı için yeni kanser tahminleri	3
Çizim 2.2. Metastaz ve kanser oluşumu	7
Çizim 2.3. Karsinogenezin aşamaları ve karsinojenik etkinin derecesi	8
Çizim 2.4. Apoptotik kaspazlar	14
Çizim 2.5. Apoptozun genel görünümü	15
Çizim 2.6. Apoptoz ve nekroz arasındaki morfolojik farklılıklar	17
Çizim 2.7. Hücre döngüsü fazları	18
Çizim 2.8. Siklinlerin Hücre Döngüsünde Sentez Aşamaları	19
Çizim 2.9. Tiroid bezinin anatomik yerleşimi	22
Çizim 2.10. Amerikan Ulusal Kanseri Enstitüsü SEER 2015 tiroid kanser verileri	23
Çizim 2.11. Papiller Tipte Tiroid Karsinomu, Klasik Tip	26
Çizim 2.12. Papiller Tipte Karsinom	27
Çizim 2.13. Papiller Karsinom, Klasik Tip	28
Çizim 2.14. Papiller Karsinom, Klasik Tip	28
Çizim 2.15. Okult Papiller Karsinom ve Metastatik Lenf Düğümü	29
Çizim 2.16. Erken Dönemde Okult Papiller Karsinom	30
Çizim 2.17. Başlangıç Şeklinde Okult Papiller Karsinom	30
Çizim 2.18. Papiller Karsinom, Kapsüllü Varyant	31

Çizim 2.19. Papiller Karsinom, Kapsüllü Varyant	31
Çizim 2.20. Folliküler Varyantlı Dev Papiller Karsinom	32
Çizim 2.21. Folliküler Varyantlı Papiller Karsinom	33
Çizim 2.22. Papiller Karsinom, Tall Cell Varyant	34
Çizim 2.23. Papiller Karsinom, Tall Cell Varyant	34
Çizim 2.24. Papiller Karsinom, Kolumnar Hücreli Varyant	35
Çizim 2.25. Papiller Karsinom, Diffüz Sklerozan Tip	36
Çizim 2.26. Papiller Karsinom, Diffüz Sklerozan Varyant	37
Çizim 3.1. Gen Ekspresyon Mikroarray Metodu Şematik Gösterimi	45
Çizim 4.1. Endokrin Sistem Düzensizliği, Gastrointestinal Hastalıklar ve İmmünolojik Hastalıklar ile İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 1)	55
Çizim 4.2. Kanser, Organ Yaralanmaları ve Anormallikler, Üreme Sistemi Hastalıklarıyla İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 2)	56
Çizim 4.3. Hücre Ölümü ve Sağ Kalımı, Hücresel Hareketler, Hücre Döngüsüyle İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 3)	57
Çizim 4.4. Kanser, Organ Yaralanmaları ve Anormallikler, Tümör Morfolojisiyle İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 4)	58
Çizim 4.5. Hücre morfolojisi, Organ morfolojisi, İskelet ve Kas Sistemi gelişimi ve fonksiyonlarıyla İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 5)	59
Çizim 4.6. Pıhtılaşma Sistemi Yolağı	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine Göre Türkiye'nin Durumu (Deri Dışında Kalan Kanserlerin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları)	3
Çizelge 2.2. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine Göre Erkeklerde En Sık Görülen İlk Beş Kanser Türünün Dağılımı	4
Çizelge 2.3. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine Göre Kadınlarda En Sık Görülen İlk Beş Kanser Türünün Dağılımı	4
Çizelge 2.4. Apoptoz ile nekroz arasındaki farklar	16
Çizelge 2.5. Diferansiyel Tiroid Kanseriinde TNM sınıflandırmasına göre evreleme	40
Çizelge 3.1. Tümör ve Kontrol Grubu	44
Çizelge 3.2. Tarama Cihazı Formatı	50
Çizelge 4.1. Ekspresyonu en çok artan 10 gen	52
Çizelge 4.2. Ekspresyonu en çok azalan 10 gen	53
Çizelge 4.3. IPA ile saptanan en önemli 5 gen ağı ve fonksiyonları	54
Çizelge 4.4. IPA kullanılarak tespit edilen en önemli 5 temel yolak	60

1.GİRİŞ

Tiroid kanseri endokrin organlarda en sık görülen kanser tipinden biri olup sıklığı giderek artmaktadır. Son yıllarda tiroid kanseri oluşumunda rol alan genetik değişimler hakkındaki bilgiler de hızla artış göstermektedir (Nikiforov 2002). Papiller tiroid kanseri, tiroid kanserlerinin yaklaşık %80' ini oluşturur. PTK' nın en yaygın görülen varyantları klasik, folliküler ve tall hücreli varyantlarıdır (Lloyd 2011). Papiller tiroid kanserinin başlangıcı ve ilerlemesi somatik mutasyonların aktivite olması veya baskılanması, gen ekspresyonundaki değişimler, gen metilasyonundaki değişimler gibi çeşitli genetik ve epigenetik değişikliklerin kademeli birikimi ile oluşur.

Papillar tiroid ve diğer tiroid kanser tiplerinde gen ekspresyon düzeylerinde çok farklı değişimler görülebilmektedir. Papiller tiroid kanseri hastaları üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda, RET/PTK yeniden düzenlenmeleri farklı oranlarda bulunmuştur (Nikiforov 2002). RAS mutasyonları papiller tiroid kanseri folliküler tiplerinde tanımlanmıştır. Papiller tiroid kanserinde, BRAF genindeki Val600Glu aminoasit değişimi, papiller tiroidin klasik ve uzun hücreli tiplerinde bulunmuştur. PAX8/PPAR γ yeniden düzenlenmesi ise, çoğu çalışmada, bazı folliküler adenomalarda %2-13 oranında ve papiller karsinomaların folliküler varyantlarının küçük bir kısmında %1 ile 5 oranında bulunmuştur. Ayrıca papiller tiroid kanserindeki çoğu mutasyonlar MAPK ve PI3-AKT yolunun etkilemektedir ve MAPK aktivasyonu tümör başlaması için oldukça önemlidir (Nikiforov 2002).

Tümörögenezdeki rolünün anlaşılması açısından normal ve kanserli dokularda birçok genin ifadesi gen ekspresyon belirleme yöntemiyle karşılaştırılabilir. Bu sayede hastalığın tanı ve tedavisini kolaylaştıran moleküler belirteçlerin olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada, papiller tiroid kanseri tümörögenezinde rol oynayan genlerin tanımlanması amacıyla tümör dokuları ile normal tiroid dokularının gen ekspresyon profilleri gen ekspresyon mikroarrayi kullanılarak karşılaştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

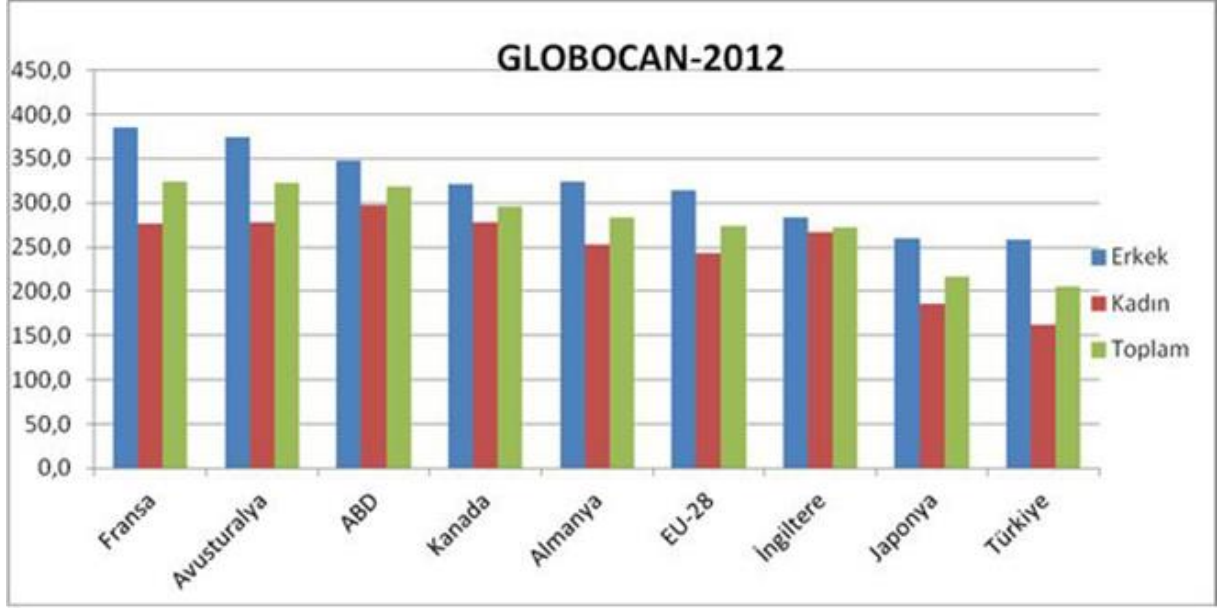
2.1. Kanserin Tarihçesi

Kanser kelimesinin kökeni “Tıbbın Babası” olarak adlandırılan Yunan doktor Hippocrates’ e (M.Ö. 460-370) aittir ve Hippocrates, tarihte ilk tanımlamasını meme kanseri ile yapmıştır. Yunanca “karkinos” teriminden türevlenen Latince karşılığı olan “kanser” terimi, ilk kez Galen (M.S.130-200) tarafından kullanılmıştır. Galen; tümörleri tanımlamak için “oncos (yunanca şişme)” terimini kullanmıştır. Hippocrates ise; ülser oluşturmeyen ve ülser oluşturan tümörleri tarif ederken “karsinoz” ve “karsinom” terimlerini kullanmıştır. Galen’ in kullandığı “oncos” kelimesi, kanser uzmanı anlamına gelen “onkolog” terimi olarak kullanılmaktadır (Trueba 2004).

2.2. Kanser İnsidansı

Türkiye kanser insidansı, Dünya insidansının üzerinde seyrederken, Avrupa Birliği ülkeleri ve Amerika gibi gelişmişlik düzeyi yüksek olan ülkelere oranla kanser açısından hem kadınlarda hem de erkeklerde daha düşük bir hızda olduğu görülmektedir.

Yeni tahminlere göre Dünya’da yeni tanı alan kanserli hasta sayısı ve kanserden kaynaklanan ölümler bir önceki tahminlere göre artmıştır. GLOBOCAN(Uluslararası Kanser Ajansı) 2012 verilerine göre 2012 yılında Dünya’da toplam 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur. Bu şekilde kanser artış hızının devam etmesi durumunda, Dünya nüfusunun artışına ve nüfustaki yaşlanmaya bağlı olarak 2025 yılında toplam 19,3 milyon yeni kanser vakası olacağı belirtilmiştir. Gerek kanser vakalarının (%56,8) gerekse de kanserden kaynaklanan ölümlerin (%64,9) yarısından fazlasının az gelişmiş ülkelerde olduğu gösterilmiştir.



Çizim 2.1. Uluslararası Kanser Ajansı'nın 2012 yılı için yeni kanser tahminleri

Çizelge 2.1. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine Göre Türkiye'nin Durumu (Deri Dışında Kalan Kanserlerin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları)

	Erkek*	Kadın*
Dünya	205,4	165,3
IARC'a üye 24 ülke	236,4	192,5
AB (28 ülke)	314,9	243,2
ABD	347	297,4
Türkiye**	341,7	169,3

*Yaşa göre standardize edilmiş hız 100.000 kişide ** Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013

2013 yılı kanser istatistiklerine göre ülkemizde 103.070 erkek ve 71.233 kadın kansere yakalandığı tahmin edilmektedir.

Çizelge 2.2. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine Göre Erkeklerde En Sık Görülen İlk Beş Kanser Türünün Dağılımı

	Türkiye*	Dünya*	IARC'a üye 24	AB (28 ülke)	ABD
1	Akciğer	Akciğer	Prostat	Prostat	Prostat
2	Prostat	Prostat	Akciğer	Akciğer	Akciğer
3	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal
4	Mesane	Mide	Mide	Mesane	Mesane
5	Mide	Karaciğer	Mesane	Böbrek	Böbrek

Çizelge 2.3. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine Göre Kadınlarda En Sık Görülen İlk Beş Kanser Türünün Dağılımı

	Türkiye*	Dünya*	IARC'a üye 24	AB (28 ülke)	ABD
1	Meme	Meme	Meme	Meme	Meme
2	Tiroid	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
3	Kolorektal	Uterus serviksi	Akciğer	Akciğer	Kolorektal
4	Akciğer	Akciğer	Uterus serviksi	Uterus korpusu	Tiroid
5	Uterus korpusu	Uterus korpusu	Uterus korpusu	Uterus serviksi	Uterus

* Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013

2.3. Kanser Tanımı

Kanser; bir hücre veya hücre grubunun kontrol dışı büyümesi, çoğalması ve buldukları yerden ayrılarak farklı lokalizasyonlarda bu faaliyetlerini sürdürmesi olayıdır. Ortaya çıkan anormal hücre davranışı normal dokuyu yok eden geniş kitlelere yol açar ve hastalıkla sonuçlanan önemli organlara yayılabilir (Alison 2001). Karsinogenez olarak adlandırılan kanser oluşumu, çok basamaklı bir olaydır (Trueba 2004). Karsinogenez için birçok teori geliştirilmiştir. Bu teorilerden en eski olan da, kanser “hücre farklılaşma hastalığı” ya da “kök hücre hastalığı” olarak tanımlanır. Özetle kanserin “tek hücre kökenli” olduğu ifade edilmektedir (Trosko ve Ruch 2002). Kanser, daha çok bir kitle veya tümör oluşumuna yol açtığını bildiğimiz kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize edilen neoplazinin formlarını tanımlamak için kullanılır. Neoplazinin tanımı “normal dokuları aşan, onlarla koordine olmayan ve değişime yol açan uyarı durduktan

sonra bile aşırı büyüme devam eden anormal bir doku kütlesi” olarak yapılmıştır. Neoplazmlar genel olarak “tümör” adıyla bilinir (Kumar ve diğ. 2003). Bir tümör hücresinin en önemli özelliği; gen ekspresyonlarındaki değişikliktir. Bu değişiklikler tümör hücresine normal komşu hücrelerden daha fazla üreme avantajı sağlamaktadır. Bu durumda hücre kontrolsüz üreme özelliği kazanmaktadır (Aslan 2010). Hücrelerin anormal çoğalması sonucu ortaya çıkan tümör, benign ya da malign olabilir. Benign tümörler “çevredeki dokuya veya vücudun uzak bölgelerine yayılmadan oluştukları yerde kalırlar buna karşılık malign tümörler, hem çevredeki normal dokuya hem de kan veya lenfatik sistem aracılığıyla vücudun diğer bölgelerine yayılırlar ki, bu duruma ‘metastaz’ denilmektedir. Aslında, sadece malign tümörler, kanser olarak tanımlanır ve kanseri tehlikeli yapan bunların yayılma ve metastaz yapma özellikleridir (Cooper 2000). Kanser, köken aldığı dokuya ve bireye göre farklı karakteristik özellikler gösterir ve yaklaşık % 85 oranında epitel hücrelerde meydana gelir. Karsinoma olarak adlandırılır. Mesoderm hücrelerinden köken alan kansere sarkoma, salgı glandı hücrelerinden köken alan kansere ise adenokarsinoma adı verilir. Tüm bu mekanizmalar, gen ürünleri olan proteinler tarafından düzenlendiği için bir gendeki başkalaşım o genin kodladığı proteinin üretilmemesi, yanlış üretilmesi, normalden az veya çok üretilmesi ile sonuçlanır ve ilgili proteinlerin rol aldığı mekanizmalarda normalden sapmalar ortaya çıkar (Merlo ve diğ. 2006).

2.4. Kanser Hücresinin Özellikleri

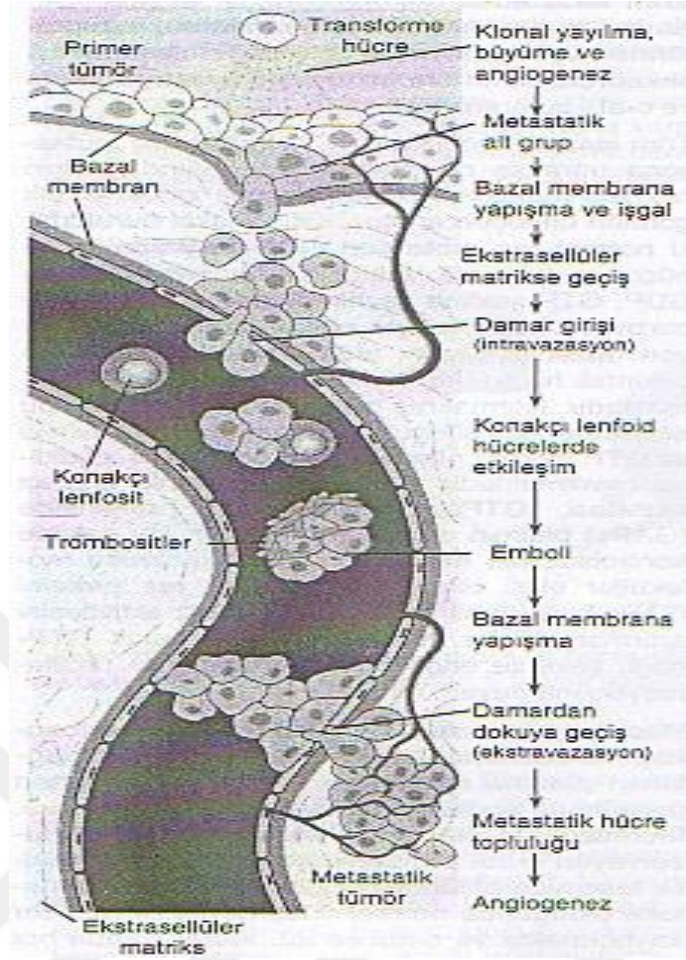
Kanser hücresinin karakteristik özellikleri şu şekilde tanımlanmıştır (Hanahan ve Weinberg 2000):

- Kanser hücreleri çoğalma sinyallerine ihtiyaç duymadan bölünme potansiyeli kazanırlar. Hücrede oluşan mutasyonlar hücrenin çoğalmayı aktive edici yollarında görev alan moleküllerin fonksiyonunu etkileyerek kontrolsüz çoğalmaya neden olur.
- Çoğalma sinyallerinin inhibisyonunu sağlayan yollardaki moleküllerde oluşan mutasyonlar ise; çoğalma sinyallerinin aralıksız devam etmesine dolayısıyla sürekli bölünmeye sebep olur.
- Kanser hücreleri apoptotik sinyallere duyarsızlaşır. Apoptozis mekanizmasını düzenleyen yollarda bulunan moleküllerde oluşan mutasyonlar kanser hücrelerini apoptotik sinyallere karşı duyarsız hale getirir.

- Kanser hücrelerinde, bölünmeye paralel olarak telomerlerin kısalması söz konusu olmadığından bölünme potansiyelleri devam eder. Telomerlerin uzunluğunun düzenlenmesini kontrol eden mekanizmaları bozan değişimler, kanser hücrelerine sınırsız bölünme özelliği kazandırır.
- Kanser hücreleri, yeni kan damarları oluşturarak (Anjiyogenez) artan besin ve oksijen ihtiyaçlarını sağlarlar.
- Kanser hücreleri, vücudun diğer bölgelerine göç ederek vücudun genel homeostazısını bozar ve ölüme yol açar.

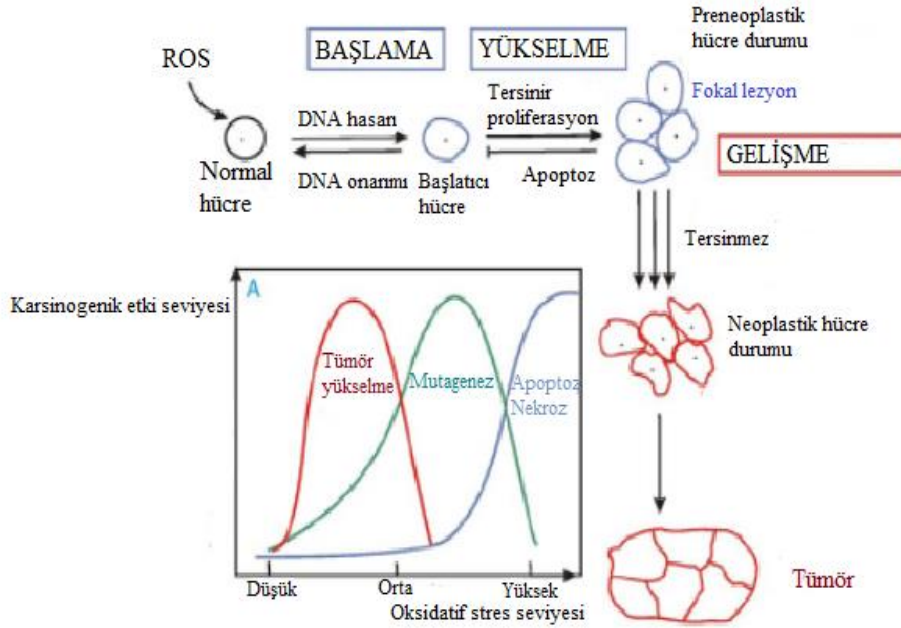
2.5. Kanser Gelişimi

Hücrelerin merkezinde, çekirdek içinde, hücrenin ve organizmanın genetik bilgisinin saklandığı, elektron mikroskobu ile de görüntülenebilen, DNA olarak adlandırılan mikroskobik iplikçikler mevcuttur. DNA, hücrenin normal fonksiyonlarını gerçekleştirmesini sağlamaktadır. Kanserli hücreler bu DNA iplikçisindeki hasardan dolayı oluşur. Hücrenin normal yaşam siklusunda DNA hasarı olsa da hücre ya bunu onarır ya da ölür. Kanserli hücrelerde hasarlanmış DNA onarılamaz ve kontrolsüz çoğalma başlar. DNA, çevresel etkenler (kimyasallar, virüsler, tütün ürünleri veya aşırı güneş ışını vs gibi) nedeniyle hasar görebilir. Kanser oluşum basamaklarından birincisi tümör başlangıcıdır. Tek bir hücrenin anormal davranışlarına paralel olarak klonal tümör hücrelerinden meydana gelen hücre topluluğu giderek büyür ve her adımda çoğalan her bir hücre yeni bir mutasyona sahip olur. Böylece meydana gelen mutasyonlar hücreye yaşamını devam ettirmesinde kolaylık sağlar. Ortama adaptasyonu kolaylaşır ve diğer hücrelerin önüne geçer. Tümörün ortam koşulları değişip, besin ve oksijen miktarı azalırsa büyüme çevredeki normal dokular tarafından engellenebilir. Fakat koşulların değişimine iyi adapte olabilen kanser hücrelerinden köken alan hücreler çoğalmaya devam eder böylece lezyon baskın duruma geçer. Tümör büyümeye başlar. Çoğalma devam ettiği sürece ortaya çıkabilecek mutasyonlar kanser hücrelerine yeni avantajlar sağlar. Büyüme ve çoğalmadaki hızları artarak tümör topluluğu içinde giderek daha baskın özellikler kazanırlar. Normal hücreler, hücre-hücre teması sonucunda hareket etmeye ve çoğalmaya son verirken, kanser hücreleri çoğalmayı inhibe eden bu olaya karşı duyarsızdır. Kanser hücreleri, hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayan ve komşu dokunun içine yayılmaya olanak veren proteazlar, anjiogenezi hızlandıran büyüme faktörleri salgırlar (Cooper 2006).



Çizim 2.2. Metastaz ve kanser oluşumu (Altınışık 2004)

Kanserin indüklenmesini açıklayan iki mekanizma vardır. İlki, genotoksik olmayan karsinojenler etkisiyle artan DNA sentezi ve mitoz nedeniyle bölünen hücrelerde tamir mekanizması hataları sonucunda mutasyonların oluşmasıdır. Başlangıçtaki neoplastik hücrede oluşan bu mutasyonlar, neoplastik hücreleri oluşturmak üzere klonal olarak artış gösterirler (Trush ve Kensler 1991, Guyton ve Kensler 1993). İkinci mekanizma ise, hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki dengenin bozulmasıdır. DNA hasarı çok büyükse, apoptoz yoluyla bu hücreler ortadan kaldırılır (Hengartner 2000). Kanser gelişimi; başlama, yükselme ve gelişme aşamalarından oluşur (Çizim 2.3.) (Klaunig ve Kamendulis 2004).



Çizim 2.3. Karsinogenezin aşamaları ve karsinojenik etkinin derecesi (Valko ve diğ. 2006).

Başlangıç aşaması için DNA’da ölümcül olmayan bir mutasyonun bulunması ve bu hasarı takiben, hasarın kalıcı hale gelmesi için [8-OH-G (8-hidroksi guanin) hasarı gibi] en az bir defa DNA sentezinin gerçekleşmiş olması gerekir. Bölünmekte olan hücreler herhangi bir nedenle hasara uğrarsa, hücre döngüsü; G1, S veya G2 kontrol noktalarında geçici bir süre için durur ve hasar tamir edilir, hasar tamirinin ardından hücre bölünmeye devam eder. Oksidatif DNA hasarı reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından (Fenton tipi reaksiyonlar tarafından üretilen hidroksil radikalleri veya diğer türler) oluşturulur. Malign tümörler üzerinde yapılan çalışmalar, tümör büyüklüğü ile DNA’daki 8-OH-G miktarı arasında ilişki olduğunu göstermiştir; 8-OH-G hasarı transformasyonun benign veya malign olacağını belirlemektedir (Loft ve Poulsen 1996). Ayrıca stress nedeniyle hücre içi Ca^{+2} stoklarından salınan ve hücre içine dışardan alınan Ca^{+2} , kanserin, “başlangıç” aşamasında etkilidir (Dreher ve Junod 1996). Yükselme aşaması ise başlatıcı hücrelerin, hücre proliferasyonunun indüklenmesi ve/veya programlanmış hücre ölümünün inhibisyonuyla çoğalmasındır. Bu durum tanımlanabilir bir fokal lezyon (sınırları belli) oluşturur. Bu aşamada, devam eden tümör yükseltme sinyalleri gerektirir, bu sebeple geri dönüşümü mümkündür (Loft ve Poulsen 1996). Birçok tümör yükselticisi, hücrel antioksidant savunma sistemlerini (katalaz, glutatyon gibi) inhibe eder. Yüksek düzeydeki

oksidatif stres sitotoksik olduğundan, proliferasyonu durdurur, apoptoz ya da nekrozu indükler. Düşük düzeydeki oksidatif stres ise, yükselme aşamasında, hücre bölünmesini uyarır ve böylece tümör büyümesini destekler. Bu durumda, tümör gelişmesinin en önemli etkeninin, bu aşamada üretilen ROS ile ilgili olduğu düşünülebilir (Dreher ve Junod 1996). Gelişme, karsinogenezde olayında son aşamadır (Klaunig ve Kamendulis 2004). Bu aşamada, hücreleri preneoplastik aşamadan, neoplastik aşamaya götürecek hücrenel ve moleküler değişiklikler görülür ve geri dönüşümsüzdür; biriken genetik hasarlar, hücrenin iyi huylu (benign) halden kötü huylu (malign) hale geçişine sebep olur. Bu aşama, genetik kararsızlık ve kromozom yapısı bütünlüğünün bozulması ile karakterize edilir (Valko ve diğ. 2006).

2.6. Kanserin Genetik ve Kalıtım İle İlişkisi

Kanser, genetik değişimlerin sonucunda ortaya çıkar. Kanser, hücrelerin bölünmek için sahip oldukları kontrol mekanizmalarını kaybettikleri bir olaydır. Bu mekanizmaların yazılımları genetik koddadır ve sadece genetik kodun zarar görmesi halinde bu kontrolsüzlük meydana gelebilir. Kanseri hücrelerde genetik bozukluklar hücrenin sahip olduğu genomda farklı organizasyon düzeylerinde gerçekleşir. Bu doğrultuda düşünüldüğünde kanser genetik bir hastalıktır. Kanseri büyük çoğunluğunun genetik değişiklikler ile tetiklendiğini düşünmemiz için geçerli sebepler vardır (Nussbaum ve diğ. 2006). Kanseri ortaya çıkmasında, ilerlemesinde RNA ve proteinlerin ekspresyon düzeyleri ile bunların düzenlenmelerinin etkisi olduğu bilinmektedir (Blekherman ve diğ. 2011, Chari ve diğ. 2010). Transkripsiyondan, protein sentezine kadar birçok farklı değişkenin etkilediği normal yaşam döngüsü içinde yaşanan en ufak değişiklik bile büyük sonuçlar doğurmakta, kanseri gelişmesine neden olabilmektedir. Kanser, içinde barındırdığı pek çok farklı türle ve hatta bu türlerin kendi içinde farklı sınıflandırmalarıyla başlı başına araştırmacılar için güçlü bir odak teşkil etmektedir (Avet-Loiseau ve diğ. 2009). Günümüzde DNA’da oluşan binlerce varyasyonun kanseri farklı türleriyle olan ilişkileri bilinmektedir. Mutageniz (DNA dizisinde değişikliğin oluşması), kimyasal karsinojenler (nükleotid diziliminde basit değişikliklere neden olurlar), X-ışınları gibi iyonlaştırıcı radyasyonlar (kromozom kırıkları ve translokasyonlara neden olurlar) ve virüsler (hücre içine yabancı DNA yerleştirirler) gibi etkenler genetik değişikliklere neden olur ve kansere yol açarlar. Ayrıca bu genetik değişimlerin fenotip ve kullanılan ilaca yanıt

gibi bilgilerle birleştirilmesi hem genel anlamda hem de bireysel anlamda hastalıkla mücadele için oldukça önem taşımaktadır (Fernald ve diğ. 2011).

Kanserin aile içerisinde seyredebileceği 200 yılı aşkın süredir bilinmektedir. Kalıtımın net ve ayırıcı özelliği birçok ailevi kanser formları için geçerli değildir. Hastalar kansere sebep olan genin sadece bir mutant allelini kalıtım yoluyla alırlar ve bu gen onları kansere yakalanmaya meyilli hale getirir. Sonuçta kişi, büyük bir olasılıkla başlı başına mutant allele, diğer genlerdeki mutasyonlara ve çevresel faktörlere bağlı olarak kansere yakalanır. Bu çeşitlilik, hastalığın başlangıç yaşına ve şiddetine etki edebilir. Bazen kalıtsal mutasyonlar kanser oluşumunda tek başına yetersiz kalmakta, kanser oluşumunun tamamlanması ve homozigot genlerin oluşması için homolog lokuslarda ilave somatik mutasyonlar gerekmektedir. Tek nükleotid değişimi gibi küçük ölçekli ya da kromozom kazanımı/kaybı, viral genomun hücre genomuna katılımı, kromozomun yeniden düzenlenmesi gibi büyük ölçekli genomik değişiklikler kanserle ilişkilidir. İnsan tümörlerinin büyük çoğunluğu kromozomal değişikliklerle karakterize edilir ve hangi durumda olursa olsun, kanser hücre seviyesinde genetik bir bozukluk olarak kabul edilmektedir (Klug ve Cummings 2003).

Kanser gelişimi; genetik ve epigenetik değişimlerin birikmesi sonucu oluşmaktadır. Bu değişimler; nokta mutasyonlarını, kromozomal yeniden düzenlenmeleri, mikrosatelit kararsızlığını, tümör baskılayıcı genlerin promotor 14 bölgelerin hipermetilasyonunu ya da inaktivasyonunu, onkogenlerin aktivasyonunu ve apoptozun baskılanmasını vb. içermektedir (Cansino Alcaide ve Martinez-Pineiro 2006).

2.7. Kanser Gelişiminde Etkili Olan Genler

Kanser potansiyeli olan hücrelerin en önemli özelliği onkogen içermesidir yani bulunduğu dokudan tamamen farklı yeni bir hücre olacak şekilde bozulma potansiyeli olmasıdır. Karsinogenezisin meydana gelmesinde sürekli değişime uğrayan 100'ün üzerinde gen tanımlanmıştır. Fakat keşfedilmeyi bekleyen daha pek çok sayıda gen vardır (Alberts ve diğ. 2002). Kansere neden olan genler iki gruba ayrılır. Bunlar; onkogenler: c-myc, L-myc, N-myc, ras, erbB-1, erbB-2 ve tümör baskılayıcı genler: p53, Rb, p16, FHIT, β -2 olarak sınıflandırılırlar. Hücre bölünmesini kontrol eden, tümöre yol açabilecek onkogenler ile tümör gelişmesini önleyen tümör baskılayıcı genler arasındaki denge çok önemlidir. Şimdiki zamana kadar yaklaşık 50 tümör baskılayıcı gen ve 100'ün üzerinde onkogen tanımlanmıştır (Yiğitbaş 2005).

2.7.1. Onkogen ve Protoonkogenler

Kanser gelişiminde onkogenlerin rolünün olabileceği ilk kez 1969'da Huebner ve Tadora tarafından öne sürülmüştür (Tchia ve diğ. 1991). Onkogenler, protoonkogenlerin değişimi sonucu ortaya çıkar. Protoonkogenler mutasyon, kromozomal yer değiştirmeler ve gen ekspresyon artışı sonucu aktive olur ve onkogen haline gelirler (Yiğitbaş 2005).

2.7.1.1. Ras Ailesi

Onkogenin yapısal bir bölgesinde değişiklik sonucu farklı işlev gören bir protein sentezlenir. Bu tip değişiklikler sıklıkla nokta mutasyonları sonucunda oluşur ve en çok ras onkogen ailesinde görülür. Ras ailesi; K-ras, H-ras ve N-ras protoonkogenleri olarak belirlenmiştir (Roth 1994). Akciğer, tiroit, kalın bağırsak ve pankreas kanserlerinin 1/3 kadarında ras mutasyonları olduğu gözlenmiştir (Ekmekçi 2006). Ras proteininin normal hücredeki görevi; uyarıcı sinyallerin olduğu durumlarda Guanozin trifosfat (GTP)'a bağlanıp aktif hale gelerek, bu sinyalleri nukleusa iletmektir. Bu sinyal iletimi sona erdiğinde de GTP molekülünün guanozin trifosfataz enzimi vasıtasıyla hidrolize olması sonucu Guanozin difosfat (GDP) proteinine bağlı inaktif formu oluşur. Mutant ras proteininde guanozin trifosfataz aktivitesi inhibe edildiği için, gen ürünleri kontrolsüz olarak üretilir. Belirlenmemiş insan tümörlerinin yaklaşık olarak % 15- 20' sinin bir mutasyonu ras taşıyabileceği düşünülmektedir. Ras mutasyonları sonucu ras proteininin sinyal iletimi aktive olur (Mabry 1998, Jacobson 1999, Fong ve Minna 2002).

2.7.1.2. Myc Ailesi

Diğer bir mekanizma da, genin ekspresyonunu regüle eden bölgede oluşan değişiklik sonucunda genin, yapısal olarak normal olmasına rağmen sürekli olarak uyarılma sonucu ürününün aşırı miktarda üretilmesi durumudur. Kromozom translokasyonlarında ise kromozomun bir bölgesi ayrılarak yer değiştirir. Genin yeni yerleştiği bölge, devamlı uyarı alan bir genin regülatör bölgesinin kontrolü altındaysa sürekli uyarılacaktır. Gen amplifikasyonu sonucu hücre içindeki DNA miktarı artış gösterir ve Myc geni buna bir örnek oluşturur (Roth 1994). Myc genleri, DNA' ya bağlanan üç nükleer fosfoproteini kodlar. Bu proteinler hücre proliferasyon ve farklılaşmasında etkilidirler ve DNA sentezinin başlamasında görev alırlar. Klonlandıkları kültürlerle ve elde edilme şartlarına göre bu genler üç gruptan oluşur. Bunlar; c-myc, N-myc ve L-myc geni (Mabry 1998).

2.7.2. Tümör Baskılayıcı (süpresör) Genler

Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonları, hücre bölünmesini ve farklılaşmasını kontrol etmek ve baskılamak olan genlerdir. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyon kaybı çoğu zaman her iki allelinde mutasyonel ya da epigenetik olarak inaktivasyonunu gerektirir (Knowless ve Selby 2005). Tümör baskılayıcı genler:

-Hücre döngüsünün ve hücre bölünmesinin devamı üzerinde önemli etkileri olan genleri baskırlarlar.

-DNA hasarına göre hücre döngüsünü düzenlemede görev alırlar.

-Onarılamayan hasarlarda apoptoza teşvik ederler.

-Hücre adhezyonunda görev alarak kontakt inhibisyonun kaybını engellerler ve bunlar metastaz süpresörler olarak da isimlendirilir.

-DNA tamir proteinleridir (Yoshida ve diğ. 1992).

2.7.2.1. p53 Geni

p53 geninin ürünü olan p53 proteini, 393 aminoasit uzunluğunda 50-55 kDa molekül ağırlığında nüklear bir transaktivatör protein olmakla beraber 17. kromozomun 17p13.1 konumunda bulunmaktadır (Yukishige ve diğ. 1991). Kodladığı p53 proteini, sekansa özgün bir transkripsiyon faktörüdür ve temelde; p21/WAF1/CIP1 ve GADD45 gibi hücre döngüsünün durması ile ilişkili genler ile PUMA, BAX ve PIG3 gibi apoptoz indükleyici genlerin transkripsiyonunu indüklemesi üzerinden etki eder (Hanahan ve Weinberg 2000, Laptenko ve Prives 2006). p53'ün uyarılması, bcl-2 ailesinden bax geninin uyarılmasına yol açarak apoptoz mekanizmasını başlatabildiği gibi, Fas, DR4 ve DR5 gibi hücre yüzey ölüm reseptörlerini uyararak da apoptozu uyarabilmektedir. Normal işlev gören wild-tip p53 geni hücrede apoptozu kolaylaştırır (Akşit ve Bildik 2008, Pınarbaşı 2007).

2.7.2.2. Retinoblastoma geni (Rb)

Retinoblastoma geni (Rb) tanımlanan ilk tümör baskılayıcı genidir. 13. kromozomda 13q14 bölgesinde bulunan Rb geni, 928 aminoasit büyüklüğünde ve 110 kDa molekül ağırlığında bir çekirdek fosfoproteinini kodlamaktadır ve Rb proteini en az 10 serin ve treonin artığından fosforile edilmektedir. Regülasyonu, fosforilasyon ve defosforilasyon ile gerçekleştirilmektedir (Weinberg 1991). Rb geninin normal fonksiyonu retina ana hücrelerinin çoğalmasını engellemektir. Bu genin yalnızca bir kopyası bölünme kontrolünü gerçekleştirebilmek için yeterlidir. Rb geninin her iki kopyasının kaybı ise bölünme bloğunun ortadan kalkmasına sebep olarak tümör oluşmasını tetiklemektedir. Rb geninin

iki allelinin de inaktivasyonu tüm retinablastoma hastalarında tespit edilmiş ve ayrıca akciğer, meme, prostat gibi çok sayıda kanserde görülmüştür (Knudson 1978).

2.8. Hücre Ölüm Mekanizmaları

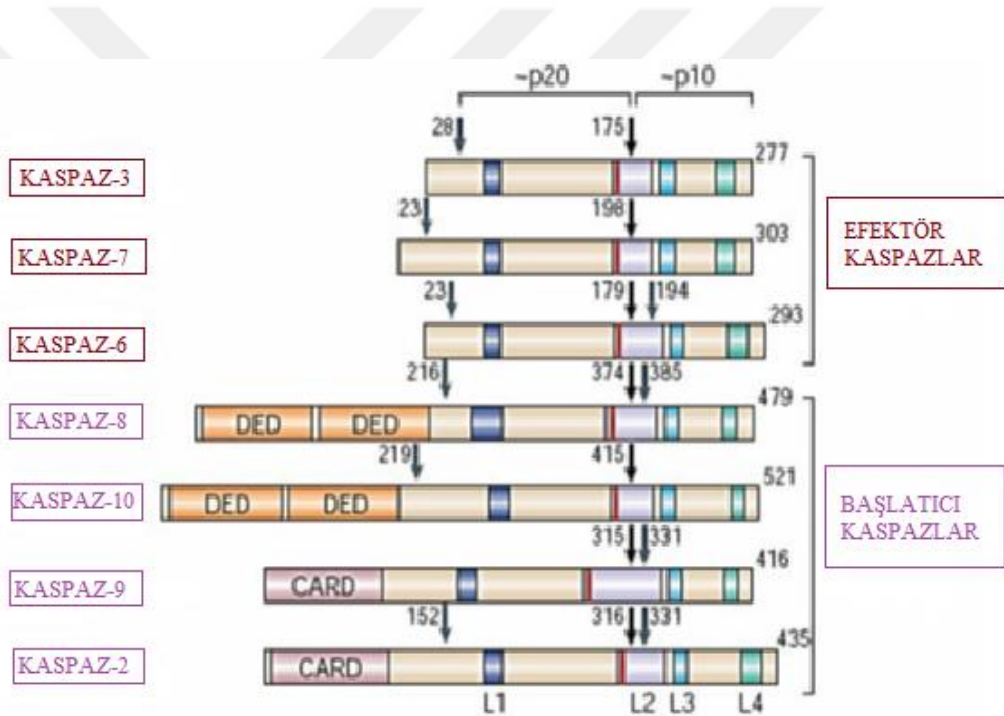
2.8.1. Apoptoz

Hücre ölümü, gelişmenin düzenlenmesinde ve daha sonraki aşamalarda doku homeostazısının korunmasında hücre çoğalması kadar önemlidir (Saunders ve Birchall 1998). Hücrede DNA'da meydana gelen mutasyonlar kanser gelişimine neden olabilecekleri için hasarlı hücrelerin apoptoz yolu ile ölmesi önemlidir. İlk kez Kerr ve arkadaşları tarafından 1972' de tanımlanan programlı hücre ölümünün ya da apoptozun, bütün çok hücreli organizmalarda, gelişmede ve homeostazın sürdürülmesinde vazgeçilmez bir rolü vardır. Apoptoz, ayrıca embriyolojik ve erişkin doku gelişiminin sürdürülmesinde anahtar rol oynamakta ayrıca hücrenin yaşam çemberi boyunca yapım-yıkım dengesinin kurulmasını sağlamaktadır. Örnek olarak, kemik iliğinden sürekli hücre üretimi devam ederken, günde yaklaşık 5×10^{11} kan hücresi apoptozis yolu ile yok edilmektedir (Cooper 2000). Apoptoz ve kanser arasında ters orantılı bir ilişki vardır yani apoptozun kanser hücrelerinin zararına ve organizmanın yararına çalışan bir mekanizması vardır. Bir hücrenin DNA'sında oluşan hasar, tamir mekanizmaları ile düzeltilemez ise, hasarlı hücre güvenli bir şekilde genetik kontrol mekanizmalarının öncülüğünde yok edilir (Lozano ve Elledge 2000).

Apoptotik hücre ölüm programı, Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve apoptotik proteaz aktive edici faktörler olmak üzere üç ana bileşenden oluşmaktadır. Bu önemli bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen morfolojik değişikliklerden, mitokondriyal hasardan, çekirdek zarı kırılmalarından, DNA fragmantasyonundan, kromatin kondansasyonundan ve apoptotik cisimciklerin şekillenmesinden sorumludur. Bcl-2 geni ilk olarak insan B hücreli foliküler lenfomada tanımlanmıştır ve bu ailenin 20 üyesi vardır; bunlardan bazıları apoptoz inhibitörüdür (antiapoptotik), bazıları ise apoptozu indükler ve proapoptotik genler olarak tanımlanır. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo ya da heterodimerler oluştururlar (Bcl-2, Bax ile heterodimer oluşturduğunda Bcl-2 etkisini antagonize ederler). Hücrenin yaşayabilmesi bu ailenin proapoptotik ve antiapoptotik üyelerinin rölatif oranına bağlıdır. Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanı sıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de bulunurlar (Nagata 1997).

2.8.1.1. Kaspazlar

Kaspazlar hücrede inaktif (zimojen) vaziyette bulunurlar ve seri olarak birbirlerini aktifleştirirler (Gewies 2003, Serbes 2009). Hücre fonksiyonları için gerekli olan, özellikle hücre iskeleti yapısal proteinleri ve DNA tamirinde görev alan proteinlerin parçalanmasından sorumludurlar (Kandaş 2004, Ekshyyan ve Aw 2004). Kaspazlar sadece apoptozun son aşamasını yürütmezler, bunun yanında bazı durumlarda hücre ölümünün uyarılmasında da rol alırlar (Kasof ve diğ. 1999). Kaspazların 14 üyesi vardır ve bunların 7 tanesi apoptozda rol alır (Çizim 2.4.). Bu kaspazlar şunlardır; kaspaz 2, 8, 9, 10, 3, 6 ve 7. Apoptozda hücreyi parçalayan, apoptotik morfolojinin oluşumunu sağlayan kaspazlar 3, 6 ve 7'dir. Diğer kaspazlar ise başlatıcı kaspazlar olup, apoptotik sinyali almada ve etkili kaspazları aktive etmede rol oynarlar (Earnshaw ve diğ. 1999).



Çizim 2.4. Apoptotik kaspazlar (Riedls 2004).

Hücre ölümüne sebep olan iki farklı tetikleyici mekanizma rol oynar:

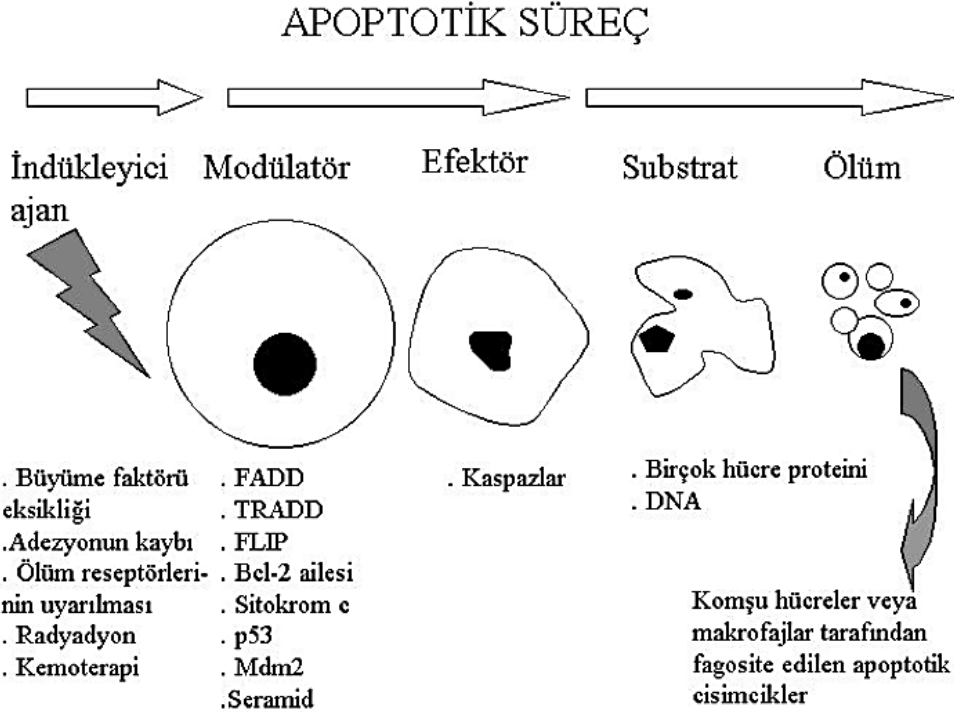
2.8.1.2. Apoptozda Hücre İçi Sinyallerle Tetiklenme

Sağlıklı hücrelerin mitokondri dışı zarlarında Bcl-2 ekspresyonu oluşur ve Apaf-1 (apoptotic protease activating factor) molekülüne bağlanır. Hücre içinde bir hasar olduğunda Bcl-2, Apaf-1 molekülünü serbest bırakır. Bcl-2 ile ilişkili bir protein olan Bax, mitokondri membranlarından girer ve sitokrom c'nin salınmasını sağlar. Sitokrom c'nin salınımı ve Apaf-1'in Kaspaz-9 molekülü ile bağlanması ile sitoplazmada bir "Apoptozom Kompleksi" meydana gelir ve bunun için ATP enerjisi harcanır. Kaspaz-

9, kaspaz ailesinin üyelerinden biridir. Kaspazların hepsi bir çeşit proteazdır ve isimlerini de, proteinleri kesmeleri (cleavage-C) ve yapılarında aspartik asit (ASP) taşımalarından dolayı almışlardır. Kaspaz-9 proteinleri keser ve diğer kaspazların aktive olmasını sağlar. Kaspazların aktive olmalarıyla diğer proteolitik aktiviteye sahip yollar da aktive olacağı için, sitoplazmik proteinler ve kromozomal DNA yıkımı gerçekleşir. Sonra bu hücre artıkları ve apoptotik hücreler fagositozla buldukları ortamdan uzaklaştırılır (Green ve Kromer 2004).

2.8.1.3. Apoptozda Hücre Dışı Sinyallerle Tetiklenme (Ölüm Reseptör Yolu)

Fas ve TNF reseptörleri hücre yüzeylerinde bulunan zar içi proteinlerdir. Fas-Ligand ve TNF gibi ölüm aktivatörlerinin bağlanmasıyla sinyal sitoplazmaya iletilir ve kaspaz 8 aktive olur. Aynı kaspaz-9 gibi kaspaz-8 de diğer yolların aktive olmasını sağlayarak hücrelerin fagositozuna neden olur. Ölüm reseptör yolunda görev alan diğer bir faktör de mitokondri iç membran boşluklarında yer alan bir protein olan apoptoz indükleyici faktör (AIF) dir. AIF, hücre ölüm sinyallerini aldığı zaman mitokondriden salımı gerçekleşir, çekirdeğe göç eder ve DNA'ya bağlanarak DNA'nın yıkımı ve dolayısıyla hücrenin parçalanıp ölmesine sebep olur (Green ve Kromer 2004).



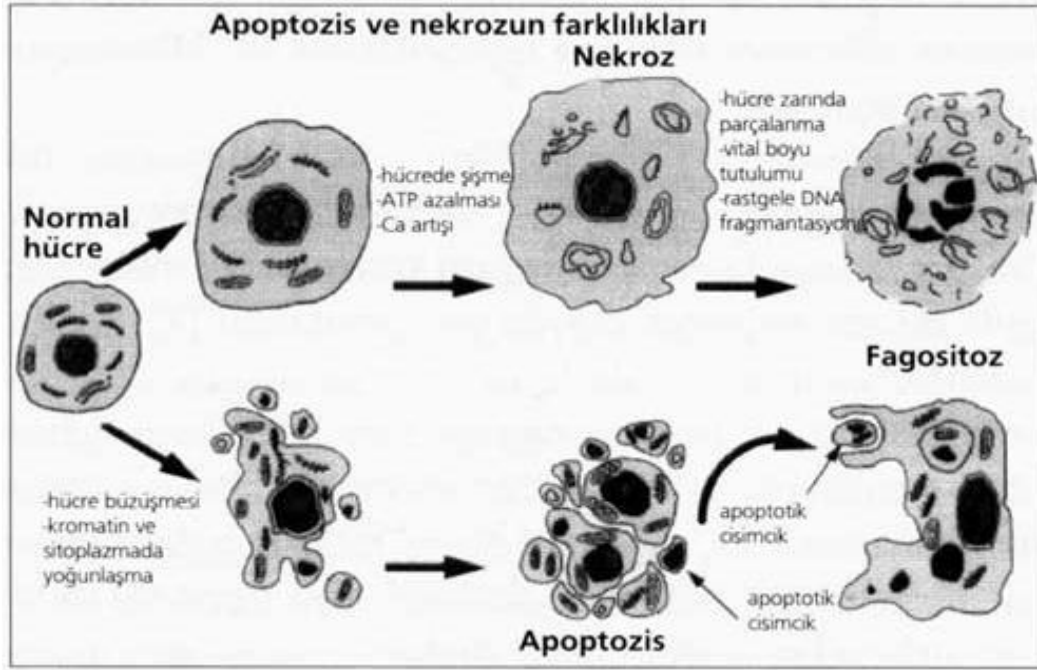
Çizim 2.5. Apoptozun genel görünümü

2.8.2. Nekroz

Nekroz, birçok hücrel hasar verici şartlar altında oluşan hücre ölümünün patolojik bir modudur. Nekrotik hücre ölümü hücre şişmesini ve organel parçalanmasını takip ederek lizis ve hücrel içeriğin dışarı salınmasını içermektedir. Bu yapıdaki hücre ölümü, etrafta bulunan dokulara hasar verebilir (Scatena 2012). Nekrozun başlangıç safhalarında hücre organelleri büzülür ve işlev göremez duruma gelir. Hücre membranı baloncığa benzer kabarcık şeklinde çıkıntılar oluşturur ve bu kabarcıklar birbirleri ile birleşerek büyürler. Sonuç olarak hücre membranı parçalanır ve hücre içeriği onu çevreleyen dokuya doğru yayılır (Nanji 1996). Nekrozun apoptoz ile arasında fizyolojik ve morfolojik farklılıklar vardır (Çizelge 2.4.). Nekrozun oluşmasına yardımcı çeşitli faktörler arasında ATP tüketimi, oksijen seviyelerindeki düşüş ve oksidatif stres direkt hücrel hasara sebep olurken, endotoksinler ve oksidatif stresin arttığı bazı durumlar nekroz ile ilişkili yangısal cevabı başlatarak ya da şiddetlendirerek indirekt bir rol oynar (Nanji 1996).

Çizelge 2.4. Apoptoz ile nekroz arasındaki farklar (Cameron ve Feuer 2000, Potten ve Wilson 2004, Lacasse ve diğ. 2005)

APOPTOZ	NEKROZ
Hem fizyolojik hem patolojik bir ölüm şeklidir. Hücreler tek tek ya da bir kaç birlikte ölür.	Patolojik bir ölüm şeklidir. Hücreler gruplar halinde ölür.
Hücre büzülür, apoptotik hücre veya cisimcikler komşu hücre veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden inflamasyon oluşmaz.	Hücreler içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişer ve hücre içeriği dış ortama aktığından inflamasyon oluşur.
Apoptotik hücrede kromatin nükleus membranının çevresinde yoğunlaşır.	Nekrotik hücrede kromatin yoğunluğu normal hücredeki görüntüye benzer.
Apoptotik hücrede hücre membran bütünlüğünü korur.	Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder.



Çizim 2.6. Apoptoz ve nekroz arasındaki morfolojik farklılıklar (Cotran ve diğ. 1999)

2.9. Hücre Yaşam Döngüsü ve Kanser İle İlişkisi

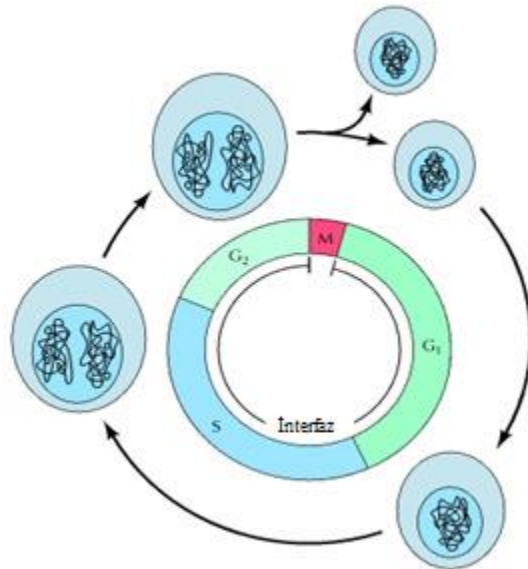
Hücre büyümesi ve bölünmesinde tümör baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin rol alması sebebiyle, kanser, hücre döngüsünün bozulduğu bir hastalık olarak kabul edilebilir (Yiğitbaş 2005).

2.9.1. Hücre Döngüsü

Döngüye giren hücre, döngüyü morfolojik ve genetik olarak birbirine tıpa tıp benzeyen iki hücre oluşumuyla tamamlar. Hücrelerin ikiye bölünmesi mitoz ile gerçekleşir. Hücreler mitoz girmeden önce hacimce büyüdükleri bir hazırlık evresi geçirirler. Hazırlık evresi olan bu interfaz evresinde bölünme için gerekli olan çeşitli düzenleyici proteinler (Örn. Siklin'ler) ve makro moleküller (Örn. DNA'lar) sentezlenir. İnterfaz evresi kendi içinde G1, S, ve G2 olmak üzere çeşitli alt bölümlerden (fazlardan) oluşur. Mitoz ve interfaz beraberce hücre siklusu olarak bilinen bir süreci oluştururlar (Ulukaya 2003). Dolayısıyla, bir hücre döngüsünün fazlarını işleyiş sırasına göre söylemek gerekirse; G1, S, G2 ve M evrelerinden oluşur. G1 ve G2 kısaltmaları "gap" (ara, boşluk) sözcüğünden gelmektedir. S ise DNA sentezi (replikasyonu) fazını ifade eder. M ise mitoz anlamına gelmektedir. G0 fazı ise normalde hücre döngüsü içinde yer almayan ve döngü tamamlandıktan sonra evreden çıkan hücrelerin bulunduğu fazdır. Hücreler bölünme uyarısı aldıktan sonra bu fazdan ayrılıp G1 fazına yani döngünün ilk fazına girmiş olurlar.

Bölünmeye devam etmeyip G1 fazından ayrılan hücreler ise farklılaşmak üzere farklı bir tarafa yönelirler (Howell ve Lew 2012).

G1 fazı, hücre döngüsünün süresi açısından en fazla değişkenlik gösteren fazdır. Bu fazda gerçekleşen değişiklikler başlıca c-fos, c-myc ve c-jun gibi transkripsiyon faktörlerinin genlerinde görülür. Bu transkripsiyon faktörleri aktivatör protein-1 (AP1) bölgeleri olarak da bilinen regülatör DNA dizilerine bağlanırlar. Böylece, AP1 bölgelerini taşıyan genlerin aktivasyonu sonucu siklin ve Siklin bağımlı kinazların (CDK) aktivasyonları gerçekleşir. Aralarından c-myc ve c-jun aynı zamanda onkogen olarak da bilinirler. Ek olarak hücre-spesifik bir onkogen ürünü olan c-myb de hematopoetik hücrelerde bu evrede artış gösterir. İnhibitör sinyaller siklin bağımlı kinaz inhibitör (CKI) ailesi üzerinden etki ederler. S fazında, hücre DNA'yı hızla replike eder. Hızlı olmasının sebebi, DNA iplikçiklerinin birbirinden ayrılması esnasında bazlar, çeşitli ilaçlar ya da mutajenler gibi dış ajanların etkisine açık hale gelirler. Bu yüzden DNA sentezi bir kez başladı mı hızla bitirilmelidir. G2 fazında, bir önceki (S) evrede replike olmuş DNA ile kromatin proteinleri kondanse olurlar ve kardeş kromatidler halinde paketlenirler. Tamir mekanizmalarından kaçmış hasarlı DNA veya replike olmamış DNA bu fazda kontrol edilir. M fazında, kardeş kromatidler düzgün bir şekilde hizaya gelirler ve daha sonra çeşitli aşamalardan geçilerek (profaz, metafaz, anafaz, telofaz ve sitokinez) hücre ikiye bölünür. CDK' lara bu evrede de gerek duyulur (Howell ve Lew 2012, Esposito ve diğ. 2004).

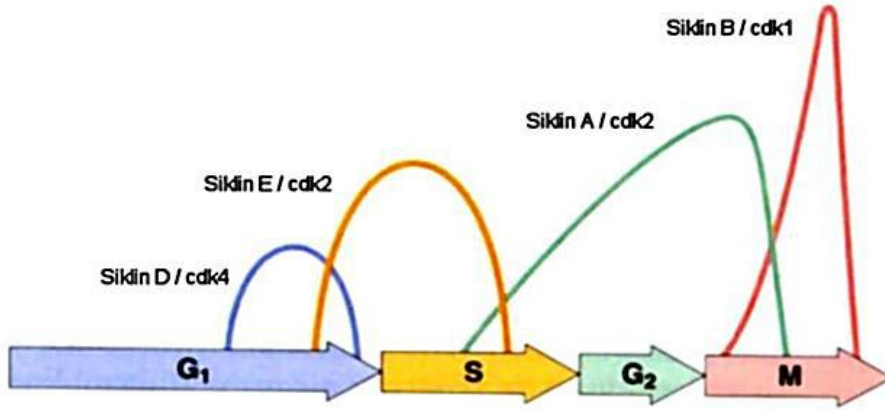


Çizim 2.7. Hücre döngüsü fazları (Murray ve Hunt 1993)

2.9.2. Kontrol Noktaları

Hücre döngüsünde yer alan fazlar arasındaki geçişin düzenlenmesinde kontrol noktalarının görevi çok önemlidir. Kontrol noktaları, hücresel mekanizmayı denetler ve herhangi bir hasar oluşumunda hücre döngüsü ilerleyişinde duraksama oluşturarak G1-S kontrol noktasında hücrenin replikasyon için hazır olup olmadığı, G2-M kontrol noktasında hücrenin mitoz için uygun olup olmadığı, M-G1 kontrol noktasında ise kromozomların yerleşimi kontrol edilir (Alberts ve diğ. 2002).

Hücre döngüsü daima sıkı bir kontrol içerisinde ilerler. Ökaryotik hücrede hücre döngüsü süreci siklinler ve siklin bağımlı kinazların aktiviteleriyle düzenlenir (Çizim 2.8.). Siklinler; hücre döngüsü esnasında gerektiği zaman sentezlenen ve görevini tamamladığında hızla parçalanıp bir protein ailesidir. Siklin bağımlı kinazlar ise hücre döngüsünü düzenleyen proteinlerdir ve sadece siklinlere bağlandıklarında aktive olmaktadır (Esposito ve diğ. 2004). Siklin bağımlı kinazlar hücre döngüsünün ilerlemesinde oldukça önemi vardır. Çünkü bunların bir şekilde inaktive olması mitozun engellenmesine sebep olmaktadır. Hücre döngüsü inhibitörleri ise siklin/CDK komplekslerinin aktivitelerini sıkı bir şekilde denetleyerek fonksiyon gösterirler (Esposito ve diğ. 2004; Strauss ve diğ. 1995).



Çizim 2.8. Siklinlerin Hücre Döngüsünde Sentez Aşamaları

Siklinler (A, B1, D ve E) döngünün çeşitli evrelerinde periyodik olarak bir taraftan sentezlenirken diğer taraftan da yıkımları gerçekleşir. Bu nedenle de siklinler olarak adlandırılmışlardır. Siklinlerin periyodik olarak yapım ve yıkımları, dolayısıyla ilişkide buldukları CDK (CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7 ve CDK25)'ların aktivitelerinin düzenlenmesini sağlar (Strauss ve diğ. 1995). Her siklin özellikle spesifik CDK'ına bağlanır. Siklin E en yüksek seviyeye G1 fazının geç döneminde; Siklin A ve B ise G2 ve

M'de artar. Siklin D ise G1 fazının erken döneminde artmaya başlar ve fazın sonuna doğru giderek artar (Resnitzky ve diğ. 1994).

Temel kontrol noktalarında birincisi G1/S evresinde bulunan DNA hasar sensörüdür. G1 kontrol noktasında yer alan DNA hasarı kontrol noktası, saptamış olduğu herhangi bir DNA hasarında, normalde oldukça düşük konsantrasyonda ve kararsız olan p53'ün işlevsel hale gelmesini sağlamak ve böylece artmış p53 protein seviyesi ile p21 proteininin de içinde bulunduğu birkaç genin sentezi tetiklenmekte; sonuçta S evresine giriş engellenmektedir (Alberts ve diğ. 2002). DNA hasarının uyardığı p53 proteini, p21 (Waf1) proteinini aktive eder ve p21 proteini böylece siklin-siklin bağımlı kinaz komplekslerine bağlanarak siklusu G1 evresinde durdurmaktadır (El-Deiry ev diğ. 1993). Erken ve orta G1 fazı arasında hasar gören hücreler G1 fazında duraksarlar. Geç G1 fazında hasar gören hücreler ise S fazına devam ederler ancak DNA sentezine hasar görmemiş hücrelerden çok daha yavaş bir şekilde başlarlar. DNA eşlemesinde meydana gelebilecek bir sorunu denetleyen kontrol noktası ise S fazında bulunmaktadır. Bu kontrol noktasını, DNA eşlemesinin uygunluk derecesini kontrol eden ve G1/S geçişindeki gibi DNA hasar sensörü olarak işlev gören G2/M geçişi kontrol noktası izler. Erken ve orta G2 fazı arasında hasar gören hücreler G2 fazında duraksarlar. Geç G2 fazında hasar gören hücreler ise mitoz girindiklerinde duraksarlar. Mitotik kontrol noktası ise, mitoz süresince meydana gelebilecek işlevsel bozuklukları kontrol eder. Kontrol noktası duraksamaları genelde bir siklin/Cdk etkinliğinin baskılanmasını içermektedir (Hartwell ve Weinert 1989; Elledge 1996). Fazlar arası geçişlerin düzenlenmesini sağlayan bir diğer kontrol noktası da orta ve geç G1 fazı arasında bulunan restriksiyon noktasıdır. Restriksiyon noktası, hücre için gerekli büyüme sinyallerinin alınması ile hücrelerin G1 fazından S fazına geçişini düzenleyen mekanizmadır (Planas-Silva ve Weinberg 1997). Hücreye büyüme sinyallerinin ulaşmadığı durumlarda, hücreler S fazına geçemez ve G0 fazında kalırlar (Garrett 2001).

2.10. Tiroid Bezi

2.10.1 Fizyolojisi

Tiroid bezi boynun alt kısmında, trakeanın anterior yüzünde, larinksin hemen aşağısında, tiroid ön grup kaslarının arkasına yerleşmiş endokrin bir organdır (Ünal 2000). Başlıca tetraiyodotironin (tiroksin-T4) ve daha az düzeyde de triiyodotironin (T3) yapımından sorumlu olan tiroid glandı en büyük endokrin organ olup yaklaşık 15-20 gr ağırlığındadır. Dolaşımdaki T3 büyük ölçüde ekstratiroidal dokularda T4'ün deiyonidasyonundan kaynaklanır.T3, hedef organlardaki hücrelerin nükleer T3

reseptörleriyle etkileşmek suretiyle etkilerini oluşturur (Özata 2016). Bu hormonlar metabolizmayı düzenler. Vücudun her organında protein sentezini artırır, oksijen tüketimini yükseltirler. Özellikle santral ve periferik sinir sisteminin normal matürasyonu için önemlidirler. Tiroid hormon sentezi ve salgılanmasının düzenlenmesi, hipotalamustan salınan tiotropin serbestleştirici hormon (TRH) ve anterior hipofizden salınan tiroid stimüle edici hormon (TSH) ile sağlanır. TSH, folikül hücre membranında bazolateral yüzeyde yer alan aynı isimli reseptörüne bağlanıp adenilat siklaz yolunu aktive ederek T3 ve T4 sentezini düzenler (Mills 2007). Tiroid hormonunun fizyolojik etkileri şunlardır (Özata 2016):

- Fetal ve çocukluk döneminde büyüme ve gelişim
- Kalp hızı ve miyokard kontraktilitesi artışı
- GİS motilitesi artışı
- Renal su klirensi artışı
- Bazal metabolik hız artışı
- Isı oluşturma
- Vücut ağırlık kontrolü

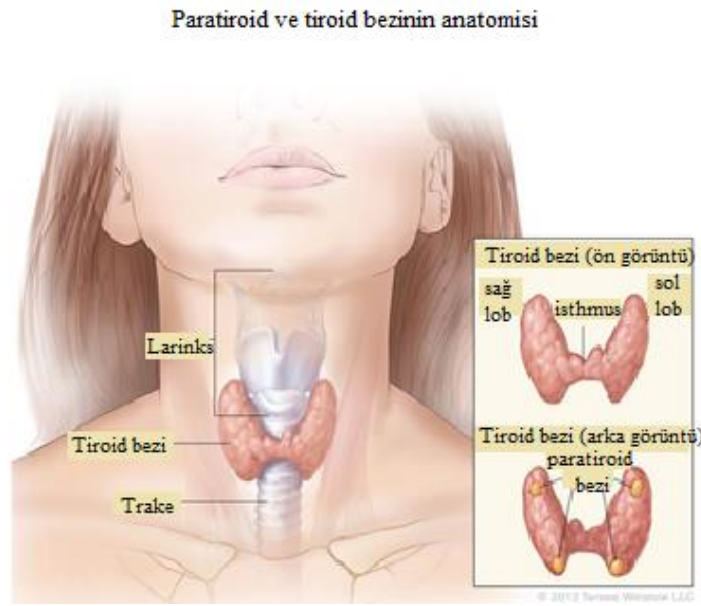
2.10.2. Embriyolojisi

Embriyolojik olarak ilk gelişen endokrin bezdir (Mills 2007). Tiroid glandı; 1. ve 2. Faringeal ceplerin arasında farinks ön yüzünde, orta hatta endodermden kaynaklanan median bir divertikül şeklinde ortaya çıkar. Median tiroid divertikülü zamanla büyür ve tiroglossal duktus olarak isimlendirilen ve aşağı doğru uzanan içi boş bir tüp oluşturur. Bu duktus dil kökündeki foramen çekumdan doğar, aşağıda hiyoid kemik tarafından sarılır ve daha sonra öne doğru yön değiştirir. Orta hatta aşağı doğru inen median tiroid divertikülü, embriyonun yedinci haftasında, tiroid kartilajı hizasına gelince her iki yana doğru gelişmeye başlar ve bu gelişme sonucu tiroid glandının lobları oluşur. Tiroglossal duktusun distal ucu piramidal lobu teşkil edebilir. Normal olarak tiroglossal duktusun epiteli ejenere olarak atrofiye uğrar ve kaybolur. Bazen tiroglossal duktusun epiteli atrofiye uğramaz ve duktus boyunca herhangi bir yerde kist, fistül veya ektopik tiroid dokusu gelişebilir. Yedinci haftanın sonunda tiroid yarım ay şeklini alır ve gelişmekte olan trakeadaki düzeyine lokalize olur. Tiroid foliküllerinin oluşması embriyolojik gelişmenin sekizinci haftasında gerçekleşir. Bu foliküller üçüncü ayda kolloid içerirler, dördüncü ayın sonunda

ise bölünme ve dallanma ile yeni foliküller oluşur. Yetişkin normal bir insanda; tiroid glandının iki lobu ve bunların arasında bir istmus bölümü vardır (Ünal 2000).

2.10.3. Anatomisi

Kıvamı yumuşak olan glandın ince bir kapsülü vardır ve rengi koyu şarap kırmızısıdır. Tiroid glandı sağ ve sol lob olmak üzere iki lobdan oluşur. Sağ lob soldaki loba göre daha büyüktür. Bu iki lobun arasındaki istmus bölümü, yaklaşık 1 cm genişlik, 1 cm yükseklikindedir. İsthmus lokalizasyonu değişkendir fakat genellikle ikinci ve üçüncü trakeal halka civarındadır (Nikiforov 2009).



Çizim 2.9. Tiroid bezinin anatomik yerleşimi

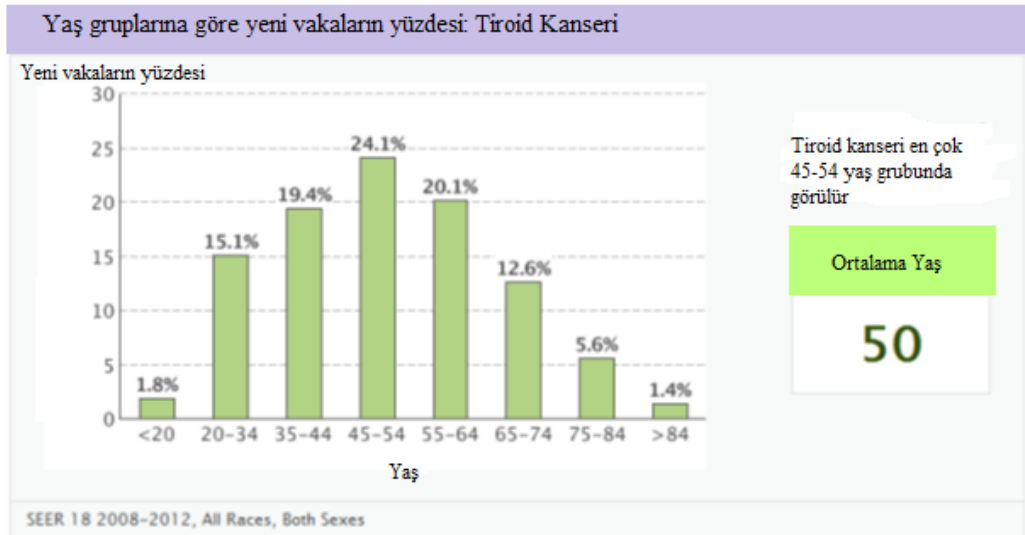
Normal bir tiroid lobunun yüksekliği 4-5 cm., genişliği 2-3 cm ve kalınlığı ise 1-2 cm'dir. Her bir tiroid lobunun bir yatağı bulunmaktadır. Bu yatağın iç tarafında trakea ve özofagus, arkasında karotis kılıfı, yan ve ön taraflarında sternokleidomastoid, sternohiyoid ve sternotiroid kasları bulunur (Ünal 2000). Tiroid glandı, erişkin erkeklerde ortalama 18 gr, kadınlarda ise 15 gr ağırlığındadır (Nikiforov 2009). Glandın ağırlığı, cinsiyet, yaş, kilo, hormonal durum, glandın fonksiyonel durumu ve iyot alımına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Menstrual siklusun sekretuar fazında gland ağırlığının arttığı bilinmektedir (Mills 2007).

2.11. Tiroid Kanseri

Tiroit kanseri en sık görülen endokrin neoplazilerdir ve tüm endokrin kanserlerin %90'ını oluşturduğu gözlenmiştir. Tiroit kanserleri, tüm kanser ölümlerinin %0,4'ünü

oluşturur (Özata 2005). Tiroid kanseri tüm maligniteler içinde kadınlarda %2, erkeklerde %0,5 sıklığındadır ve 45-54 yaşlarında daha sık görülmektedir. Bu tip kanserlerin insidansı son 30 yılda artış göstermektedir. 1973 yılında 100000’de 3,6 olan insidans, 2002 yılında 100000’de 8,7’ye yükselmiştir. Kanser ölümleri arasında ise her 1 milyon kişide yaklaşık 6-8 oranındadır. Tiroid kanserlerinin otopsi serilerinde görülme oranı ise %0,1-2,5 arasındadır. Diğer kanser tipleriyle karşılaştırıldığında en iyi kür, uzun yaşam oranı ve genellikle iyi differansiye histolojik özellikler gösteren kanserler olarak bilinirler (Adaş ve diğ. 2012).

Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü SEER (Surveillance, Epidemiology, End Results) veri tabanı son 30 yılda tiroid kanser insidansında anlamlı artışa dikkat çekmekteydi (Çizim 2.10.). Amerika Birleşik Devletleri’nde 2015 yılında 62450 yeni vaka teşhis edilmiş olup; tiroid kanseri insidansı 2008-2012 yılları arasında artarak yılda 100000’de 10,2’den 13,5’e yükselmiştir.



Çizim 2.10. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü SEER 2015 tiroid kanser verileri

Tiroid kanseri insidansındaki artışta, radyasyona maruz kalma gibi çevresel faktörlerin yanı sıra son yıllarda ultrasonografi (USG)’nin yaygın kullanımı ve sonografik olarak şüpheli nodüllere ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) yapılması ile tiroid kanserlerine subklinik dönemde tanı konulması da önemli rol oynamaktadır. Tiroid kanseri insidansı artmasına rağmen tiroid kanserinden kaynaklı mortalite azalmıştır. Bu durumun sebebi iyot eksikliğindeki belirgin azalma, erken tanı ve cerrahi ve/veya I131 ile efektif tedavi yapılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Nekay 2016).

Tiroid kanseri; küçük tiroid nodülleri veya akciğer, beyin veya kemik kanserinden oluşan metastatik tümörlerden meydana gelebilir. Çoğunlukla tiroid kanseri hastalarının tiroid hormon seviyeleri normal iken bu kanser tümörü trakea ve özofagusu etkilediğinden dolayı hastanın ses kısıklığına ve yutkunmada güçlük çekmesine neden olmaktadır. Tiroid kanseri tedavisi için kısmi ya da total tiroidektomi, levotiroksin ya da radyoaktif iyot tedavisi (iyot konsantrasyon tümörleri) ile TSH baskılama tedavisi çözüm olabilmektedir. Ameliyat sonrası radyoterapi ve kemoterapi de uygulanabilmektedir (DeRuitter 2002). Tiroid kanserinin 4 tipi vardır. Bunlar;

- Papiller tiroid kanseri
- Folliküler tiroid kanseri
- Medüller tiroid kanseri
- Anaplastik tiroid kanseri

Tiroid kanserlerinin çoğu folikül hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Bu kanserlerin %70-90'ını Differansiye Tiroid Kanseri oluşturur. DTK' nin %55-65'i papiller, %15-25'i foliküler kanserlerden oluşur. Folikül hücrelerinden kaynaklanan ve tiroid kanserlerinin %15-45'ini teşkil eden ikinci tiroid kanserleri ise az differansiye ya da anaplastik kanserlerdir. Bunlar içerisinde prognozu en iyi olanlar papiller, en kötü olanlar ise anaplastik kanserlerdir. Anaplastik kanserlerin, uzun süre mevcut olan papiller kanserlerden oluştuğuna dair bilgilerin olması papiller kanserlerin erken tanı ve tedavisinin önemini arttırmaktadır (Çetin 1999).

2.11.1. Papiller Tiroid Kanseri

Papiller karsinom, folliküler hücrelerden köken alan ve karakteristik nükleer özellikler gösteren malign epitelyal tümördür (DeLellis 2004). Papiller tiroid kanseri yavaş büyüme eğilimindedir ve prognozları ise oldukça iyidir.

2.11.1.1. Epidemiyoloji

Tiroid kanserlerinin %80-85'ini oluşturur. Papiller tiroid kanserlerinin yaklaşık %60'ını klasik tip, geri kalanını varyantları oluşturur (Özata 2016). Papiller karsinomlu 10.000'e yakın bir hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, mortalite oranı %12 olarak tespit edilmiştir. Mazzaferri ve Jhiang tarafından yapılan bir çalışmada, papiller tiroid karsinomlu hastalarda 30 yıllık mortalite oranı %6 olarak saptanmıştır. Bu küçük mortalite oranları, papiller tiroid karsinomlu hastalarda prognozun çok iyi olduğunu göstermektedir. Okkült papiller karsinomun sıklığı ile ilgili istatistiki bilgiler daha ziyade otopsi tetkiklerinden

elde edilmektedir. Mayo klinikte birbirini takiben yapılan 1000 otopside; %2,8 oranında daha önce tespit edilmeyen okkült tiroid karsinomu ile karşılaşmıştır. Bu karsinomların %74'ünden fazlası klinik olarak normal tiroid glandlarında bulunmuştur. Diğer otopsi serilerinde okkült papiller kanser oranı %2 ile %36 arasında değişmektedir. Papiller tiroid kanseri tüm yaş gruplarında oluşabilir. Ancak genç yaş gruplarında (20 ile 40 yaşlar arasında) çok daha fazla görülmektedir. Yaklaşık %10'u 20 yaşından daha küçük hastalarda ortaya çıkar. Çocuklarda servikal lenf nodülü görülme olasılığı daha fazladır. Papiller tiroid karsinomlu çocukların %90'ında lenf nodülü metastazı bulunmasına karşılık, erişkinlerde bu oranın %35 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çocuklarda tanı sırasında ekstratiroidal yayılma ve uzak organ metastazları daha sık görülmektedir. Nüks oranları da ekstrem yaşlarda en yüksek düzeydedir; 20 yaşın altında %40, 59 yaşın üstünde %30 iken, bu yaşların arasında ancak %19'dur. Papiller tiroid kanserleri kadınlarda, erkeklere nazaran 3-4 misli daha çok görülür (Ünal 2000).

2.11.1.2. Patoloji ve Sınıflandırma

Papiller karsinom infiltratif ve multisentrik olma eğilimindedir. Bunların kan damarlarına invazyon yapma eğilimleri azdır ve "Psommoma cisimcikleri" içerirler. Lenfatik yolla yayılım gösterirler ve lenf bezlerine metastaz yaparlar. Nukleus karakteristik olarak veziküler ve sıklıkla yarıklıdır. Papiller tiroid kanserlerinin yaklaşık %60'ını klasik tip, geri kalanını ise papiller karsinomun varyantları oluşturur (Özata 2016). Bu varyantlar şöyledir:

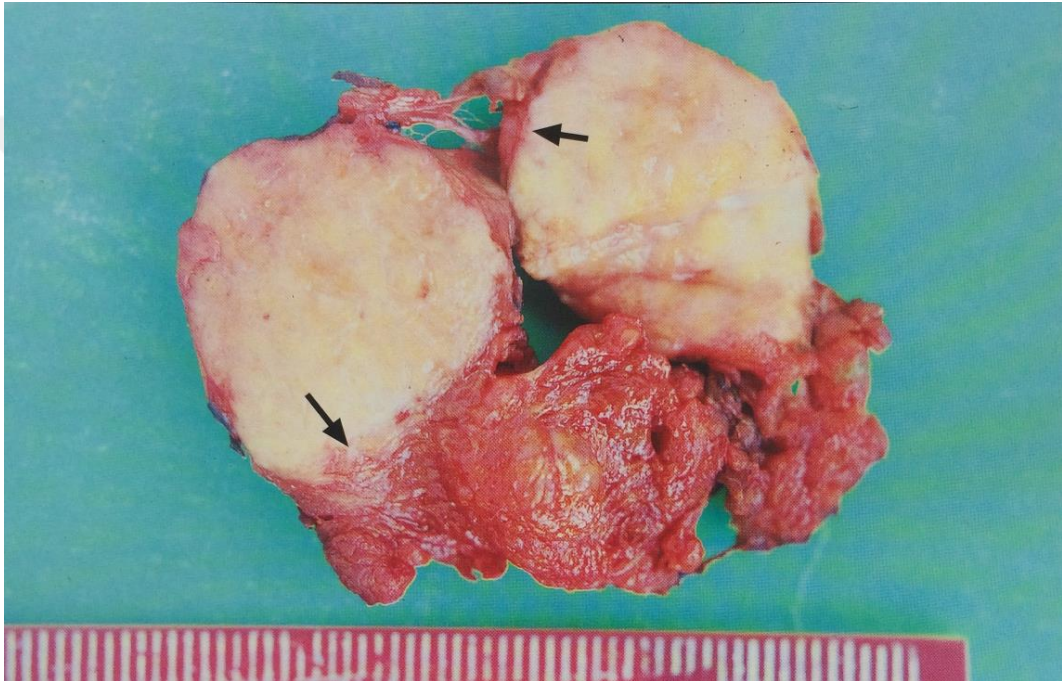
- İyi prognozlu papiller kanser varyantları
 - Mikrokarsinoma (okult)
 - Kapsüllü varyant
 - Solid varyant
 - Folliküler varyant
- Kötü prognozlu papiller kanser varyantları
 - Uzun hücreli (tall cell) varyant
 - Onkositik (oksifil) varyant
 - Kolumnar hücreli varyant
 - Diffüz sklerozan varyant

PTK' nın en yaygın görülen varyantları klasik, folliküler ve tall hücreli varyantlarıdır (Lloyd 2011). Tall hücreli, kolumnar hücreli, solid ve diffüz sklerozan papiller karsinom varyantları, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı riski

yüksek saldırgan varyantlardır. Bu nedenle papiller karsinomların varyantları tanınmalı ve saldırgan komponentin varlığı ve yaygınlığı patoloji raporunda mutlaka belirtilmelidir (Baloch 2013).

2.11.1.2.1. Klasik Tip Papiller Karsinom

Makroskopik olarak tümör 1 cm çapından büyük olup beyazımsı, sert düzensiz sınırlı bir kitle olarak saptanır. Solid yapının ucunda bazen toplu iğnenin ucu kadar ince çıkıntılar (papiller yapılar) görülür.

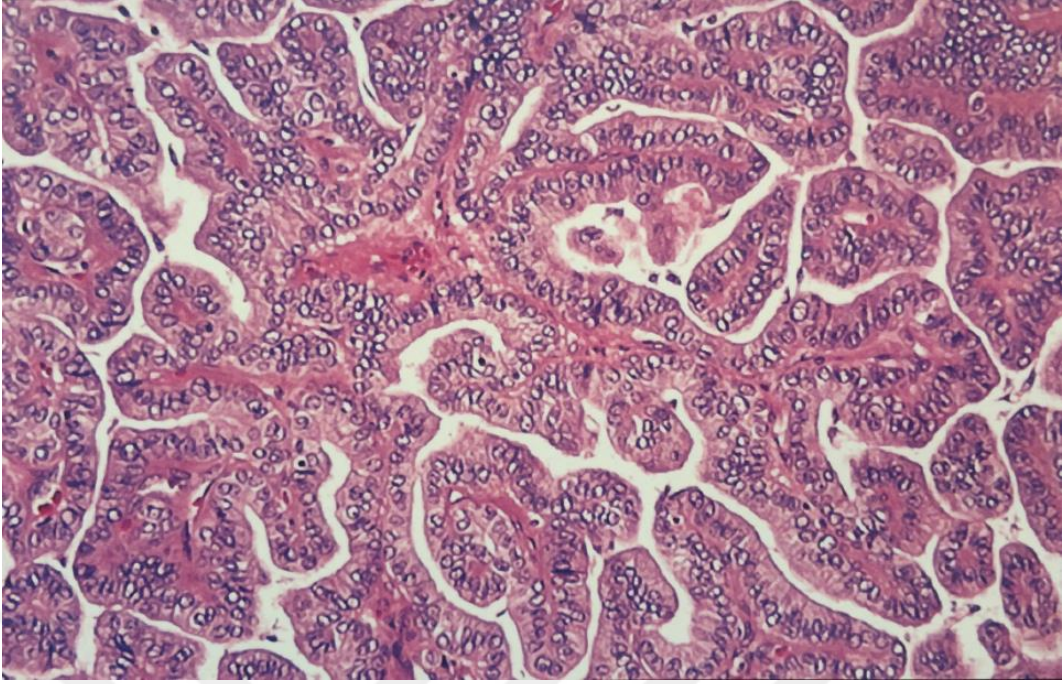


Çizim 2.11. Papiller Tipte Tiroid Karsinomu, Klasik Tip: Tiroid lobunda sınırları belirli, biraz düzensiz ve ondulan görünümlü(ok) sarı-beyazımsı tümör kitlesi görülmektedir (Öz 2005).

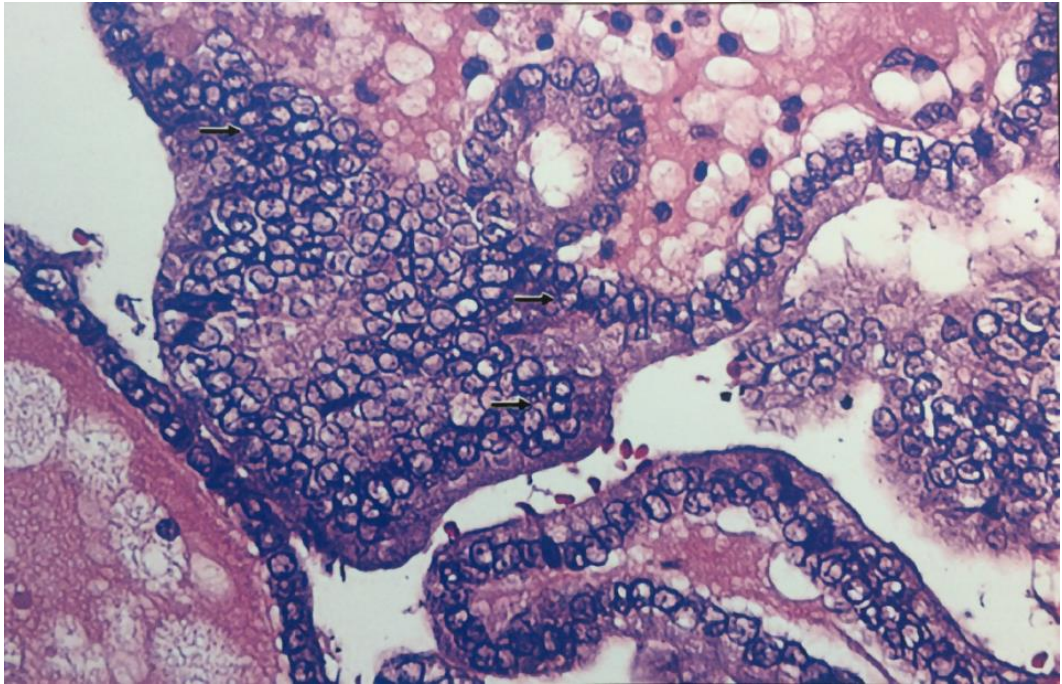


Çizim 2.12. Papiller Tipte Karsinom, biraz düzensiz sınırlı(ok), sarımsı, sütlü kahverengi tümör (Öz 2005).

Mikroskopik olarak tümör dokusu papiller ve folliküler yapılardan oluşur. Tümör hücreleri kromatinden fakir berrak, iri, oval çekirdeklidir. Çekirdek sınırları kalın ve belirgindir. Nükleus küçük ve genellikle belirsizdir çekirdek zarındaki invaginasyon nedeniyle, çekirdekte “kahve çekirdeği görünümü (grooving)” olabilir. Sitoplazma orta genişlikte ve tümör hücre tipi kübiktir. Çekirdek polaritesi bozuk olup, bazen yığın oluşturmuş gibi gözükmeler tümör hücreleri folikülü döşerken, fibrovasküler stroma ile birlikte gelişip dallı budaklı papiller yapılar da yaparlar. Stroma içinde psammöz cisimcikleri bulunabilir. Ayrıca tümör stroması ya da çevre tiroide lenfosit toplulukları da görülür. Papiller karsinomlu olguların %20’sinde, tümör dışı tiroid dokusunda mikroskopik boyutta tümör odakları bulunmuştur. Bu bulgu lenfojen yayılma ya da multisentrik tümör oluşumu olarak yorumlanmıştır (Ünal 2000).



Çizim 2.13. Papiller Karsinom, Klasik Tip: Stroma ve tümöral epitelin oluşturduğu dallı budaklı, papiller yapılar izlenmektedir (Öz 2005).



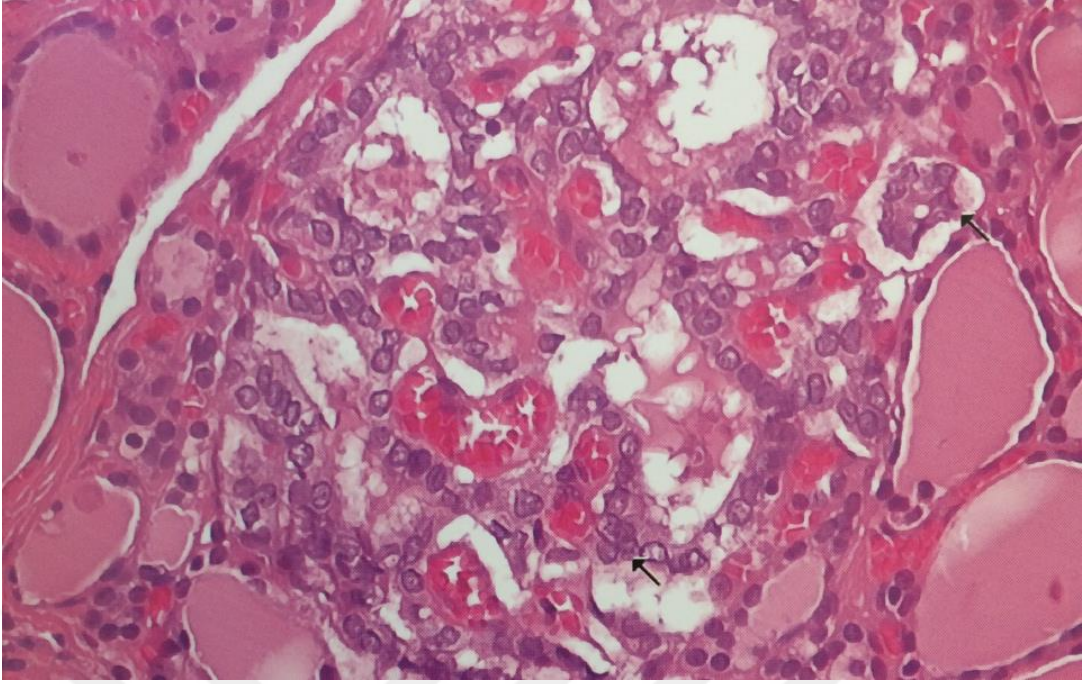
Çizim 2.14. Papiller Karsinom, Klasik Tip: Çekirdekleri büyük ve berrakça görümlü, çekirdek polaritesi bozuk(ok) kübik ve biraz silindirik pleomorfik tümör hücreleri stroma ile birlikte papiller yapılar oluşturuyor. Nükleol seçilemiyor (Öz 2005).

2.11.1.2.2. Papiller Mikrokarsinom (Okult)

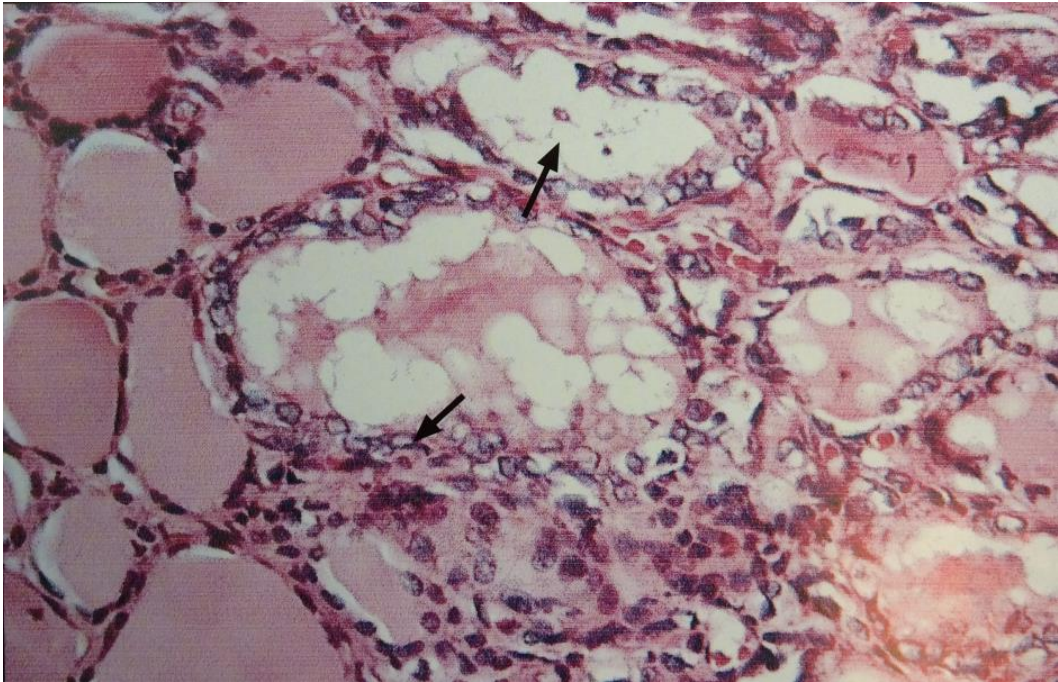
Çapı 1 cm' den daha az olan tümörler için papiller mikrokarsinom terimi kullanılır. Bu tümörlerin çoğunda folliküler ya da papiller özellikler olmasına rağmen, büyüklükleri 1 cm' nin altındadır. Papiller mikrokarsinomlar oldukça yaygındır. Otopsilerin %30'unda ve papiller tiroid kanseriyle ilgili olmayan düzensizlikler için yapılan cerrahi tiroitektomilerin % 24'ünde papiller mikrokarsinom görülmüştür (İşgör 2000). Yıldızvari düzensiz sınırlı oldukları gibi, kapsüllü denilecek kadar düzgün fibröz doku ile çevrili olabilirler. Bu olguların yaklaşık üçte birinde boyun lenf bezi metastazı bulunmuştur (Ünal 2000).



Çizim 2.15. Okult Papiller Karsinom ve Metastatik Lenf Düğümü: Tiroid lobunun bir polünde 0,7 cm çapında, düzensiz sınırlı beyazımsı renkli sert tümör ve sağ alt tarafta adenom izleniyor(ok). Solda kistik lenf düğümü (metastaz)(ok) görülüyor. Kistler Multipl boşluklar şeklindedir. Tümör Lenf düğümleri ile fark edilmiştir (Öz 2005).



Çizim 2.16. Erken Dönemde Okult Papiller Karsinom: Orta kısmında lobül yapısı bozulmuştur. Burada iri berrak çekirdekli, orta genişlikte stoplazmalı kübik atipik epitelyum ile döşeli, düzensiz foliküller yer almaktadır. Bazı döşeyici hücre çekirdeklerinde Groove yapısı (ok) gözlenmektedir (Öz 2005).

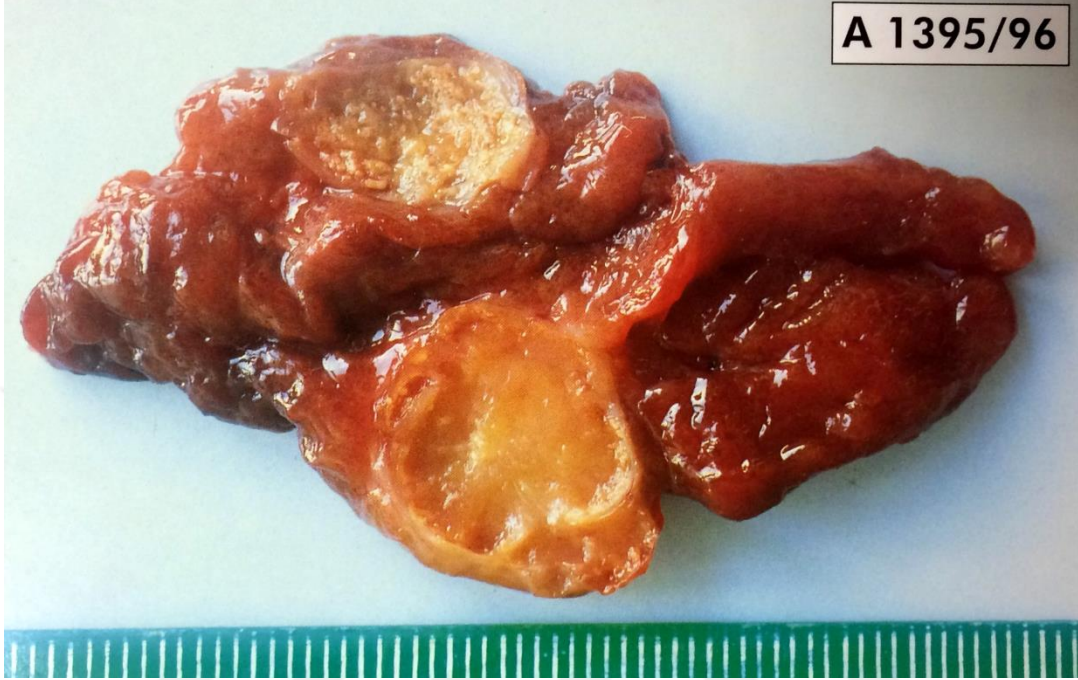


Çizim 2.17. Başlangıç Şeklinde Okult Papiller Karsinom: Orta kısımda, iri berrak çekirdekli çekirdek polaritesi bozuk epitelle döşeli birkaç folikül görülüyor (ok) (Öz 2005).

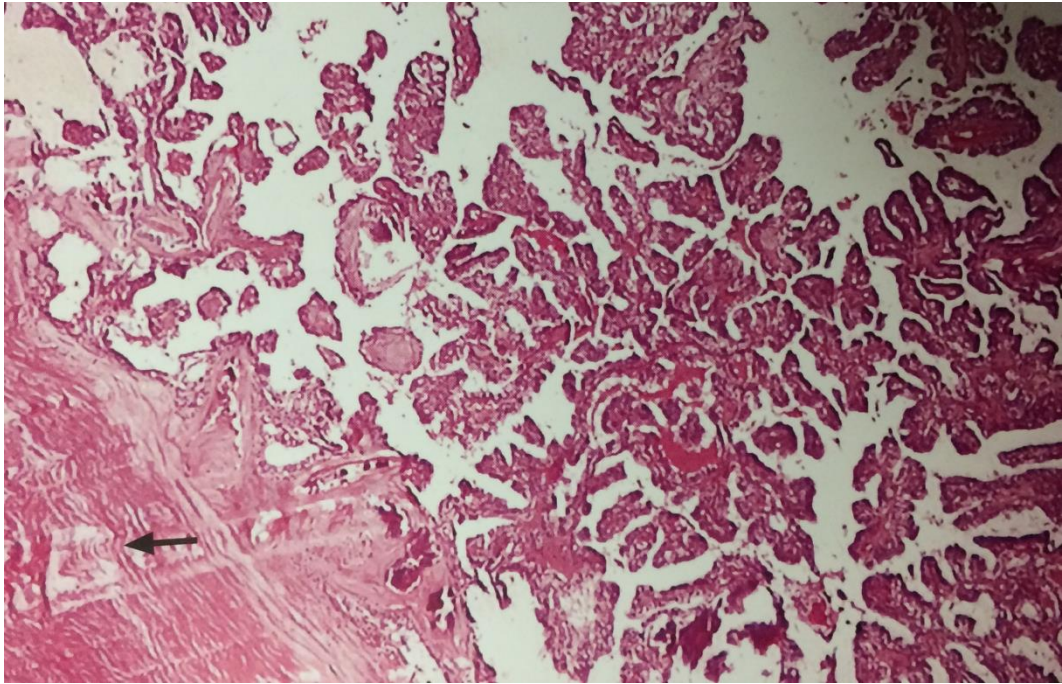
2.11.1.2.3. Kapsüllü Varyant

Tüm papiller tiroid kanserleri arasında sıklığı %8-13'tür. Makroskopik olarak tamamen kapsüllü olup, adenoma benzemektedir. Bazı durumlarda kapsülde fokal

invazyon görülebilir. Mikroskopik olarak kapsül ve papiller tiroid karsinomunun sitolojik özelliklerini içeren foliküler yapılar ya da tümüyle papiller yapılardan oluşmaktadır (Mills 2010).



Çizim 2.18. Papiller Karsinom, Kapsüllü Varyant: Tiroid dokusunun bir bölgesinde, kalın kapsüllü kesiti sarımsı, parlakça tümör dokusu vardır (Öz 2005).



Çizim 2.19. Papiller Karsinom, Kapsüllü Varyant: Solda kalın kapsül(ok), diğer kısımda dallı budaklı papiller oluşumlar vardır (Öz 2005).

2.11.1.2.4. Solid Varyant

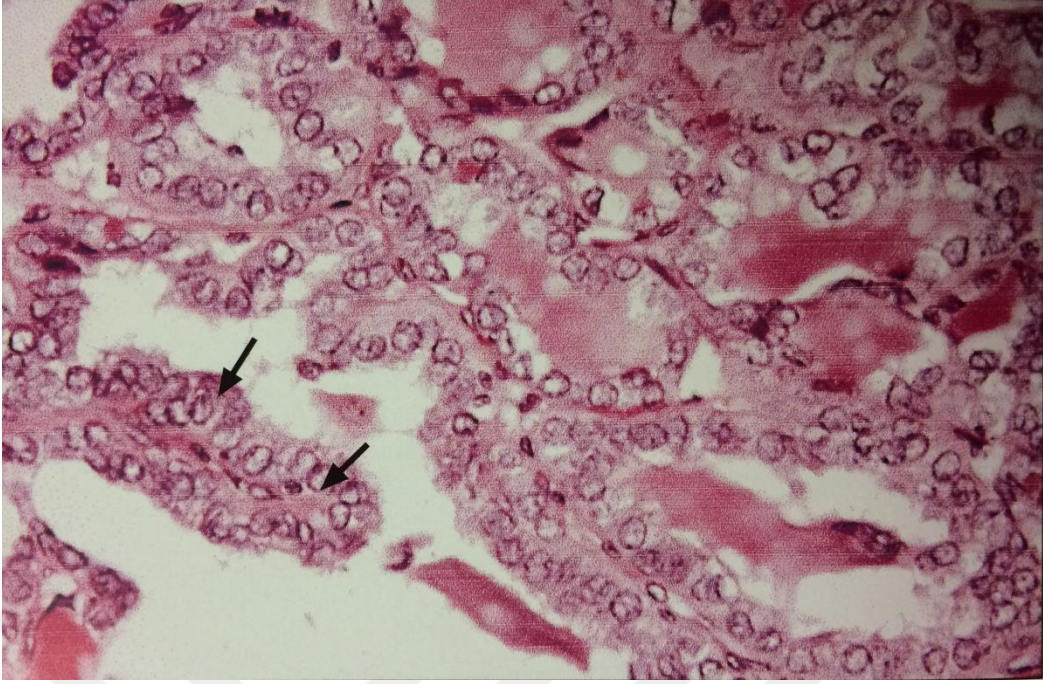
Erişkinlerde görülen papiller karsinomun %1-3' ünü oluşturur. Genç erişkinlerde yetişkinlere göre prevalans daha yüksektir. Özellikle radyasyona maruziyet öyküsü olan çocuklarda daha sık gözlenir. Çernobil nükleer kazası sonrasında gelişen pediatrik papiller karsinomların arasında solid varyant %30-35 olarak bulunmuştur. Solid varyant; solid, trabeküler, insuler büyüme paternleri göstermesi sebebiyle az differansiye tiroid karsinomu ile karışabilir. Nekroz, yüksek mitotik aktivite olmaması, papiller karsinomun nükleer özelliklerinin bulunması ile ayırt edilebilir (Nikiforov 2009).

2.11.1.2.5. Folliküler Varyant

İki tip folliküler varyant vardır. Bunlar; Kapsüllü Folliküler Varyant ve Kapsülsüz Folliküler Varyant'tır. Kapsüllü Folliküler Varyant, Lindsay tümörü olarak da bilinmektedir (Özdamar 2015). Kapsülle çevrili olan tümör, papiller karsinomu oluşturan hücrelerin özelliğini taşıyan pleomorfik tiroisitlerin oluşturduğu folikül yapılarından meydana gelir. Bu yapı ile papiller tiroid kanser tanı konulur. Bazen kapsül invazyonu görülebilir ya da boyun lenf bezi metastazı yapabilir. Kapsülsüz Folliküler Varyant ise, biyolojik davranışı papiller karsinom gibidir. Bu tip varyantın lenf bezi dışı uzak metastaz yapabilme olasılığının fazla olabileceği belirtilmektedir (Ünal 2000).



Çizim 2.20. Folliküler Varyantlı Dev Papiller Karsinom: Tümör dokusunun bir alanında kesiti kumlu, düzgün sınırlı, sarımsı renkli soliter lezyon (klasik tip papiller karsinom alanı) (ok) görülmektedir (Öz 2005).



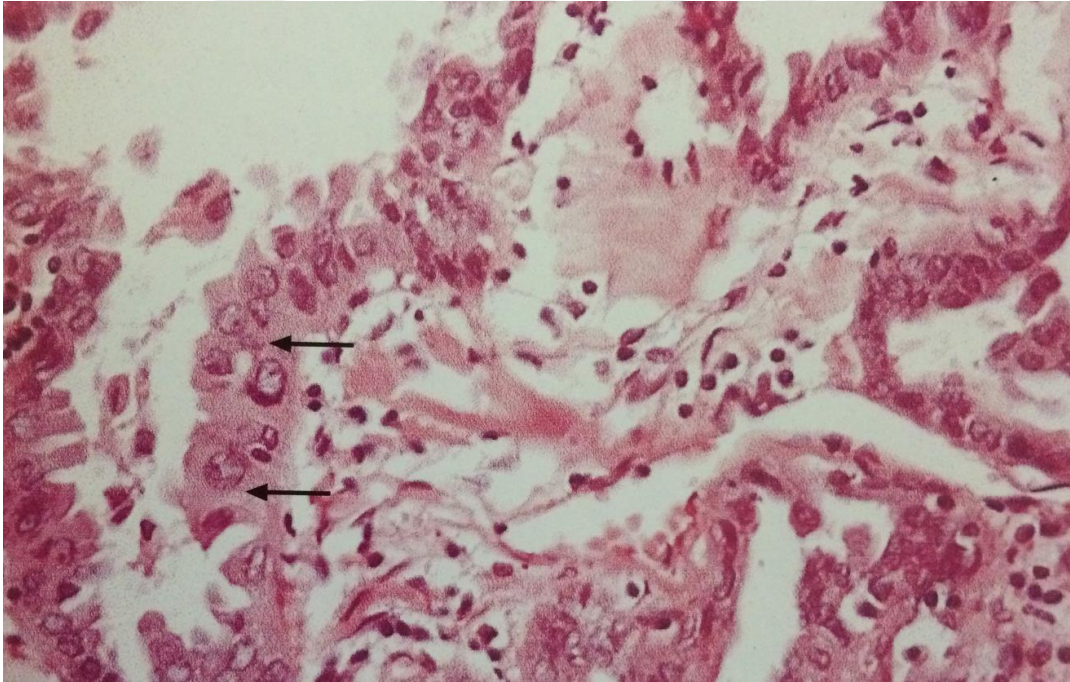
Çizim 2.21. Folliküler Varyantlı Papiller Karsinom: Berrak ve büyük çekirdekli epitelle döşeli foliküller görülüyor. Çekirdek polaritesi biraz bozuktur. Bir folikülde, lumene uzanan abortif papiller yapı vardır (ok) (Öz 2005).

2.11.1.2.6. Uzun Hücreli (Tall cell) Varyant

Papiller tiroid kanseri olgularının arasında %1.3-12' sini oluşturan nadir ve agresif bir varyanttır (Baloch 2013). Papiller yapıları oluşturan tümör hücre çekirdekleri, klasik tiptedir. Tümör hücresi oldukça yüksek silindirik olup, yüksekliği genişliğinin en az iki katı kadardır. Stoplazması eozinofildir (Ünal 2000). Papiller, trabeküler ve kordon benzeri yapılardan oluşan büyüme paterni görülebilir ve folliküler yapılara nadiren rastlanır. Çentik ve nükleer psödoinklüzyonlar, ekstratiroidal yayılım ve uzak organ metastazı klasik papiller karsinoma göre daha yaygın görülür (Delellis 2004). Tall hücreli varyant en fazla yaşlılarda görülür ve oldukça agresif varyanttır. Çevredeki dokulara infiltrasyon ve lokal nüks gösterme potansiyeli oldukça fazladır (Ünal 2000).



Çizim 2.22. Papiller Karsinom, Tall Cell Varyant: Bir polde yer almış belirli düzensiz sınırlı, sarımtırak beyaz sert tümör (ok) ve lezyon dışında adenomatöz hiperplazi nodülleri görülmektedir (Öz 2005).



Çizim 2.23. Papiller Karsinom, Tall Cell Varyant: Çekirdekler iri, berrak ve düzensiz; çekirdek polaritesi bozuktur. Sitoplazma yüksekliği genişliğinin iki katından fazla, sitoplazma asidofil görünümündedir (ok) (Öz 2005).

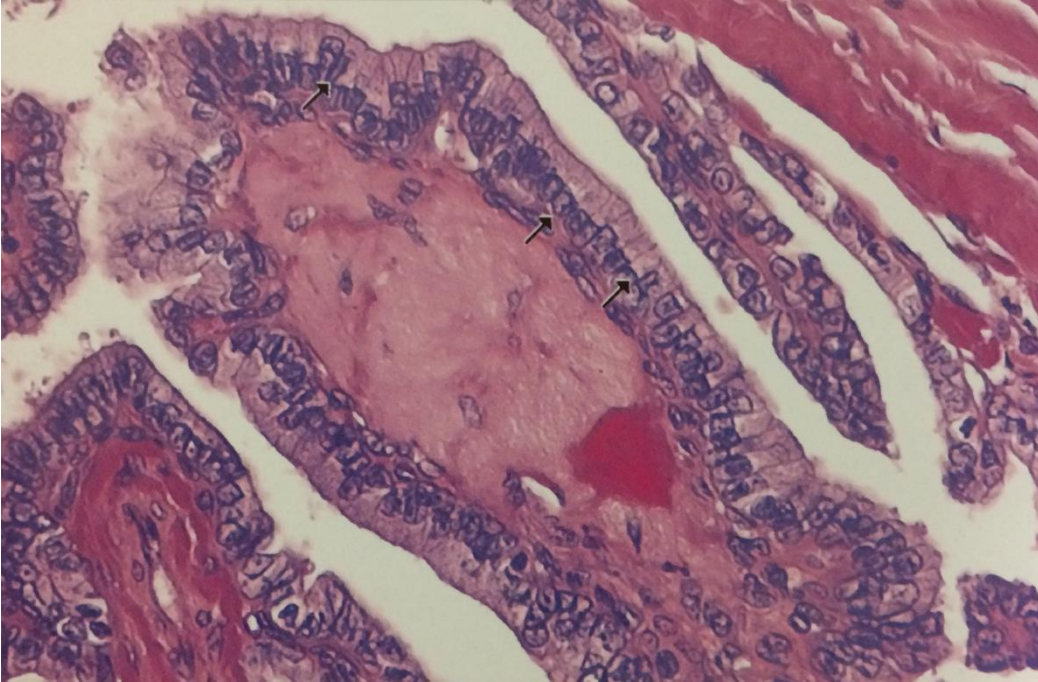
2.11.1.2.7. Onkositik (Oksifil) Varyant

Nadir rastlanan bir varyanttır. Genellikle makroskopik görüntüsü kıvılcık kahverengidir. Nadiren gri beyaz renkli olabilir. Papiller yapıların ince fibrovasküler korları onkositik

hücreler ile çevrilidir. Bu hücreler geniş, granüler eozinofilik sitoplazmalı, poligonal şekilli özelliklere sahiptir. Nükleer özellikleri klasik tip papiller karsinomun özellikleriyle aynıdır (Delellis 2004). Nükleol görülebilir ancak folliküler adenom veya karsinom kadar belirgin değildir. Onkositik varyantın %38-87' sinin zemininde kronik lenfositik tiroidit saptanmıştır ve BRAF mutasyonu olguların yaklaşık olarak yarısında görülmektedir (Nikiforov 2009).

2.11.1.2.8. Kolumnar Hücreli Varyant

Tümör hücreleri berrak, stoplazmalı silendirik elemanlardır. Çekirdekleri çok düzensizdir ve yalancı tabakalaşma gösterirler. Agresif varyanttır ve prognozları kötüdür (Ünal 2000). Klasik nükleer özellikleri genellikle yaygın değildir. Tümörlerde papiller, folliküler, trabeküler ve solid patern görülür. Folliküller uzamış ve boş tübüler glandlara benzerlik gösterirler. Bu yüzden gastrointestinal sistem, endometrium veya akciğer kaynaklı metastatik adenokarsinomla karıştırılır. TTF-1 ve tiroglobulin pozitifliğini ayırt edebilmek için tanıda yardımcıdır. BRAF mutasyonu olguların 1/3' ünde görülür (Delellis 2004, Sak 2015).



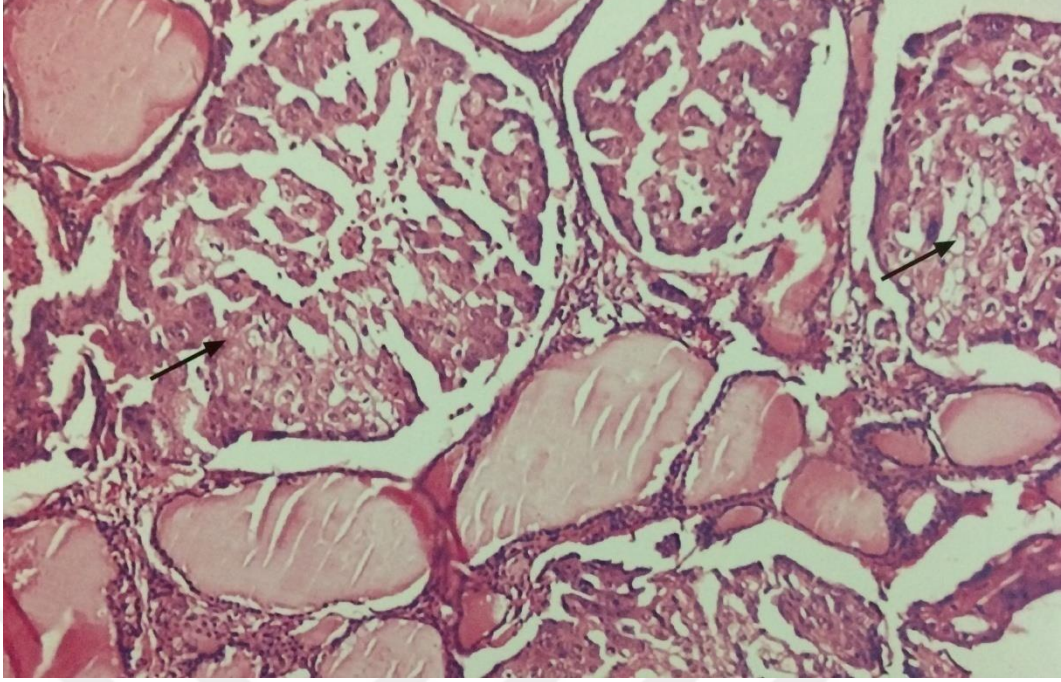
Çizim 2.24. Papiller Karsinom, Kolumnar Hücreli Varyant: İri ve berrak çekirdekli, sitoplazmaları genişçe ve berrak görünümlü yüksek silindirik tümör hücreleri gözlemlenmektedir. Çekirdek polaritesi biraz bozuktur (Öz 2005).

2.11.1.2.9. Diffüz Sklerozan Varyant

Papiller karsinom varyantlarının %2' sini oluşturur. Çoğunlukla genç erişkinlerde ve çocuklarda görülür ve genellikle kitle yapmaksızın bir ya da her iki tiroid lobunu diffüz olarak tutar (Nikiforov 2009). Büyük bir kısmında lenfatik boşluklar içerisinde yaygın skuamöz morul oluşturan küçük papiller yapılar gözlenir. Neoplastik hücreler klasik papiller karsinom hücrelerine benzerlik gösterir. Şeffaf ve glikojenden zengin stoplazma içerebilirler (Delellis 2004). Agresif papiller karsinom örneği olan bu varyantın belirgin bir kitle yapmayan tümör tiroidi diffüz olarak infiltre eder ve guatr izlenimi gösterir. Boyun lenf bezi ve akciğer metastazı oluşturabilir (Ünal 2000). BRAF ve RAS mutasyonu nadiren görülür. Çoğunlukla RET/PTK1 ve RET/PTK3 mutasyonları saptanır. Hastalısız sağkalım oranı ise klasik papiller karsinoma göre daha düşüktür (Özdamar 2015).



Çizim 2.25. Papiller Karsinom, Diffüz Sklerozan Tip: Her iki tiroid lobunda benzer özellikte tümör. Kesit yüzeyleri sarımsı renkli, kaba pürüklü görünümündedir, kıvam serttir, dışta tiroid kapsülü vardır (36 yaş, Akciğer ve boyun lenf düğümünde metastaz) (Öz 2005).



Çizim 2.26. Papiller Karsinom, Diffüz Sklerozan Varyant: Lobüllerin arasındaki stromada solid ve foliküler görünümde tümöral yapılar izlenmektedir (ok) (Öz 2005).

2.11.1.3. Etyoloji

2.11.1.3.1. Genetik faktörler

Papiller kanserlerin %95'i sporodik, %5'i aileseldir. Bu nedenle genetik eğilim papiller kanserde önemlidir. Yeni yapılan çalışmalar eski adı Tiroid Transkripsiyon Faktör 2 olan FOXE1 geninin papiller tiroid kanser ile birliktelik gösterdiğini ortaya koymuştur. Genom wide association çalışmaları (GWAS) 2 SNP'nin, ki bunlar 9q22.23 ve 14q13.3 de lokalizedir, papiller ve folliküler kansere riskin artırdığını saptamıştır (Özata 2016). Papiller tiroid kanserinde çoğunlukla RET, BRAF ve RAS genleri eksprese olur. Son yapılan çalışmalarla papiller tiroid kanserlerinin %29-83'ünde BRAF mutasyonu gösterilmiştir. Çernobil nükleer faciasından sonra yoğun radyasyona maruz kalan çocuklar veya çocukluk çağında eksternal radyasyona maruz kalan hastalarda görülen papiller tiroid kanserlerinde %60 oranında RET mutasyonu saptanmıştır (Nekay 2016). Familial adenomatöz polipozis koli (FAP), Cowden sendromu, nonpolipozis kolon kanser sendromu, Peutz-Jeghers sendromu ve ataksia telenjektazili hastalarda papiller tiroid kanseri tanımlanmıştır. FAP hastalarının %1-2'sinde tiroid kanseri görülmektedir, bunların %95'ten fazlası PTK morfolojisindedir. PTK' nın özellikle kribriform varyantının (KV) FAP ve Gardner sendromuyla birlikteliği fazladır. FAP' da olan APC gen mutasyonu veya

heterozigosite kaybı, familial PTK' da görülen RET/PTK1 aktivasyonu ile yakından ilişkilidir (Akkaş 2011). Ciltte aşırı pigmentasyon, hormonal aşırı aktivite ve miksom ile karakterize Carney kompleksinde ise tiroid kanseri riski düşük olup olguların %15' inde papiller ve folliküler tiroid kanseri izlenmiştir. Erken yaşlanma sendromu olan Werner sendromunda da daha çok folliküler karsinom ve anaplastik tiroid karsinomu riski artmakla birlikte papiller tiroid karsinomunda da risk artışı vardır (Son 2012). Son yıllarda yapılan çalışmalara göre, mutasyonlar ve genlerin yeniden düzenlemeleri ile ilgili yapılan çalışmalarla tiroid kanserinin oluşum basamaklarını ve biyolojik davranışını anlamaya yardımcı olacak biyolojik belirteçler bulunması amaçlanmaktadır. Bu doğrultuda papiller tiroid kanserlerinde yeni bir onkogen tanımlanmıştır. Bu genlere papiller tiroid kanserinin İngilizce baş harflerine göre PTK onkogeni adı verilmiştir. Fakat çoğu tiroid kanserinde PTK onkogen düzenlemesi yoktur ve bunların oluşumunun moleküler mekanizması bilinmemektedir (Karga 1991).

2.11.1.3.2. Radyasyon

En yaygın etyolojik faktördür. Etyopatogeneizde en önemli faktörler baş, boyun ve toraksa uygulanan radyasyondur. Olguların %5-10'unda boyunda radyasyon maruziyet öyküsü görülmüştür (Özdamar 2015). 1950'lerde gelişmiş olan timus ve akne gibi tedavilerde X-ışınlanmanın kullanılması PTK' nın görülme olasılığının artmasına katkıda bulunmuştur. 1986 yılında Çernobil nükleer kazası Beyaz Rusya, eski Sovyetler Birliği ve kazaya yakın diğer alanlarda PTK' nın görülme sıklığını belirgin bir şekilde arttırmıştır. Bu görülme sıklığında saptanan en çarpıcı artış çocuklarda olmuştur. Çünkü tiroidin büyümesi çocukluk çağında çok hızlı, yetişkinlerde ise düşük seviyededir (Lloyd 2011).

2.11.1.3.3. İyot

İyot eksikliğinde en fazla görülen tiroid malignitesi papiller karsinomudur. Tiroid eksikliği olan bu bölgelerde gelişen tiroid karsinomları iyot bakımından zengin bölgelere göre daha agresif ve daha az differansiyedir (Williams ve diğ. 2008).

2.11.1.4. Papiller Tiroid Kanserinde Evreleme

Günümüzde en sık kullanılan evreleme sistemi TNM sistemidir. TNM evreleme sistemi, bütün kanserler için ilk kez 1940 yıllarında, tiroid kanserleri için ise ilk kez 1987

yılında American Joint Cancer Committee/ Union International Contre le Cancer (AJCC/UICC) tarafından tanımlanmıştır.

2.11.1.4.1. TNM evreleme sistemi

T (Tümör), bölgesel lenf gangliyonu (**N**ode), uzak metastaz (**M**etastases).

2.11.1.4.1.1. Primer Tümör (T)

- **T_x** Primer tümör değerlendirilemiyor
- **T₀** Primer tümöre ait kanıt yok
- **T₁** Tiroid ile sınırlı en büyük çapı 2 cm ve altı tümör
- **T_{1a}** Tiroid ile sınırlı 1 cm ve altı tümör
- **T_{1b}** Tiroid ile sınırlı 1 cm üstü, 2 cm ve altı tümör
- **T₂** Tiroid ile sınırlı 2 cm üstü, 4 cm ve altı tümör
- **T₃** Tiroid ile sınırlı 4 cm ve üzeri tümör veya minimal tiroid dışı yayılım (sternotiroid kasa veya peritiroid yumuşak dokuya)
- **T_{4a}** Herhangi bir boyuttaki tümörün tiroid kapsül dışına çıkarak subkutan yumuşak dokuya, larinkse, trakeaya, özofagusa veya rekürren larengeal sinire yayılım
- **T_{4b}** Tümörün prevertebral fasyaya yayılımı, karotid arter/mediastinal damarları kapaması
- Tüm anaplastik tümörler T₄ olarak kabul edilir:
- **T_{4a}** İntratiroidal anaplastik karsinom
- **T_{4b}** Belirgin tiroid dışı yayılımla anaplastik karsinom

2.11.1.4.1.2. Bölgesel lenf gangliyonu (N) (N)

- **N_x** Bölgesel lenf gangliyonları değerlendirilemiyor
- **N₀** Bölgesel lenf gangliyonlarında metastaz yok
- **N₁** Bölgesel lenf gangliyonlarında metastaz var
- **N_{1a}** Level VI'da metastaz (pretrakeal, paratrakeal, prelaringeal/Delfian lenf gangliyonları)
- **N_{1b}** Unilateral, bilateral, kontralateral servikal (I, II, III, IV veya V.bölgeler) veya retrofarengeal veya üst mediastinal (VII. bölge) lenf gangliyonlarına metastaz

2.11.1.4.1.3. Uzak metastaz (M)

- **M₀** Uzak metastaz yok
- **M₁** Uzak metastaz var

Çizelge 2.5. Diferansiyel Tiroid Kanserinde TNM sınıflandırmasına göre evreleme

	45 yaş altı	45 yaş üzeri
EVRE I	Herhangi T, herhangi N, M0	T1, N0, M0
EVRE II	Herhangi T, herhangi N, M1	T2, N0, M0
EVRE III	–	T3, N0, M0 T1, N1a, M0 T2, N1a, M0 T3, N1a, M0
EVRE IVA	–	T4a, N0, M0 T4a, N1a, M0 T1, N1b, M0 T2, N1b, M0 T3, N1b, M0 T4a, N1b, M0
EVRE IVB	–	T4b, herhangi N, M0
EVRE IVC	–	Herhangi T, herhangi N, M1

2.11.1.5. Tanı ve Tedavi

2.11.1.5.1. Tanı

Papiller tiroid kanserinin tanısal özellikleri arasında çekirdeksel genişleme ve düzensizlik, üst üste gelmek, temizleme (çim ya da Orphan Annie görünümü) yer alır. Genellikle PTK' ler karmaşık dallanmış bir yapıda, papiller çekirdeklerin yüzeyleri neoplastik hücrelerle kaplanmış özelliktedir. Psammom yapılar vakaların %50'sinde görülmüştür ve tipik olarak stroma ya da lenfatik kanallarda meydana gelmiştir. İntratümöral fibröz ve lenfositik sızmalar bu tümörlerin diğer ortak özellikleridir (Delellis 2006).

Tanı, genellikle asemptomatik hastalarda tiroid nodülünün belirlenmesiyle konur, fakat tiroid nodüllerinin çoğu benigndir. Tiroid kanser insidansı tüm tiroid nodüllerinin sadece %3-5'inde bulunmaktadır ve kansere bağlı ölümlerin ise sadece %0.4' ünden sorumlu tutulur (Pacini 2001). Klinik bulgularda genellikle nodüle eşlik eden ağrı, ses kısıklığı, disfaji, hemoptizi, çevre dokuya infiltrasyon veya hızlı büyüme gibi şikayetlerin hikayede olması, malignite ve ilerlemiş hastalık kriterleridir. Çocukluk çağında baş ve boyun bölgesine radyasyon anamnezi olması, tiroid nodülünde malignite şüphesine sebebiyet verir. Fakat radyasyona maruz kalan kişilerin %30'unda palpabl tiroid nodülü

gelişir. Bunların da sadece 1/3'ü maligndir. Bu kişilerde nodülün kanser olma ihtimali %35-40'tır. Genel popülasyonda ise bu oran % 5'tir (Mackenzie 2004). Papiller kanserler genellikle palpasyonla ele gelen ve yutkunmayla hareket eden nodüllerdir ve bu nodüllerin çoğu sintigrafik olarak soğuk nodüllerdir (Gimm 2001). Bazen servikal lenf nodu metastazı tek bulgu olabilir. Fizik muayenede nodülün sert ve düzensiz olması, nodül ile aynı tarafta büyümüş lenf nodunun varlığı ve nodül çapında progresif büyüme olması malignite açısından şüphe uyandırmalıdır (Pacini 2001). Ultrason ile nodül ve eşlik eden lenf nodu varlığının saptanması da önemlidir. Ultrason ile nodülün hipoekoik olması, periferik halo bulunmaması, düzensiz sınırlı olması, mikrokalsifikasyon, nodülün boyunun eninden fazla olması, intranodüler vasküler noktalanma ve nodülün hipervasküler olması malignite bakımından kuşku bulgularıdır (Mazzaferri 2002). Ötiroid bir hastada saptanan bir nodüle benign ve malign ayrımını yapabilmek için yapılacak ilk işlem ince iğne aspirasyon biyopsisidir. Multinodüler guatlarda dominant nodülden ve USG ile şüpheli bulguların tespit edildiği nodülden İİAB yapılmalıdır. İİAB ile elde edilen sonuçlar benign, malign ve şüpheli olmak üzere 3 şekilde yorumlanır (Schlumberger 1998).

2.11.1.5.2. Tedavi

Tiroid kanseri tedavileri çoğunlukla başarılı sonuç verirler. Fakat kanserin ileri safhalarında tedavi oldukça güçleşir.

2.11.1.5.2.1. Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavi, özellikle deneyimli cerrahlar tarafından uygulandığında çoğu tiroid kanser vakalarında oldukça etkili tedavi yöntemidir. Büyük yan etkilerinin olmaması da bu tedavinin etkili olmasının bir kanıtıdır.

2.11.1.5.2.2. Radyoaktif İyot Tedavisi (RAI)

Ameliyat sonrası RAI tedavisi uygulanması kanserin tekrar ortaya çıkmasını engelleyerek hastalara tedavi süreçlerinde yardımcı olmaktadır. Bazı araştırmacılara göre hücrelerde BRAF genindeki mutasyon RAI tedavisine yanıt verme olasılığını azaltabilir. Bu nedenle araştırmacılar tiroid kanseri hücrelerinde BRAF yolağını hedef alan yeni ilaçların radyoaktif iyot almaya olası hale gelmesi konusunda çalışmalar sürdürmektedir. Bu tür ilaçların, artık RAI tedavisine yanıt vermeyen gelişmiş kanser vakaları için faydalı olabileceği düşünülmektedir. RAI tedavisi genellikle 2cm'den büyük primer tümörlerin ve daha agresif PTK varyantlarının tedavisi için tavsiye edilir (Guerrero ve Clark 2011).

2.11.1.5.2.3. Kemoterapi ve Hedefe Yönelik Tedaviler

Genellikle tiroid kanserleri kemoterapiye yanıt vermezler. Ancak heyecan veren bulgular hedefe yönelik yeni ilaç tedavilerinin oluşmasına olanak sağlamaktadır. Bu

ilaçlar, kanser hücreleri de dahil hızla büyüyen hücreleri hedef alan standart kemoterapi ilaçlarının aksine sadece kanser hücrelerini hedef alırlar. Hedefe yönelik tedaviyi sağlayan bu ilaçlar standart kemoterapi ilaçları olmadığı durumlarda kullanılır. Bu ilaçlar çoğunlukla düşük yan etkilere sahiptir. Hedefe yönelik gen tedavisinde bilinen bir grup olan kinaz inhibitörleri tiroid kanserinde belirli genlerde (BRAF ve RET/PTK gibi) meydana gelen mutasyonların onarımında yardımcı olabilir. Bu ilaçların birçoğu da tümörün kan damarları oluşturarak büyümesini engeller. Pek çok papiller tiroid kanserinde, hücre büyümesinde yardımcı olan BRAF geninde mutasyon vardır. BRAF gen değişikliklerinin olduğu hücreleri hedef alan ilaçlar ile tiroid kanserinde meydana gelen bu değişiklikler incelenmektedir. Sadece BRAF geni mutasyonu değil ayrıca NRAS adı verilen farklı bir genin mutasyonu için de kullanılmasının olumlu sonuçlar sağladığı görülmüştür.

2.11.1.6. Papiller Tiroid Kanserinin Moleküler Biyolojisi

2.11.1.6.1. Moleküler belirteçler

Moleküler belirteçlerden tanı, ayırıcı tanı, prognoz belirlenmesi ve tedavi olmak üzere birçok aşamalarda faydalanılmaktadır. Bu moleküler belirteçlerden olan Galektin-3, lektin grubundan proteinlerdir. Hücre yüzeyi ve stoplazmasını etkilerler. Bazı üyeleri apoptozu uyarır, fakat galektin-3 hücreleri malign fenotipe dönüştürür. Adhezyon ve migrasyon dahil hücrelerin davranışlarını değiştirerek tümörlü hücrelerin metastaz kabiliyetini artırır. HMBE-1(Hektor Battiflora Mesothelial Cell Antibody) malign mesotelioma hücrelerini boyamak için bulunan bir fare monoklonal antikordur. Folliküler orjinli kanserlerde sensitivitesi % 80-90 spesivitesi ise % 60-96 arasında seyretmektedir. HMBE-1 ve galektin-3 birlikte kullanımı ile tiroid lezyonlarının tanısında etkinliği arttırdığı saptanmıştır (Yalçın 2012).

2.11.1.6.2. Genetik Belirteçler

Papiller ya da folliküler tiroid kanserlerinde başlangıçta agresiviteye sebep olabilecek birtakım somatik mutasyonlar vardır. Bu somatik mutasyonlar arasında en çok çalışılan RET/PTK mutasyonudur. RET protoonkogeni (transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiştir) 10.kromozomun uzun kol proksimalinde yerleşmiş 21-ekson gendir ve ilk defa 1985'te tanımlanmıştır. RET gen yeniden düzenlenmesi RET/PTK gen düzenlenmesi olarak bilinmekte olup papiller tiroid kanserinde oluşur. Ondan fazla genin yeniden düzenlenmesi tanımlanmıştır ve RET/PTK1, RET/PTK2, RET/PTK3 papiller tiroid

kanserinde tespit edilmiştir ve çoğu genin yeniden düzenlenmesinden sorumludur. Olguların sırasıyla %60-70, %10, %20-30'undan sorumludur. RET/PTK1 en fazla klasik, papiller mikrokarsinom ve diffüz sklerozan tipte görülürken, RET/PTK3 solid varyantta gözlenir. Son çalışmalar, RET/PTK gen yeniden düzenlenmesinin 10'dan fazla tipinin radyasyon anamnezi olan pediatrik papiller tiroid kanserinde %50-70 gibi bir oranda yaygın olarak görüldüğünü saptamıştır (Şimşek 2013). Tiroid kanser genetiği alanında en güncel ve papiller tiroid kanserinde en yaygın moleküler defekt; BRAF-aktive nokta mutasyonudur. BRAF tiroid folikül hücrelerde en çok görülen izoformdur. Mitojen-aktive protein kinaz yolunun en potent aktivatörü olan BRAF 7.kromozom üzerinde yer alır. Hücrenin proliferasyon, farklılaşma ve apoptozunda kritik rol oynamaktadır (Şimşek 2013). BRAF geninde meydana gelen kırktan fazla mutasyonun en fazla görüleni (%90) T1799A mutasyonudur ve bu mutasyon BRAF proteininde V600E aminoasit değişikliği yaparak BRAF kinazda devamlı ve onkonik aktivasyona neden olur (Yalçın 2012). Papiller tiroid kanserinde foliküler varyantında da BRAF mutasyonu gösterilmiştir, fakat bu mutasyon V600E tipi mutasyon değildir. Farklı bir tip mutasyon olan K601E tipi mutasyondur. BRAF mutasyonunun yüksek sıklığı ve spesifikliğı papiller tiroid kanserinde daha tümörögenезin başlangıcında temel rol oynayabileceğı iddia edilmiştir. BRAF mutasyonlu papiller tiroid kanserinin farklı fenotipik ve biyolojik özellikleri vardır ve daha agresif, daha kötü prognoza sahip olabilirler. Papiller tiroid kanserinin agresif varyantı olan tall cell varyantta genellikle BRAF mutasyonu söz konusudur (Şimşek 2013). Transform olmuş hücrelerde en yaygın bilinen mutasyonlardan bir diğeri RAS mutasyonlarıdır. H-RAS, K-RAS ve N-RAS olmak üzere üç RAS geni, tümör gelişiminde önemli rol oynarlar. Bu üç RAS geninde gözlenen mutasyonlar benign ve malign tiroid tümörlerinde tespit edilmiştir. Bu mutasyon papiller tiroid kanserinin folliküler varyantında çok sık olup diğery varyantlarında görülmediğı bildirilmiştir. Tümör supresör gen olan PTEN mutasyonları ise papiller tiroid kanserinde ender görüldüğü saptanmıştır. Bunun yanında son araştırmalarda bir hücre yüzey glikoproteini olan MUC1, papiller tiroid kanserinde bağımsız prognostik faktör olarak agresif papiller tiroid kanserinde terapötik rolü olduğu tespit edilmiştir (Şimşek 2013). PAX8-PPAR γ mekanizmaları da karsinogenezde tespit edilmiştir. PAX8 geni tiroid folikül hücrelerinin çoğalmasını amacıyla zorunlu bir kopyalama faktörü kodlar. PPAR γ geni ise tiroid hormonu ve bir grup hormon reseptörünün üyesidir. Papiller kanserin folliküler varyantı olgularının yaklaşık %33'ünde görülür (Yalçın 2012).

3.GEREÇLER VE YÖNTEMLER

2016-2017 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndan papiller tiroid kanseri tanısıyla 20 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu 20 hasta arasından 17'si kadın, 3'ü erkektir. Yaş ortalamaları 45, yaş olarak en küçük hasta 23, en büyük hasta ise 71 yaşındadır. Kontrol grubu için de benzer şekilde opere edilen 10 normal tiroid hastalarından alınan tiroid dokusu çalışmaya dahil edilmiştir. Bu 10 hastanın 1'i erkek diğer 9'u kadındır. Yaş ortalamaları 40, yaş olarak en küçük hasta 31, en büyük hasta 65 yaşındadır. Örnekler (tümörlü ya da normal doku) opere edilir edilmez sıvı azot içerisinde muhafaza edilerek işlem yapılmıştır. Toplanan tüm tümör dokuları ve normal dokular Kocaeli Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda patoloğlar tarafından konfirme edilmiştir. Bu çalışma için Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 2016/17.13 koduyla onay alınmıştır. Her tümör ve kontrol grubu hastalarından aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

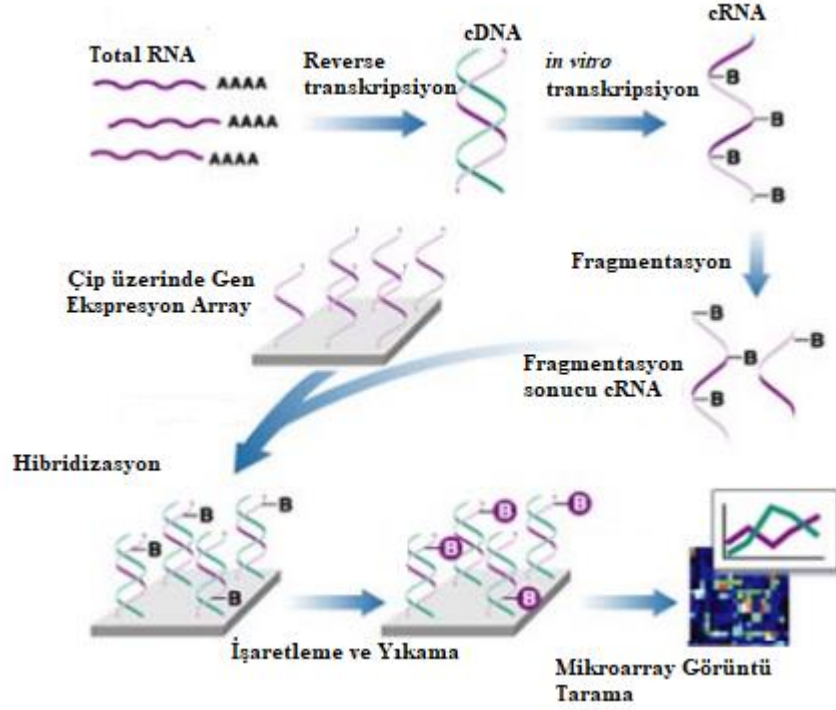
Çizelge 3.1. Tümör ve Kontrol Grubu

	Tümör Grubu	Kontrol Grubu
Hasta sayısı	20	10
Kadın hasta sayısı	17	9
Erkek hasta sayısı	3	1
Yaşı en büyük olan hastanın yaşı	71	65
Yaşı en küçük olan hastanın yaşı	23	31
Yaş ortalaması	45	40

3.1. Yöntemler

Örneklerin gen ekspresyonları Gen Ekspresyon Mikroarray çalışmasıyla yapılmıştır. Çizim 3.1.'de uygulanacak metodun aşamaları gösterilmiştir. Gen ekspresyon mikroarray çalışması için iş akışı ise aşağıdaki gibidir:

Dokudan RNA izolasyonu → RNA kalite kontrolü → cDNA sentezi → cRNA sentezi → Hibridizasyon → İşaretleme ve yıkamalar → Mikroarray görüntü tarama → Veri analizi



Çizim 3.1. Gen Ekspresyon Mikroarray Metodu Şematik Gösterimi

3.1.1. Dokudan RNA İzolasyonu

Yapılacak olan çalışma gen ekspresyon çalışması olduğu için protein elde etmemiz gereklidir ve bu nedenle toplanan tüm doku örneklerine RNA izolasyonu işlemi uygulanmıştır. Total RNA, QIAGEN RNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılarak izole edilmiştir. RNA izolasyonu prosedürünün detayları aşağıda belirtilmiştir:

1. Manyetik toprakların bulunduğu MagNA Lyser Green Beads tüpleri içerisine 10ml RLT buffer + 100µl β-mercaptoethanol karışımı (%1) hazırlanarak her birine 1000µl hazırlanan bu karışımdan konuldu ve bu tüplerin içerisine doku örnekleri alındı.
2. İçerisinde doku olan green beads tüpler FastPrep EP120 Thermo Scientific cihazında 6. programda 40 sn. homojenize edildi.
3. Ardından tüpler buz aküsüne konularak Sigma soğutmalı santrifüjde +4°C' de 12.000g.'de 5 dk. santrifüj edildi.
4. Tüplerin içerisnde oluşan süpernatanttan 600µl alınarak 1,5µl'lik ependorf tüplere konuldu. Alınan süpernatantlar 600µl %70'lik hazırlanan ethanol ile mix edildi.
5. Mix edilen bu 1.200µl'lik karışım filtreli RNeasy Mini Spin Column tüplerinden geçirilip 10.500g'de 30 sn. santrifüj edildi. Bu işlem total karışımdan iki seferde 600µl filtreden geçirilerek yapıldı.

6. Kontaminasyonun engellenmesi amacıyla her filtreden geçirme işlemi sonrası filtreler temiz tüplere aktarıldı. Daha sonra filtrede tamamen RNA kalması için yıkama işlemine devam edildi.
7. Filtrelere 700µl RW1 eklenir ve 10.000g'de 30 sn. santrifüj edildi.
8. Ardından tekrar temiz tüplere aktarılan filtrelere 700µl RPE solüsyonu eklenip 11.200g'de 30 sn. santrifüj edildi ve tekrar 600µl RPE eklenerek 12.500g'de 2,5 dk. santrifüj edildi.
9. Temiz tüplere aktarılan filtreler 10.000g'de 30 sn. boş bir şekilde santrifüj edildi.
10. Sonraki aşamada ise filtreler temiz kapaklı tüplere alınarak 50µl elution buffer filtrelere eklenip tüpler 10.000g'de 1 dk. santrifüj edilerek RNA elde edildi.

3.1.2. RNA Kalite Kontrolü

İzolasyon sonucunda elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık değerleri Thermo Scientific Nanodrop 2000 spectrophotometer cihazı ile ölçüldü. Çıkan konsantrasyon değerlerinin 50 ng/µl' den büyük olduğu ve A260/A280 oranının yaklaşık 2, A260/A230 oranının ise yaklaşık 1,8 değerlerinde olduğu konfirme edildi. Bu koşullara uygun RNA örnekleri için Agilent 2100 Bioanalyzer cihazı ve Agilent RNA 6000 Nano Reagent Part I kitine uygun protokol ile bioanalyser işlemi yapıldı. Prosedürün detayları aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir:

1. Çalışmaya başlamadan önce sonuçların daha sağlıklı ve güvenilir olması açısından cihaz temizliği yapıldı. Bunun için Agilent Technologies Electrode Cleaner mikro çip kullanıldı. İlk önce 350µl H₂O yüklenen mikro çip cihaza yerleştirildi ve 10sn. bekletildi. Ardından 350µl RNase zap yüklenen bir diğer mikro çip cihaza yerleştirildi ve 1dk. bekletildi.
2. Agilent RNA 6000 Nano Reagent Part I kit çalışmaya başlamadan yarım saat önce oda sıcaklığında bekletildi ve RNA 6000 Nano Dye ışıktan muhafaza edildi. Kit içerisinde bulunan RNA 6000 Nano Jel' den 550 µl spin filtrelere pipetlenerek alındı. 1500g'de oda sıcaklığında 10dk. santrifüj edildi. 0,5 ml' lik tüplere 65 µl olacak şekilde alikotlandı. Alikotlanan jel +4°C' de muhafaza edildi. Jel-boya karışımı hazırlandı. Boya (Nano Dye) 10sn. vortekslenip alikotlanan 65 µl jel içerisine 1 µl ilave edildi. Solüsyon vortekslenip oda sıcaklığında 13.000g' de 10dk. santrifüj edildi (Hazırlanan karışım 1 gün içerisinde kullanılmalıdır).

3. Çalışmaya alınan örneklerin RNA miktarı 25-500 ng/μl olmasına dikkat edildi. Aksi takdirde istenilen konsantrasyon için RNA' lara dilüsyon işlemi yapıldı.
4. RNA örneklerinden ve Ladder' dan 2μl 0,5ml' lik tüplere alınıp 70°C' de 2dk. denaturasyonları yapıldı.
5. Hazırlanan gel-boya karışımından mikro çipin üzerinde bulunan **G** sembolü olan kuyucuğa 9 μl konuldu ve istasyona yerleştirildi.
6. Sonraki aşamada Syringe kit içerisindeki şırınga istasyona takıldı. Şırınganın takılı olduğu mandal en üst bölmeye getirildi ve şırınga 1ml.'ye kadar çekildikten sonra istasyon kapatıldı.
7. İstasyon kapatıldıktan sonra şırınga mandal kısmına kadar yavaş yavaş itildi. 30 sn. bekletilip klips açılıp şırınga yavaş ve kontrollü bir şekilde eski haline getirildi.
8. Daha sonra diğer G kuyucuklarına da 9 μl jel-boya karışımından koyuldu. Geriye kalan diğer 13 kuyucuğa 5 μl. marker koyuldu. Mikroçipin alt ve sağ kuyucuğuna 1 μl denatüre edilen Ladder ve kalan 12 kuyucuğa da denatüre edilen RNA' lar koyuldu.
9. Mikro çip Minishaker' da 2400 rpm' de 1dk. santrifüj edildi.
10. Çip cihaza yerleştirilip 2100 Expert programı açıldı. Assay file ökaryot total RNA olarak seçilip start yapıldı.
11. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra analizleri yapıldı. RIN (RNA integrity number) değerleri 6-7' den büyük olanlar çalışmaya dahil edildi.

3.1.3. cDNA Sentezi

İzole edilen RNA' ların nanodropta kantite ve Bioanalyzer' da kalite değerlerine bakıldıktan sonra çalışma için uygun bulunan papiller tiroid ca RNA' ları ve kontrol grubu RNA' larına eşit miktarda (mikrolitresinde 200ng olacak şekilde) dilüsyonlar yapıldı. Çalışma için uygun bulunan RNA örnekleri amplifiye edildi. Bunun için 'Agelient lowInput QuickAmp Labeling Kit' kullanıldı. Üretici protokolüne uygun olarak cDNA sentezi yapıldı. cDNA sentez aşamaları aşağıdaki gibidir:

1. İlk olarak 'Agelient RNA Spike-In Kit, One color' kitine göre spike mix hazırlandı.
2. Nanodropta ölçülen konsantrasyonlara göre örnekler 1,5 mikrolitresinde 50ng olacak şekilde dilüe edildi.
3. Daha sonra 2'şer mikrolitre hazırlanan spike mix dağıtıldı.
4. Örnek başına 0,8μl T7 primer kit ve 1μl nuclease free water dağıtıldı.

5. Total volum 5,3µl olan örnekler 65°C' de 10dk inkübe edildi ve ardından 5dk buz aküsünde bekletildi.
6. cDNA mix örnek başına 1µl DDT, 0,5µl dNTP, 1,2µl RNase block mix affinity script enzim ve 2µl 80°C' de 4dk bekletilen Prewarm 5x First Strand Buffer olacak şekilde hazırlandı (en son enzim eklendi).
7. Hazırlanan mix 4,7µl'şer örnekler dağıtıldı ve böylece total volum 10µl olan örnekler 40°C'de 2 saat + 70°C'de 15 dk Termal Cykler' da bekletildi. İnkübasyondan sonra 5dk. buz aküsünde bekletildi. Böylece cDNA elde edildi.

3.1.4. cRNA Sentezi

Gen ekspresyon çalışmasında protein elde edilmesi gerekeceği için cDNA' lar transkripsiyon ile cRNA haline getirildi. Böylece daha sağlam bir RNA yapısı elde edildi. Bunun için gerekli olan cRNA sentez prosedürünün detayları aşağıdaki gibidir:

1. cRNA mix örnek başına 0.75µl nuclease free water, 3.2µl 5x transkripsiyon buffer, 0.6µl 0.1m DTT, 1µl NTP mix, 0.21µl T7 RNA polimerase blend ve 0.24µl Cy3 boya olacak şekilde hazırlandı (Boyanın ışıktan korunması için bu aşamadan sonra çalışmaya karanlık ortamda devam edildi).
2. Hazırlanan mix 6µl' şer cDNA örneklerine dağıtıldı.
3. Total volum 16µl olan örnekler 40°C' de 2 saat inkübasyona bırakıldı.

3.1.5. Pürifikasyon

cRNA' lar elde edildikten sonra pürifikasyon işlemi uygulandı. Pürifikasyon işleminin detayları aşağıdaki gibidir:

1. 84µl nuclease free water eklenerek total volumu 100µl olan örnekler 350µl RLT buffer ve 250µl ethanol ile yıkama yapıldı.
2. 700µl volum örnekler RNeasy Mini Spin Column tüplere aktarıldı ve 4°C' de 13.000rpm' de 30sn santrifüj edildi.
3. Filtrede kalan RNA' lar 2 defa 350µl RPE buffer ile yıkandı. 4°C' de 13.000rpm' de 30sn santrifüj edildi.
4. 4°C' de 13.000g' de 1dk solüsyon olmadan boş bir şekilde filtreli tüpler santrifüj edildi.
5. Filtrelere 30µl RNase free water konularak 1 dk. bekleme süresinden sonra 4°C' de 13.000rpm' de 30sn santrifüj edildi.

6. Örneklerin nanodropta nükleik asit (ng/μl) ve Dye1 (Cy3 pmol/μl) değerlerine bakılarak spesifik aktivite ve yield değerleri hesaplandı.

cRNA yield değeri hesaplama: Çıkan sonuç 1,65mg'den büyük olmalıdır.

$$\text{yield değeri} = \frac{\text{cRNA konsantrasyon} \times 30\mu\text{l}}{1000} = \dots\dots\text{mg}$$

cRNA spesifik aktivite hesaplama: Çıkan sonuç 6mg'dan büyük olmalıdır.

$$\text{spesifik aktivite} = \frac{\text{cy3konsantrasyon} \times 1000}{\text{cRNA konsantrasyon}} = \dots\dots\text{mg}$$

3.1.6. Hibridizasyon

Uygunluğu tespit edilen örnekler için hibridizasyon işlemi uygulandı ve bunun için 'Agilent Gene Expression Hybridization Kit' kullanıldı. Hibridizasyon işlemi detayları aşağıdaki gibidir:

1. Oda sıcaklığında liyofilize halindeki 10x Bloking Agent içerisine 500μl nuclease free water konuldu ve 5dk 37°C' de inkübe edildi.
2. 1650/konsantrasyon olarak örneklerin dilüsyonları yapıldı. Böylece totalde her biri 41,8μl olan ca ve kontrol grupları içerisinde eşit miktarda RNA hibritlenmiş oldu.
3. 11μl' şer Bloking Agent ve 2,2μl' şer 25x fregmantasyon buffer örneklere ilave edildi.
4. Örnekler 60°C' de 30dk inkübe edildi ve inkübasyon sonrası buz aküsüne alındı.
5. 55μl 2x Hyrpm ekleyip total volumu 100μl olan örnekler 13.000g'de 1 dk santrifüj edildi.
6. Hibridizasyon fırını 65°C' de 10g' ye ayarlandı.
7. 'Agilent gasket slide' lar, agilent yazısı altta kalacak şekilde aparata yerleştirildi ve 100μl' lik örneklerin yüklemesi yapıldı. 'Agilent oligonucleotide microarrays' çip gasketin üzerine yavaşça bırakılıp aparat kapatıldı.
8. Hazırlanan çip aparat ile 65°C olan hibridizasyon fırınında 10g' de dönecek şekilde 17 saat hibritlenmek için bırakıldı.
9. 17 saatin sonunda çip hibridizasyon fırınından çıkarılarak yıkama işlemi gerçekleştirildi.

3.1.7. İşaretleme ve Yıkama

1. Gene ekspresyon için kullanılan her biri 4 lt. olan wash 1 ve wash 2 solüsyonları içerisine 2 µl' şer Triton X-102 eklendi. Yıkamaya başlamadan önce wash 2 solüsyonu 37°C' de, wash 1 solüsyonu ise oda sıcaklığında bekletildi.
2. Çipi Gasket Slide' den ayırma işlemi wash 1 solüsyonu içerisinde yapıldı ve wash 1 solüsyonu içerisinde hareket ettirilerek 1 dk. bekletildi.
3. Çip ardından 37°C olan inkübatör içerisindeki wash 2 solüsyonunda 1 dk. bekletildi.
4. Daha sonra asetonitrilde 10 sn. ve drying solüsyon içerisinde 30 sn. hareket ettirilerek bekletildi.

3.1.8. Mikroarray Görüntü Tarama

Yıkaması yapılan çip 'agilent' yazısı üst tarafta kalacak şekilde diskin içerisine yerleştirildi ve tarama cihazında görüntüleme işlemi gerçekleştirildi. Agilent Technologies tarama cihazına çipin olduğu disk yerleştirildi. Bilgisayarda Agilent Scanner programı açılarak cihaz ile bağlantıları kontrol edildi. Gerekli formatlar seçilerek Scanner hazır hale getirildi ve cihaz tarama işlemine başlatıldı. Formatlar aşağıda gösterildiği gibidir:

Çizelge 3.2. Tarama Cihazı Formatı

Scan Region	Scan Area
Scan Resolution	5
5µm Scanning Mode	Single Pass
Extending Dynamic Range	Selected
Dye Channel	Gren
Green PTM	XDR Hi % 100 XDR Lo % 10

3.1.9. Ekspresyon Analizi

Sayısal sonuçlar; 014850_D_F_20060807 sistemi, GE1-v5_95_Feb07 protokolü ve GE1_QCM_Feb07 QC metrik set kullanılarak Feature Extraction versiyon 9.5.1.1. ile elde edildi. Tümörlü dokular ve normal dokular arasındaki diferansiyel eksprese olan genleri (DEGs) elde etmek için GeneSpring Software versiyon 14.9 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) kullanıldı. Diferansiyel eksprese olan genler; T-testi istatistiksel analizinde kullanılan gürültü sinyal oranı ve P-değeri <0.05 kullanılarak tanımlandı. Ekspresyon kat sayısı değişimi >2.0 eşik değeri olacak şekilde ayarlandı.

3.1.10. Gen Ağı ve Yolak Analizleri

Gen ağları ve ilgili yolaklar Ingenuity Pathway Analysis (IPA) yazılımı (Ingenuity Systems, Redwood City, CA) kullanılarak saptandı. '*Homo sapiens*' ve 'direkt etkileşimler' seçilerek 'core analizi' yapıldı. Anahtar genler, ağ topolojisinde düğümlerin etkileşim derecelerinin değerlendirilmesi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Ekspresyonu Değişen Genler

Normal tiroid dokularıyla PTK örneklerinin GeneSpring' de ekspresyon kat sayısı değişimi >2.0 eşik değeri olarak kıyaslanması sonucunda toplamda 2466 ekspresyon değişikliği gösteren gen tanımlandı. Bunların 1554'ünün ekspresyonu artmış, 912'sinin ekspresyonu azalmış olarak saptandı. Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.' de sırasıyla en önemli ekspresyonu artan ve azalan 10 gen kat sayısı ile birlikte gösterilmiştir. Ekspresyonu artan genler; KLK11, LIPH, DCSTAMP, ST6GALNAC5, TMPRSS4, SYT12, ARHGAP36, CHI3L1, FN1, KLK10. Bunların yanında ekspresyonu azalan genler ise şunlardır; ARX, LOC105376351, C11orf88, GTSF1, AGR3, FKSG29, IPGK3, CCBE1, TBX22, ERICH3.

Çizelge 4.1. Ekspresyonu en çok artan 10 gen

Gen	Kat Sayısı (Fold Change)
KLK11	79,286
LIPH	73,467
DCSTAMP	69,306
ST6GALNAC5	54,354
TMPRSS4	52,214
SYT12	48,968
ARHGAP36	43,834
CHI3L1	43,150
FN1	40,454
KLK10	40,073

Çizelge 4.2. Ekspresyonu en çok azalan 10 gen

Gen	Kat Sayısı (Fold Change)
ARX	13,155
LOC105376351	12,402
C11orf88	10,378
GTSF1	9,297
AGR3	8,951
FKSG29	8,876
IPGK3	8,688
CCBE1	8,199
TBX22	8,165
ERICH3	8,002

4.2. Protein-protein Etkileşimi Ağ Analizi

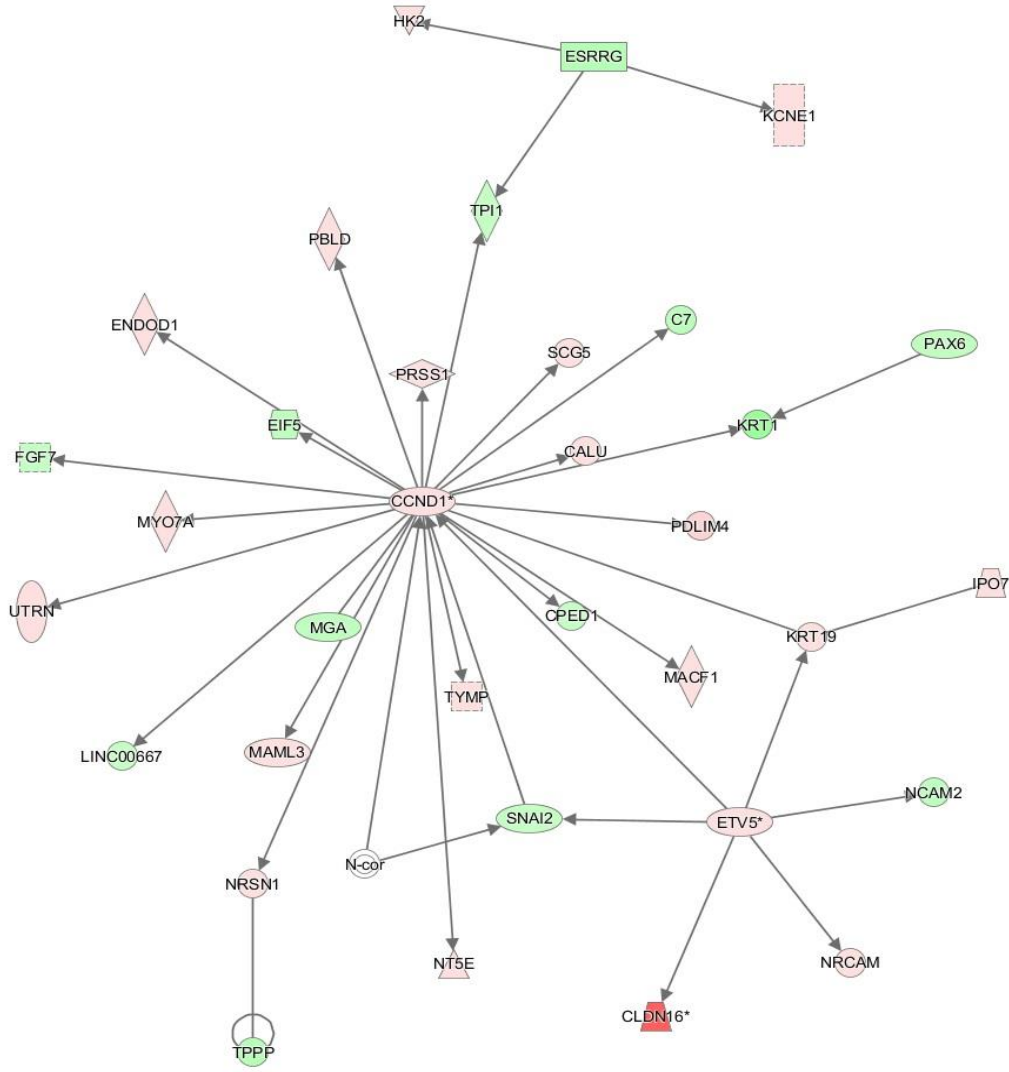
IPA, insan türünde ekspresyonu değişen genlere ait gen ağı etkileşimlerini ve doğrudan etkileşimlerini düzenler. Çizelge 4.3.'de IPA ile saptanan en önemli 5 gen ağı ve fonksiyonları gösterilmektedir. Endokrin Sistem düzensizliği, Gastrointestinal hastalıklar ve immünolojik hastalıklar ile ilişkili olan genlere ait gen ağı (gen ağı 1), en önemli gen ağı olarak tespit edildi (Çizim 4.1.). Gen merkezlerinin etkileşim derecelerini değerlendirerek CCND1 anahtar gen olarak tanımlandı. Diğer anahtar genler ise; gen ağı 2 (Çizim 4.2.)'de PGR, gen ağı 3 (Çizim 4.3.)'de CEBPA ve CDKN1A, gen ağı 4 (Çizim 4.4.)'de PLAU, gen ağı 5 (Çizim 4.5.)'de MDM2 olarak tanımlandı.

Ateroskleroz sinyali, intrinsik protrombin aktivasyon yolağı, agranülosit yapışması ve diapedezisi, pıhtılaşma sistemi, granülosit yapışması ve diapedezisi, IPA kullanılarak tanımlanmış en önemli standart yollardır (Çizelge 4.4.). Bunların arasından Pıhtılaşma

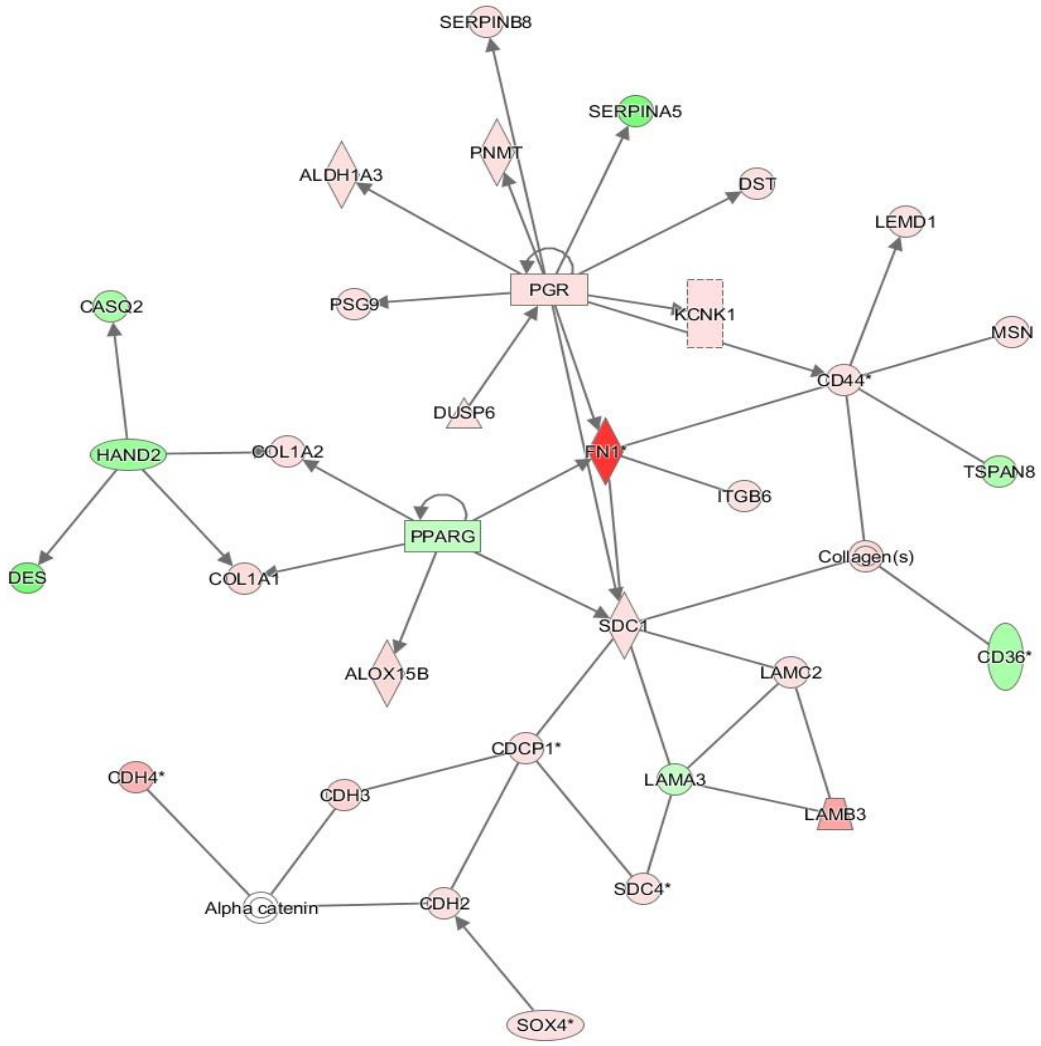
sistemi en anlamlı yolak olarak belirlendi. Bu yolakta ekspresyonu en fazla artan gen SERPINA1 olarak tespit edildi. Pıhtılaşma sistem yolağı Çizim 4.6.'da gösterildi.

Çizelge 4.3. IPA ile saptanan en önemli 5 gen ağı ve fonksiyonları

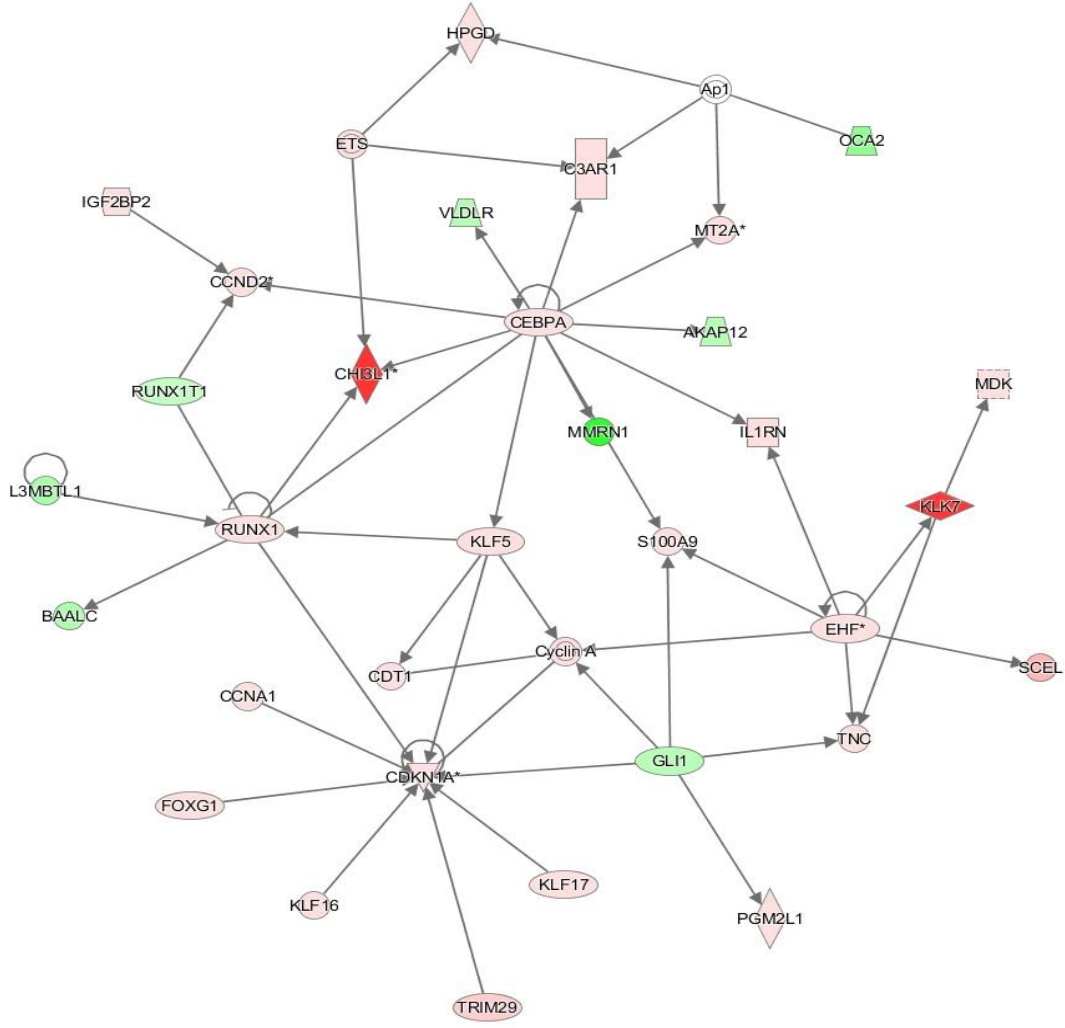
Gen ağı kodu	Sebep olan hastalıklar ve düzensizlikler
1	Endokrin sistem bozukluğu, Gastrointestinal hastalıklar, İmmünolojik hastalıklar
2	Kanser, organ yaralanmaları ve anormallikler, üreme sistemi hastalıkları
3	Hücre ölümü ve sağ kalımı, hücre hareketler, hücre döngüsü
4	Kanser, organ yaralanmaları ve anormallikler, tümör morfolojisi
5	Hücre morfolojisi, organ morfolojisi, iskelet ve kas sistemi gelişimi ve fonksiyonları



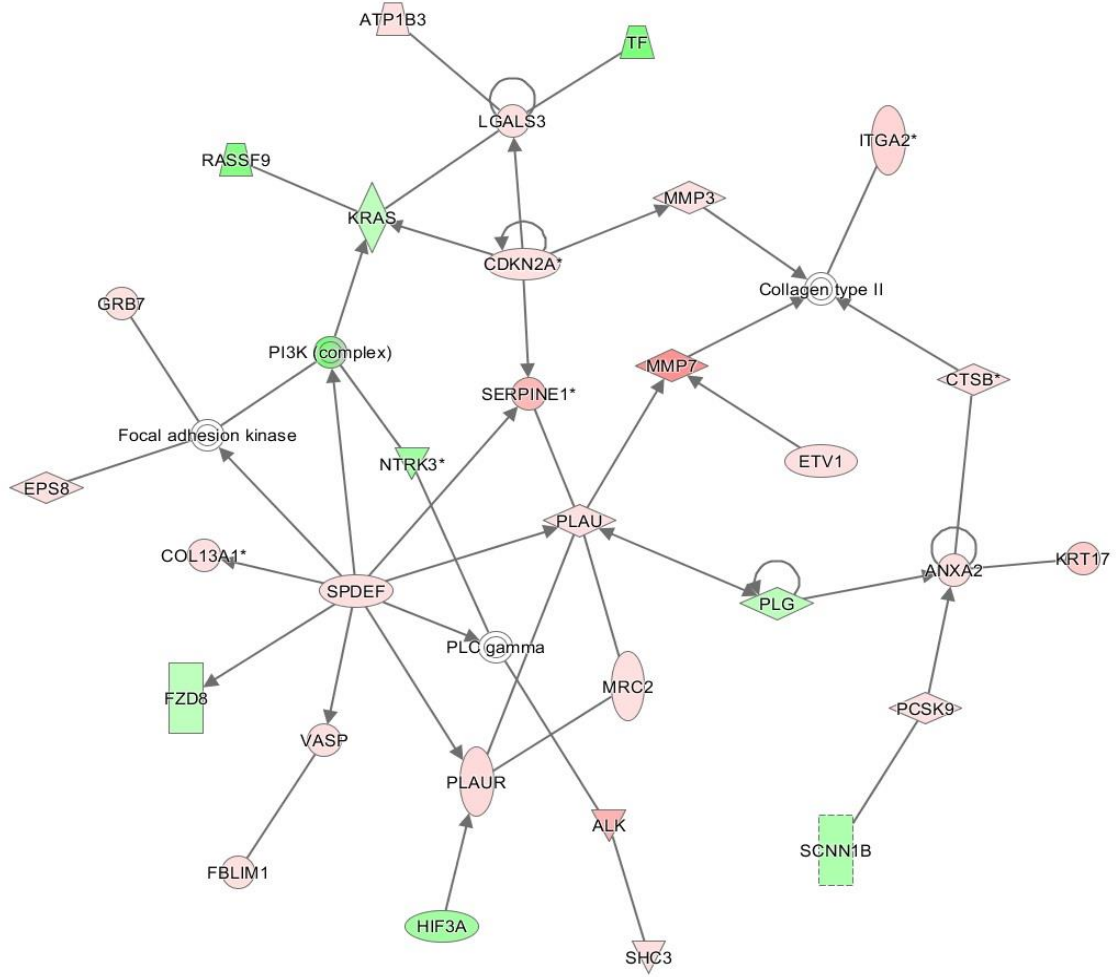
Çizim 4.1. Endokrin Sistem Düzensizliği, Gastrointestinal Hastalıklar ve İmmünolojik Hastalıklar ile İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 1)



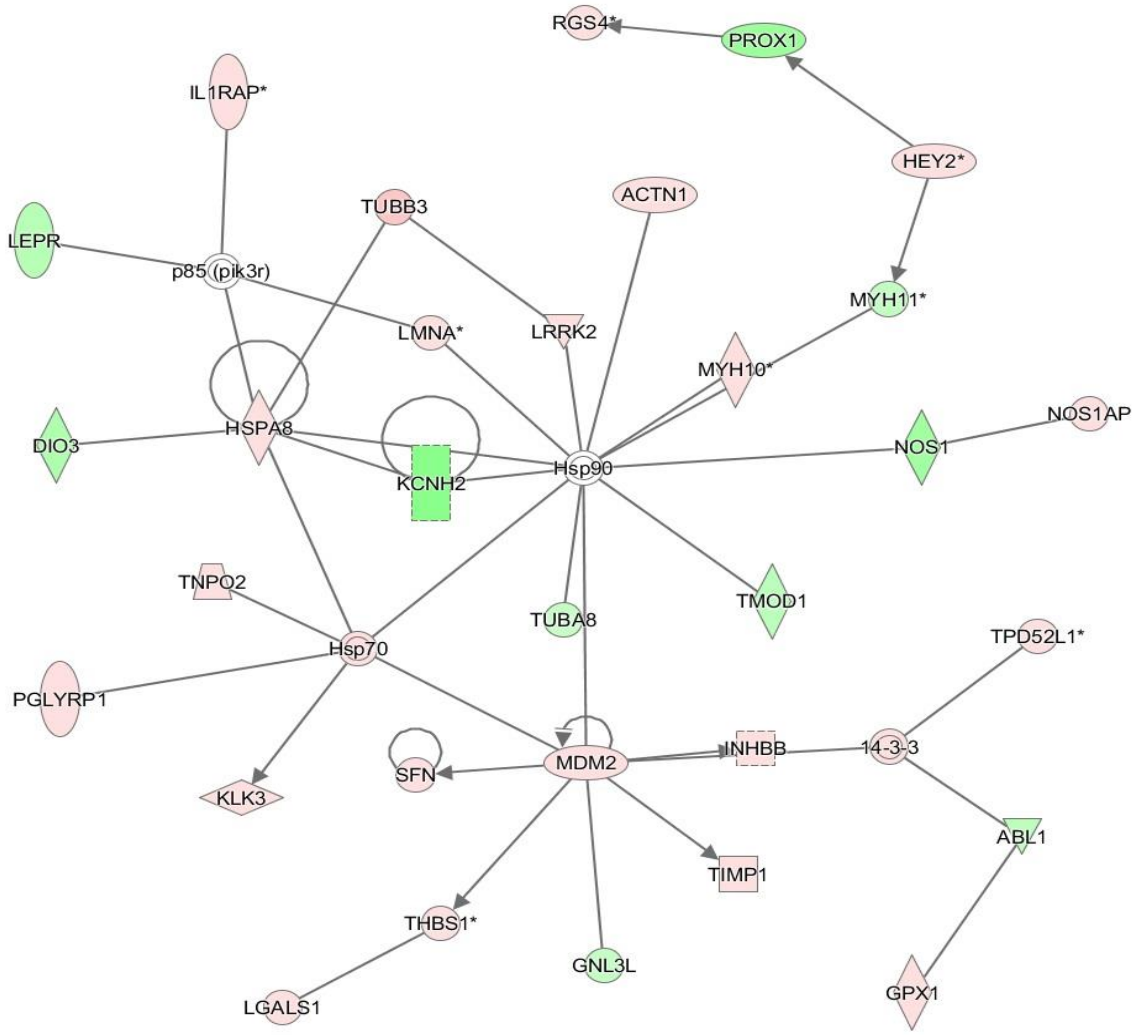
Çizim 4.2. Kanser, Organ Yaralanmaları ve Anormallikler, Üreme Sistemi Hastalıklarıyla İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 2)



Çizim 4.3. Hücre Ölümü ve Sağ Kalımı, Hücre Hareketler, Hücre Döngüsüyle İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 3)



Çizim 4.4. Kanser, Organ Yaralanmaları ve Anormallikler, Tümör Morfolojisiyle İlişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 4)

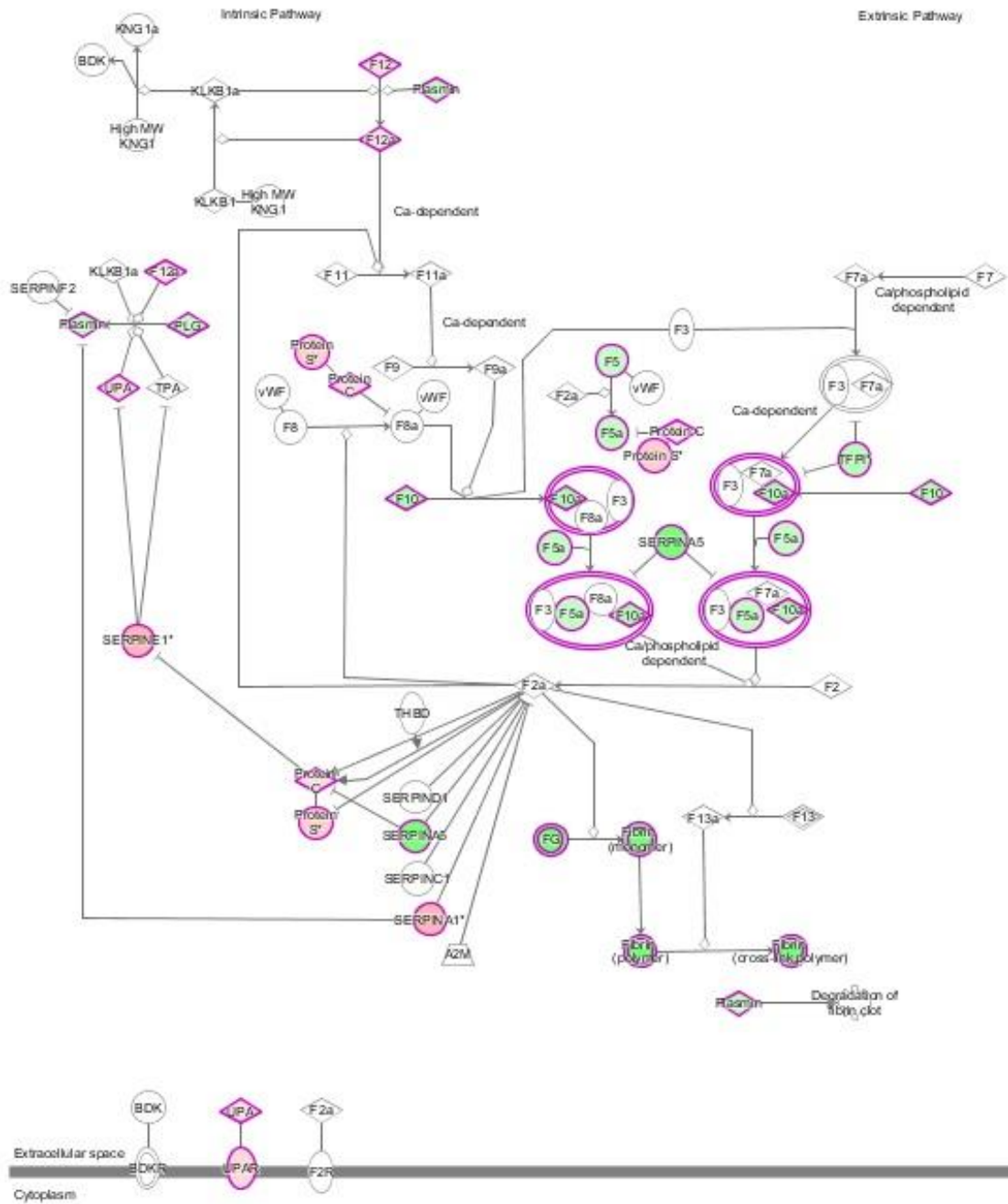


Çizim 4.5. Hücre morfolojisi, Organ morfolojisi, İskelet ve Kas Sistemi gelişimi ve fonksiyonlarıyla ilişkili Genlerin Gen Ağı (Gen Ağı Kodu 5)

Çizelge 4.4. IPA kullanılarak tespit edilen en önemli 5 temel yolak

Yolak	p-değeri	Moleküller
Ateroskleroz Sinyali	6,00E-08	↑ALOX5, ↑ALOX15B, ↑APOA4, ↓APOD, ↓CCR2, ↓CD36, ↑CLU, ↑CMA1, ↑COL10A1, ↑COL1A1, ↑COL1A2, ↑CXCL8, ↓CXCL12, ↑IL1RN, ↑IL36A, ↑IL36RN, ↑MMP3, ↑MSR1, ↑PDGFA, ↑PDGFC, ↑PLA2G10, ↑PLA2G16, ↑PLA2G2E, ↓PLA2G4C, ↓PLA2R1, ↓PLB1, ↑PON1, ↑SERPINA1, ↑TNFRSF12A
İntrinsik Protrombin Aktivasyon Yolağı	1,94E-07	COL10A1 ↑, COL1A1 ↑, COL1A2 ↑, F5 ↓, F10 ↓, F12 ↑, FGA ↓, KLK2 ↓, KLK3 ↑, KLK7 ↑, KLK10 ↑, KLK11 ↑, KLK12 ↑, PROC ↑, PROS1 ↑
Agranülosit Yapışması ve Diapedezisi	2,07E-07	ACTG2 ↓, AOC3 ↓, C5AR1 ↑, CCL7 ↑, CCL16 ↓, CCL17 ↑, CKLF ↑, CLDN1 ↑, CLDN10 ↑, CLDN12 ↑, CLDN16 ↑, CXCL1 ↑, CXCL2 ↑, CXCL3 ↑, CXCL8 ↑, CXCL12 ↓, CXCL17 ↑, FN1 ↑, HRH1 ↑, IL1RN ↑, IL36A ↑, IL36RN ↑, ITGA2 ↑, MMP3 ↑, MMP7 ↑, MMP10 ↑, MMP11 ↑, MMP16 ↑, MMP17 ↑, MSN ↑, MYH10 ↑, MYH11 ↓, PF 4 ↓, PPBP ↓, SDC4 ↑
Pıhtılaşma Sistemi	1,04E-06	F5 ↓, F10 ↓, F12 ↑, FGA ↓, PLAU ↑, PLAUR ↑, PLG ↓, PROC ↑, PROS1 ↑, SERPINA1 ↑, SERPINA5 ↓, SERPINE1 ↑, TFPI ↓
Granülosit Yapışması ve Diapedezisi	1,39E-06	C5AR1 ↑, CCL7 ↑, CCL16 ↓, CCL17 ↑, CKLF ↑, CLDN1 ↑, CLDN10 ↑, CLDN12 ↑, CLDN16 ↑, CXCL1 ↑, CXCL2 ↑, CXCL3 ↑, CXCL8 ↑, CXCL12 ↓, CXCL17 ↑, HRH1 ↑, IL1RAP ↑, IL1RN ↑, IL36A ↑, IL36RN ↑, ITGA2 ↑, MMP3 ↑, MMP7 ↑, MMP10 ↑, MMP11 ↑, MMP16 ↑, MMP17 ↑, MSN ↑, PF4 ↓, PPBP ↓, SDC1 ↑, SDC4 ↑

↑, ekspresyonu artan; ↓, ekspresyonu azalan



Çizim 4.6. Pıhtılaşma Sistemi Yoluğu

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ekspresyon farklılığı gösteren genleri tespit etmek için gen ekspresyon mikroarray çalışması yapılarak 10 normal tiroid dokusu ile 20 PTK dokusu karşılaştırıldı. Ekspresyonu değişen genler arasından 1554'ünün ekspresyonu artarken, 912'sinin ekspresyonu azaldığı gözlemlendi. Ekspresyonu en fazla artan gen KLK11 iken en fazla azalan gen ARX olarak tespit edildi. PPE ağında saptanan anahtar moleküller: CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU ve MDM2.

KLK (Kallikrein) ailesi, 15 üyeden oluşan serin proteazların bir grubudur. KLK' lar deri döküntüleri, sperma sıvılaşması, bağışıklık sistemi düzenlenmesi ve onkogenez gibi geniş fizyolojik ve patolojik süreçlerle ilişkilidir. Yumurtalık kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde KLK ailesinin bazı üyelerinin ekspresyon düzensizlikleri tespit edilmiştir. Bu nedenle, çeşitli kanser türlerinde tanı ve prognoz için biyobelirteç olarak kullanımları üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır (Geng 2017). KLK ekspresyon değişikliği ile PTK ilişkisine yönelik çalışmalar oldukça azdır. Kim ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları mikroarray çalışmasında KLK7'nin ekspresyonunun PTK dokularında normal tiroid dokularına göre 7 kat arttığını bulmuşlardır (Kim 2010). KLK11'in, insan beyinde, deri, mide, göğüs, prostat, yumurtalık ve bağırsak dokusunda artan ekspresyonu saptanmıştır. (Xu 2016). Bazı çalışmalar KLK11' in artan ekspresyonun yumurtalık, gastrik ve akciğer tümörlerinde kötü prognoz ile ilişkili olduğuna işaret ederken, bazı çalışmalar ise KLK11 'in azalan ekspresyonunun yumurtalık, gastrik ve akciğer tümörleri oluşumuyla bağlantılı olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle, KLK11' in tümör dokularındaki biyolojik rolü çelişkilidir (Geng 2017). Çalışmamızda saptanan KLK11' in artan ekspresyonu bu molekülün PTK tümör oluşumunda etkili olduğunu ve papiller tiroid kanseri tanısı için potansiyel belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

ARX geni Wnt/ β -katenin sinyalizasyonunu pozitif olarak düzenlemektedir. ARX, Wnt/ β -katenin sinyal yolağını düzenlemek için BCL9 ve P300 ile birlikte çalışır (Cho ve diğ. 2017). β -katenin, APC' nin inhibe ettiği bir onkogendir. Hücreye bölünme uyarısı geldiğinde APC β -katenin üzerinden çekilir ve β -katenin bölünmeyi sağlar. İnhibe olmadığında sürekli bölünmeye yol açabilir. β -katenin ekspresyonunun artmasıyla hepatoselüler karsinom, prostat kanseri ve servikal karsinom gibi çeşitli kanser olguları ortaya çıkar. İnsanda PTK hücrelerinde yüksek β -katenin seviyeleri tespit edilmiştir ve

PTK' de tümör oluşumuyla ilişkili önemli bir molekül olarak önerilmiştir (Li ve diğ, 2016). Papiller tiroid kanserinde Wnt/ β -katenin aktivasyonunun artması, tümörün agresif davranmasına sebep olmaktadır (Michelotti ve diğ, 2015). Wnt/ β -katenin yolağı insanda önemli bir onkogenik sinyalizasyon sistemidir ve β -katenin' in Wnt sinyal yolunda önemli rolü vardır. Papiller tiroid kanser hücre hatları üzerinde yapılan başka bir çalışma, BRAF yolu ve Wnt/ β -katenin sinyali arasındaki olası etkileşimler olduğunu göstermektedir (Cho ve diğ, 2014). Ayrıca ARX, PAX4 geni ile birlikte çalışan bir transkripsiyon faktörüdür. Daha önce yapılan papiller tiroid kanseri çalışmalarında PAX4 geninin ekspresyonunun arttığı ve ARX genini baskıladığı tespit edilmiştir. (Brun 2007). Çalışmamızda, PTK örnekleri normal doku örnekleriyle karşılaştırıldığında ARX geni ekspresyonunda azalma tespit edildi. PAX4 geni çalışmamızda ekspresyonu değişen genler arasında yer almamaktaydı. ARX geninin ekspresyonunun azalmasının PAX4 geni dışında metilasyon mekanizması ve/veya miRNA ekspresyon değişiklikleri aracılığıyla meydana geldiği düşünülmektedir. Bunun konfirmasyonu için ileri metilasyon ve miRNA ekspresyon çalışmalarının yapılması önerilmekle birlikte ARX ekspresyon azalmasının papiller tiroid kanseri gelişimine β -katenin sinyal yolağı üzerinden sebep olduğu düşünülmektedir.

Pıhtılaşma, yaralanmalarda pıhtının daha hızlı tepki vermesini sağlayan dinamik ve kompleks bir süreçtir. Pıhtının oluşumu ve çözünmesi arasında iyi bir denge sağlayan birkaç mekanizma vardır. Pıhtılaşma faktörlerinin prokoagülan aktivitesi arttığında veya doğal olarak oluşan inhibitörlerin aktivitesi azaldığında bu denge bozulur (Sanjeev ve diğ, 2014). Pıhtılaşma sisteminin bozulması, kanser gelişimi ve metastazında sıkça görülen bir durumdur (Lima ve Monteiro 2013, Gil-Bernabe ve diğ, 2013). SERPIN' ler (serin proteaz inhibitörleri ya da I4 sınıfı inhibitör ailesi) trombin, plazmin ve tPA (doku plazminojen aktivatörü)' yı inhibe eden düzenleyici mekanizmalardan biridir. İnsanlarda SERPIN' lerin büyük çoğunluğunun (36'da 27 kadar) inhibe edici özelliği vardır. Serpin ailesine ait SERPINA1 iltihabi yanıt oluşturan bir moleküldür. SERPINA1 serin proteazlara etki eder ve papiller tiroid kanserinin yanında küçük hücre dışı akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC), akciğer kanseri, meme kanseri gibi birçok kanser için biyolojik belirteç olarak önerilir (Law ve diğ, 2006, Chan ve diğ, 2015). SERPINA1 molekülünün daha önceki çalışmalarla papiller tiroid kanseri tanısında kullanılabileceği kanıtlanmıştır. Daha önce bu molekülün papiller tiroid kanserinde aktif ve aşırı derecede eksprese olduğu bilinmektedir (Poblete 1996, Arora 2009). SERPINA1, papiller tiroid kanserlerini benign nodüllerden ya da sağlıklı dokulardan %99 ayırt edilebildiği ortaya

atılmıştır (Vierlinger 2011). Çalışmamızda saptanan SERPINA1'in değişen ekspresyonu literatür bilgisiyle uyum içindedir.

Siklin D1 (CCND1), hücre döngüsünün ilerlemesinde hızlandırıcı rolü olan ve onkogenik rolü olan birçok benign ve malign neoplazilerinde ekspresyonu artan bir moleküldür. CCND1'in aşırı ekspresyonu ile hücrel proliferasyon, proliferasyon belirteci, Ki-67, tümör evresi ve agresif biyolojik davranış arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Chen 2011). Daha önce malign ve benign neoplazilerinde CCND1 molekülünün ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. Papiller tiroid kanserinde CCND1'in artan ekspresyonunun, düzenleyici bir molekül olan β -katenin ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Yin ve diğ. 2017). Daha önceki çalışmalarda kötü prognoza bağlı olarak CCND1'de ekspresyon artışı saptanmıştır (Varkondi ve diğ. 2005). Çalışmamızda CCND1'de, PTK'lerde kontrol grubuna göre ekspresyon artışı tespit edildi. CCND1, papiller tiroid kanserlerinin prognozunun yanı sıra tanısında da yardımcı olabilecek aday moleküldür.

Progesteron reseptörü olan PGR steroid reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu molekül gebeliğin oluşması ve sürdürülmesiyle ilgili üreme olaylarında merkezi bir rol oynayan progesteronun fizyolojik etkilerine aracılık eder. PGR molekülü ER α (östrojen reseptör- α) fonksiyonu ve meme kanseri prognozu için biyolojik belirteç olarak kullanılır. ER α 'nın proliferatif ve antiapoptotik aktivitesi vardır ve bu aktivite tümör boyutu daha büyük olan papiller tiroid hastalarında yüksek bulunmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda papiller tiroid kanserinde ER α 'nın ve PR' nin ekspresyonları gösterilmektedir (Eldien ve diğ. 2017). Real-time PCR ve immünohistokimyasal boyama kullanılarak, papiller tiroid kanseri, nodüler hiperplaziler ve normal tiroid dokularında ER α , ER β , PR, ER α 36, EGFR ve HER2'de mRNA ve protein ekspresyonu gözlenmiştir. Papiller tiroid kanserinde Er β 'nin mRNA ve protein ekspresyonu azalırken, ER α ve PR' nin ekspresyonu arttığı bulunmuştur (Dai ve diğ. 2017). Çalışmamızda, daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara benzer olarak PGR geninin ekspresyonunda artış olduğu gözlemlendi. Elde edilen bulgulara göre PGR geni, papiller tiroid kanserinde diagnostik ve prognostik biyobelirteç olarak önerilebilir.

CEBPA (C/EBP α), transkripsiyon faktörü kodlayan bir genidir. Bu genin proteini; normal doku gelişiminde, hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde ve hücre farklılaşmasında işlev görür. Akut miyeloid lösemi (AML) hastalarının yaklaşık % 10'

unda C/EBP α ' da işlev eksikliği sonucunda mutasyonlar meydana gelmiş ve bu molekülün tümör baskılayıcı bir rolü olduğunu düşündürmüştür. Karaciğer, meme ve akciğer kanseri gibi birçok neoplazide C/EBP α ' da ekspresyon düzensizliği görülmüştür (Lourenço ve diğ. 2017). Çalışmamızda C/EBP α inaktivasyonu yerine C/EBP α aktivasyonu saptandı. Akut lenfoblastik lösemide öncül B hücrelerini aktive eden C/EBP α 'nın onkogenik rolü olduğu öne sürülmüştür (Chapiro ve diğ 2006). Çalışmamıza göre, C/EBP α 'nın onkogenik rolüyle papiller tiroid kanseri gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir.

CDKN1A (p21), bir siklin bağımlı kinaz inhibitörüdür ve DNA hasarından sonra p53'e bağımlı hücre döngüsü tutulmasında arabulucu role sahiptir. p21, hücre çoğalmasını durdurduğu için tümör baskılayıcı bir gendir. Bunun yanında p21, onkogen gibi davranarak prokanser ve antiapoptotik faaliyetler gösterir (Gartel 2006). Daha önce yapılan çalışmalarda, papiller tiroid kanseri örneklerinde, siklin D1, p53 ve p21 ekspresyonları immünohistokimyasal yöntem kullanılarak incelenmiş ve siklin D1'in aşırı ekspresyonu ve tümör örneklerinin %50' sinde p21 üretimi bulunmuştur. p21 siklin bağımlı kinaz inhibitörüdür. Bu nedenle, p21'in inhibe edici rolü yerine düzenleyici bir rolü vardır (Varkondi ve diğ. 2005). Bu çalışmada, PTK grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında CCND1 ve p21 moleküllerinin ekspresyonlarının azaldığı bulundu. Tüm bulgulara göre, p21, PTK' de onkogenik role sahip CCND1'i düzenleyerek patogeneizde rol oynayabilir.

Prostat epiteline özgü Ets transkripsiyon faktörü, SPDEF (aynı zamanda PDEF veya PSE olarak da adlandırılır), prostatta gen ekspresyonunu ve akciğerdeki goblet hücre hiperplazisini düzenler (Noah ve diğ. 2010). SPDEF, meme epitel hücrelerinin yayılmasını ve göç etmesini sağlar (Chin ve diğ, 2011). SPDEF molekülünün aktif hale geçmesiyle hücre göçü ve yayılması engellenir. SPDEF ekspresyonunun azalmasıyla ise tümör hücrelerinin göçü, yayılması ve metastazı artar (Tamura ve diğ. 2016). SPDEF' in, prostat kanserinde metastazı baskılayan gen olarak görev yaptığı ve ekspresyonunun tümör saldırganlığı ve hasta prognozu ile ters ilişkisi olduğu bulunmuştur (Osisami ve Keller 2013). Bu molekülün, pozitif östrojen reseptörü (ER+) meme kanser riskinde ve kanser sürecinde kritik bir rolü vardır. Daha önce SPDEF' in yüksek ekspresyonu beyin, meme, prostat, akciğer ve yumurtalık tümörlerinde tespit edilmiştir. SPDEF' in tümörlerle olan ilişkisi, diğer moleküllerin kanser olgularıyla olan ilişkilerinden daha iyidir (Ghadersohi ve diğ. 2004). Literatürde SPDEF geninin papiller tiroid kanseriyle olan ilişkisine dair bir bulguya rastlanılmadı. Fakat çalışmamızda, SPDEF geninde artan ekspresyon tespit edildi. Kanser hücrelerindeki SPDEF' in fonksiyonlarına göre, SPDEF' in hastaların metastatik

durumlarını değerlendirmek için papiller tiroid kanserinde prognostik bir faktör olarak kullanılabileceği önerilebilir ve daha fazla papiller tiroid kanseri çalışmaları yapılarak bu bulgu desteklenebilir.

p53 geni, DNA onarımı, metabolizma, hücre döngüsünün durması, apoptoz ve yaşlanmada kritik bir rol oynayan bir tümör baskılayıcı gendir. İnsan kanserlerinde p53 geninin % 50' si mutasyona uğrarken, diğer %50' si Murine Double Minute 2' nin (MDM2) artan ekspresyonu ile inhibe edilir. MDM2, kanserde hem p53'e bağımlı hem de bağımsız bir tutum sergiler. MDM2, ubikitinasyon ve proteazomal bozunum için p53'ü hedef alır. p53'ten bağımsız MDM2' nin artan ekspresyonu, damar oluşumunu, tümör dönüşümünü, yayılımını ve metastazını destekler. Papiller tiroid kanserinin yanında kolorektal, özofagus, meme, kolon kanseri, melanom ve retinoblastoma kanseri gibi birçok kanserde de MDM2 geninde artan ekspresyon gözlenmiştir (Urso ve diğ. 2016, Horie ve diğ. 2001). Bu çalışmada saptanan MDM2'nin artan ekspresyonu MDM2'nin PTK patogenezinde rol oynayabileceğini ve bu sayede tanı ve tedaviyi kolaylaştıran bir hedef olabileceğini düşündürmektedir.

PLAU (Plazminojen aktivatörü, ürokinaz), bir serin proteaz ailesi olan ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) sisteminin bir üyesidir (Tang ve Han 2013). uPA sisteminin iltihabi durumlarda, embriyogenezde, tümör yayılımında, metastazda, hücre dışı matriks bozunmasını etkileyerek tümör oluşumunda, gizli büyüme faktörlerinin aktivasyonunda, malign tümör oluşumu ve tümörlü dokularda damar oluşumunda önemli rolü vardır (Tang ve Han 2013, Ulisse ve diğ. 2012). Bu sistem ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA)' nden, plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI) için glikolipid bağlantılı hücre membranı reseptöründen oluşur. Pek çok insan kanserleri ve tiroid maligniteleri normal dokularla karşılaştırıldığında uPA ya da uPAR molekülünde artan ekspresyon gözlenmiştir. uPA ve uPAR' ın ekspresyonunun artması, lenf nodu metastazı ve ileri tümör evresi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Ulisse ve diğ. 2012). Çalışmamızda PLAU' nun ekspresyonunun PTK grubunda artmış olduğu saptandı. Bu bulgudan yola çıkarak PLAU' nun PTK tümörogenezinde rol oynayan bir biyobelirteç olduğu öne sürülebilir.

Sonuç olarak, çalışmamızdaki papiller tiroid kanserinde ekspresyon değişikliği gösteren 2466 gen arasından KLK11, ARX, SERPINA1, CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU ve MDM2 genleri PTK tanısında moleküler belirteç olarak kullanılabilir. Bu aday genlerin ekspresyonlarının daha büyük PTK popülasyonları ve PTK hücre hatlarında çalışılması önerilmektedir.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız toplamda 20 PTK ve 10 normal tiroid dokusu ile gerçekleştirilmiştir. Moleküler analizler çerçevesinde moleküler tanıda önemli bir teknoloji olan gen ekspresyon mikroarray yöntemi kullanılarak tümörlü dokuların normal dokulara göre ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı.

IPA ile tanımlanan en önemli gen ağlarına göre CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU ve MDM2 genleri anahtar molekül olarak saptandı. IPA analizlerinde ekspresyonu en çok artan gen KLK11 iken, ekspresyonu en çok azalan gen ARX olarak tespit edildi.

Sonuç olarak, çalışmamızdaki papiller tiroid kanserinde ekspresyon değişikliği gösteren 2466 gen arasından SERPINA1, CCND1, PGR, CEBPA, CDKN1A, SPDEF, PLAU ve MDM2 genleri PTK tanısı ve prognozunda moleküler belirteç olarak kullanılabilir. Bu aday genlerin ekspresyonlarının daha büyük PTK popülasyonları ve PTK hücre hatlarında çalışılması önerilmektedir. Böylece papiller tiroid kanserinin moleküler temeli daha da aydınlanacak ve gelecekte yeni tedavi stratejilerine olanak tanıyacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adaş G, Adaş M, Özülker F ve diğ. Tiroid Kanserleri. *Ok Meydanı Tıp Dergisi*, 2012; 26-34.
- Akkaş G. Tiroid Papiller Karsinom, Papiller Mikrokarsinom Ve Tiroid Papiller Karsinomun Lenf Nodu Metastazında Apoptoz Ve Hücre Siklusu İle İlişkili Belirleyicilerin (P16, P21, P27, P53, Bcl-2, Bax, Bcl-XI Ve Siklin D1) Doku Mikroarray Yöntemiyle Saptanması. Uzmanlık Tezi. Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, 2011.
- Akşit H, Bildik A. Apoptosis. *YYÜ. Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2008; 19(1), 55-63.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J ve diğ. The cell cycle and programmed cell death - Molecular Biology of the Cell. Garland Science, New York, 2002.
- Alison MR, Cancer. *Encyclopedia of Life Science*, 2001.
- Anatomy of the Thyroid and Parathyroid Glands. <https://www.cancer.gov> (Erişim:01.06.2017).
- Arora N, Scognamiglio T, Lubitz CC ve diğ. Identification of borderline thyroid tumors by gene expression array analysis. *Cancer*, 2009; 115(23):5421-31.
- Aslan G. Tümör İmmünolojisi. *Türk J Immunol*. 2010; 15: 1.
- Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F ve diğ. Prognostic significance of copynumber alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2009; 27(27):4585- 4590.
- Baloch Z, LiVolsi VA, Tondon R. Aggressive variants of follicular cell derived thyroid carcinoma; the so called 'real thyroid carcinomas'. *Journal of clinical pathology*, 2013; 66(9):733-43.
- Blekherman G, Laubenbacher R, Cortes DF ve diğ. Bioinformatics tools for cancer metabolomics. *Metabolomics*. 2011; 7(3):329-343.
- Brun T, Duhamel DL, Hu He KH ve diğ. The transcription factor PAX4 acts as a survival gene in INS-1E insulinoma cells. *Oncogene*, 2007; (26):4261-4271.
- Cambridge University Pres, United Kingdom, 2005.
- Cameron R, Feuer G. Incidence of Apoptosis and its Pathological and Biochemical Manifestations. Cameron R ve Feuer G. (Ed) *Apoptosis and Its Modulation by Drugs*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2000.
- Cansino Alcaide JR, Martinez-Pineiro L. Molecular biology in prostate cancer. *Clin Transl Oncol*. 2006; 8: 148-52.
- Chan HJ, Li H, Liu Z ve diğ. SERPINA1 is a direct estrogen receptor target gene and a predictor of survival in breast cancer patients. *Oncotarget*, 2015; 6(28):25815-27.
- Chapiro E, Russell L, Radford-Weiss I ve diğ. Overexpression of CEBPA resulting from the translocation t(14;19)(q32;q13) of human precursor B acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2006; 108(10):3560-3.
- Chari R, Thu KL, Wilson IM ve diğ. Integrating the multiple dimensions of genomic and epigenomic landscapes of cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2010; 29(1):73-93.
- Chen JH, Faquin WC, Lloyd RV ve diğ. Clinicopathological and molecular characterization of nine cases of columnar cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2011; 24(5):739-49.
- Chin L, Hahn WC, Getz G ve diğ. Making sense of cancer genomic data. *Genes Dev*, 2011;25(6):534-55.
- Cho SW, Kim YA, Sun HJ ve diğ. Therapeutic potential of Dickkopf-1 in wild-type BRAF papillary thyroid cancer via regulation of β -catenin/E-cadherin signaling. *J Clin Endocrinol Metob.*, 2014; 99(9):E1641-E1649, (doi: 10.1210/jc.2013-4467).

Cho T, Lim Y, Golden JA ve diğ. Aristaless Related Homeobox (ARX) Interacts with β -Catenin, BCL9, and P300 to Regulate Canonical Wnt Signaling. *Plos One*, 2017; (Doi:10.1371/journal.pone.0170282).

Cooper GM, Hausman RE. The cell: A Molecular Approach. Sinauer Associates, Washington, 2006.
Cooper GM. The cell: A Molecular Approach. Sinauer Associates, Washington, 2000.

Cotran S, Vinay K, Collins T. Robbins Pathological Basis of Disease. PA: WB Saunders Co, Philadelphia, 1999.

Çetin Ö. Tiroid Kanserlerinin Tanı ve Tedavisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 49-68. Tiroid Hastalıkları Sempozyumu, İstanbul, 1999.

Dai YJ, Qiu YB, Jiang R ve diğ. Concomitant high expression of ER α 36, EGFR and HER2 is associated with aggressive behaviors of papillary thyroid carcinomas. *Sci Rep*, 2017; 25;7(1):12279.

DeLellis RA. Pathology and Genetic of Thyroid Carcinoma. *Journal of Surgical Oncology*, 2006; 94: 662-669.

DeLellis RA. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. Lyon: IARC Press, 2004.

Ders Notları, 2004. Erişim: 25 Temmuz 2017, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk>

DeRuiter J. Thyroid Hormone Tutorial: Thyroid Pathology. Endocrine Module (PYPP 5260), Thyroid Section, 2002.

Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur. J. Cancer*. 1996; 32A: 30-38.

Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian Caspases: Structure, Activation, Substrates, and Functions During Apoptosis. *Annual Review of Biochemistry*, 1999; 68, 383-424.

Ekmekçi A. Gen Genetik Değişim ve Hastalıklar. Gazi Kitapevi, Ankara, 2006.

Ekshyyan O, Aw TY. Apoptosis in Acute and Chronic Neurological Disorders. *Frontiers in Bioscience*, 2004; 9, 1567-1576.

El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu PE ve diğ. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*, 1993; 75: 817.

Eldien MMS, Abdou AG, Rageh T ve diğ. Immunohistochemical expression of ER- α and PR in papillary thyroid carcinoma. *Ecancermedicalscience*. 2017; 11:748.

Elledge SJ. Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science*, 1996; 274: 1664–1672.

Esposito V, Baldi A, Tonini G ve diğ. Analysis of cell Cycle Regulator Proteins in Non-Small Cell Lung Cancer, *J Clin Pathol*, 2004; 57:58-63.

Fernald GH, Capriotti E, Daneshjou R ve diğ. Bioinformatics challenges for personalized medicine. *Bioinformatics*. 2011; 27(13):1741-1748.

Fong KM, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implication. *Clinics In Chest Medicine*. 2002; 23: 83-101.

Garrett MD. Cell cycle control and cancer. *Current Sci*, 2001; 81: 515–522.

Gartel AL. I p21 an oncogene? *Mol Cancer Ther*, 2006; 5(6):1385–6.

Gewies A. Introduction to Apoptosis. *ApoReview*, 2003.

Ghadersohi A, Odunsi K, Lele S ve diğ. Prostate derived Ets transcription factor shows better tumor-association than other cancer-associated molecules. *Oncol Rep*, 2004;11(2):453-8.

- Gil-Bernabe AM, Lucotti S, Muschel RJ. Coagulation and metastasis: what does the experimental literature tell us? *Br J Haematol.*, 2013; 162(4):433-41.
- Gimm O. Thyroid Cancer. *Cancer Lett*, 2001; 163:143-156.
- GM. The cell: a molecular approach. Mass: ASM Press Sinauer Associates, 2000.
- Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science*, 2004; 305(5684):626-9.
- Guerrero MA, Clark OH. Controversies in the Management of Papillary Thyroid Cancer Revisited. *International Scholarly Research Network ISRN Oncology*. 2011; Article ID 303128, 5 pages (doi:10.5402/2011/303128).
- Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull*. 1993; Jul;49(3):523-44.
- Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000; 100: 57–70.
- Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science*, 1989; 246: 629–633.
- Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2000; Oct 12;407(6805):770-6.
- Horie S, Maeta H, Endo K ve diğ. Overexpression of p53 protein and MDM2 in papillary carcinomas of the thyroid: Correlations with clinicopathologic features. *Pathol Int*, 2001; 51(1):11-5.
- Howell AS, Lew DJ. Morphogenesis and the cell cycle. *Genetics*, 2012; 51-77.
- İşğör A. Tiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. Avrupa Tıp Yayınları, İstanbul, 2000.
- Jacobson DR. Ras mutations in lung cancer. Lung tumors fundamental biology and clinical management. Marcel Dekker Inc, New York, 1999.
- Kandaş NÖ. Apoptosis, Programlı Hücre Ölümü. Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, Ankara, 2004.
- Karga H. Ras Oncogene Mutation in Benign and Malign Thyroid Neoplasm. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1991; 73 (4): 832-836.
- Kasof G, Degenhardt K, Perez D ve diğ. Overview: A Matter of Life and Death. Watters D. ve Lavin M. (Ed) *Signalling Pathways in Apoptosis*. Harwood academic publishers, Singapore, 1999.
- Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev. Pharmacol Toxicol*. 2004; 44: 239–267.
- Klug WS, Cummings MR. Genetik Kavramlar. Palme Yayıncılık, Ankara, 2003.
- Knowles M, Selby P. Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer. Oxford Bioscience, Leeds UK, 2005.
- Knudson AGJR. Retinoblastoma: a prototypic hereditary neoplasm. *Semin. Oncol*. 1978; 5: 57-60.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Robbins Temel Patoloji. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2003.
- Lacasse EL, Holcik M, Korneluk RG ve diğ. Apoptosis in health, disease and therapy overview and methodology. Holcik M, Lacasse E, Machenzi A ve Korneluk R. (Ed) *Apoptosis in Health and Disease*, Cambridge University Pres, United Kingdom, 2005.
- Laptenko O, Prives C. Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities. *Cell Death Differ*. 2006; 13: 951–961

- Law RH, Zhang Q, McGowan S ve diğ. An overview of the serpin superfamily. *Genome Biol.* 2006; 7(5):216.
- Li M, Song Q, Li H, Lou Y, Wang L. Circulating miR-25-3p and miR-451a May Be Potential Biomarkers for the Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma. *Journal.pone*, 2015; 10(7).
- Li Z, Huang X, Xu J ve diğ. miR-449 Overexpression Inhibits Papillary Thyroid Carcinoma Cell Growth by Targeting RET kinase- β -catenin Signaling Pathway. *International Journal of Oncology*, 2016; 49: 1629-1637, (doi: 10.3892/ijo.2016.3659).
- Lima LG, Monteiro RQ. Activation of blood coagulation in cancer: implications for tumour progression. *Biosci Rep*, 2013; 33(5).
- Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. *Head Neck Pathol*, 2011; 5(1):51-6.
- Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J. Mol. Med.-JMM*. 1996; 74: 297–312.
- Lourenço AR, Coffey PJ. A tumor suppressor role for C/EBP α in solid tumors: more than fat and blood. *Oncogene*, 2017; 36,5221-5230.
- Lozano G, Elledge SJ. p53 sends nucleotides to repair DNA. *Nature*, 2000; 404, 24-25.
- Mabry M. Activating oncogenes in lung cancer. In: Kane MA, Bunn PA, eds. *Biology of lung cancer*. Marcel Dekker Inc, New York, 1998.
- Mackenzie EJ, Mortimer RH. Thyroid nodules and thyroid cancer. *Med J Aust*, 2004; 180:242-247.
- Mazzaferri EL, Massoll N. Management of papillary and follicular (differentiated) thyroid cancer: new paradigms using recombinant human thyrotropin. *Endocr Relat Cancer*, 2002; 9:227-247.
- Merlo LM, Pepper JW, Reid BJ ve diğ. Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6(12):924-35.
- Michelotti G, Jiang X, Sosa JA ve diğ. LGR5 is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer. *Oncotarget*, 2015; 34549-34560.
- Mills SE. *Histology for Pathologists*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007.
- Mills SE. *Steinberg's Diagnostic Surgical Pathology*. Steinberg PA: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2010.
- Murray A, Hunt T. *The cell cycle: an introduction*. W.H. Freeman and Co, New York, 1993.
- Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell*, 1997; 7;88(3):355-65.
- Nanji AA, Zakim D. Alcoholic liver disease. Zakim D ve Boyer T (Ed) *Textbook of Hepatology*. FL: W.B. Saunders, Orlando, 1996.
- Nekay E. Çocukluk Çağı Papiller Tiroid Kanserinde Braf V600e Mutasyonu İle Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki Ve Nüks Oranı Üzerine Etkisi. *Uzmanlık Tezi. İstanbul Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı*, 2016.
- Nikiforov Y. *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2009.
- Noah TK, Kazanjian A, Whitsett J ve diğ. SAM pointed domain ETS factor (SPDEF) regulates terminal differentiation and maturation of intestinal goblet cells. *Exp Cell Res*, 2010; 316(3):452-65.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson&Thompson Tıbbi Genetik. Güneş Kitabevi, Ankara, 2005.

Osisami M, Keller ET. SPDEF: a molecular switch for E-cadherin expression that promotes prostate cancer metastasis. *Asian J Androl.* 2013; 15(5):584-5.

Öz F. Tiroid Lezyonları Atlası. İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2005.

Özata M. Endokrinoloji. İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul, 2016.

Özata M. Tiroid Hastalarına Güncel Yaklaşım. *Epsilon Yayınları*, Ankara, 2005.

Özdamar ŞO. Rosai ve Ackerman'ın Cerrahi Patolojisi, Tiroid Glandı. Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, 2015.

Pacini F, DeGroot LJ. Thyroid Neoplasia. DeGroot LJ, Jameson JL. (Ed) *Endocrinology*. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2001.

Patsis C, Yiotakis I, Scorilas A. Diagnostic and prognostic significance of human kallikrein 11 (KLK11) mRNA expression levels in patients with laryngeal cancer. *Clinical Biochemistry*, 2012; 623–630.

Peng Y, Zhou J, Gao Y ve diğ. Normal prostate-derived stromal cells stimulate prostate cancer development. *Cancer Science*, 2011; 1630-1635.

Pınarbaşı E. Apoptosis (Programlı Hücre Ölümü). Yıldırım A, Bardakçı F, Karataş M, Tanyola B. (Ed) *Moleküler Biyoloji*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2007; 423-467.

Planas-Silva MD, Weinberg RA. Estrogen-dependent cyclin E-cdk2 activation through p21 redistribution. *Mol Cell Bio*, 1997; 17: 4059–4069.

Poblete M, Nualart F, Del Pozo M ve diğ. Alpha 1-antitrypsin expression in human thyroid papillary carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 1996; 20:956-963.

Potten C, Wilson J. Apoptosis The Life and Death of Cells. Cambridge University of Press, United States Of America, 2004.

Resnitzky D, Gossen M, Bujard H ve diğ. Acceleration of the G1/S Phase Transition by Expression of Cyclins D1 and E with an Inducible System. *Mol Cell Biol*, 1994; 14:1669-79.

Riedls. J. And Y. Shi, Y. Molecular Mechanisms of Caspase Regulation During Apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, 2004; pp. 897-907.

Roth JA. Molecular events in lung cancer. *Lung Cancer*. 1994; 10 (Suppl 1):3-15.

Sak SD. Variants of Papillary Thyroid Carcinoma: Multiple Faces of a Familiar Tumor. *Türk patoloji dergisi*, 2015; 31 Suppl 1:34-47.

Sanjeev P, Richa S, Anshu P. Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*, 2014; 58(5): 515–523.

Saunders MW, Birchall MA. Molecular Biology Series Apoptosis, Matters of Life and Death. *The Journal of Laryngology and Otology*, 1998; 112, 822-826.

Scatena R. Mitochondria and cancer: a growing role in apoptosis, cancer cell metabolism and dedifferentiation. *Adv Exp Med Biol*, 2012; 942:287-308.

Schlumberger MJ. Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma. *N Eng J Med*, 1998; 338:297- 302.

Serbes U. HeLa Hücre Kültürlerinde Apoptoz ve Moleküler Mekanizması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009.

Shigemasa K, Lijun G, Tanimoto H ve diğ. Human Kallikrein Gene 11 (KLK11) mRNA Overexpression Is Associated with Poor Prognosis in Patients with Epithelial Ovarian Cancer. *Clinical Cancer Research*, 2004; 10: 2766-2770.

Son EJ, Nose V. Familial follicular cell-derived thyroid carcinoma. *Frontiers in endocrinology*, 2012; 3:61.

Strauss M, Lukas J, Bartek J. Unrestricted Cell Cycling and Cancer. *Nat Med*. 1995; 1: 1245-6.

Şimşek T, Cantürk NZ. Tiroid Karsinomlarının Genetik Temeli: Bir Derleme. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 2013; 29(1):1-7.

Tamura RE, Pancez JD Duncan KC ve diğ. GADD45 α and γ interaction with CDK1p58 regulates SPDEF protein stability and SPDEF-mediated effects on cancer cell migration. *Oncotarget*, 2016; 7(12):13865-79.

Tang L, Han X. The urokinase plasminogen activator system in breast cancer invasion and metastasis. *Biomed Pharmacother*, 2013; 67(2):179-82.

Tchia MM, Holmes MD, McLennan G. The molecular biology of lung cancer. *Med J Australia*. 1991; 154: 501-503.

The History of Cancer. Erişim: 10 Ağustos 2017, <http://www.cancer.org>

Trosko JE, Ruch RJ. Gap junctions as targets for cancer chemoprevention and chemotherapy. *Curr. Drug Target*. 2002; 3: 465–482.

Trueba GP, Sanchez GM, Giuliani A. Oxygen free radical and antioxidant defense mechanism in cancer. *Front. Biosci*. 2004; 9: 2029-2044.

Trush MA, Kensler TW. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med*. 1991; 10(3-4):201-9.

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı. Erişim: 5 Temmuz 2017, <http://www.kanser.gov.tr>

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Erişim: 25 Temmuz 2017, www.kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html

Ulisse S, Baldini E, Sorrenti S ve diğ. In papillary thyroid carcinoma BRAFV600E is associated with increased expression of the urokinase plasminogen activator and its cognate receptor, but not with disease-free interval. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012; 77(5):780-6.

Ulukaya E. Apoptozis Ders Notları. 2003. (Erişim: 1 Eylül 2017).

Urso L, Calabrese F, Favaretto A ve diğ. Critical review about MDM2 in cancer: Possible role in malignant mesothelioma an implications for treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016; 97:220-30.

Ünal G. Tiroid Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 2000.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J ve diğ. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico Biological Interactions*. 2006; (160): 1-40.

Varkondi E, Gyory F, Nagy A ve diğ. Oncogene Amplification and Overexpression of Oncoproteins in Thyroid Papillary Cancer. *in vivo*, 2005; 19:465-470.

Vierlinger K, Mansfeld MH, Koperek O ve diğ. Identification of SERPINA1 as single marker for papillary thyroid carcinoma through microarray meta analysis and quantification of its discriminatory power in independent validation. *BMC Med Genomics*, 2011; 4:30.

Weinberg RA. Tumor Suppressor Genes. *Science*, 1991; 1138-1143.

Williams ED, Abrosimov A, Bogdanova T ve diğ. Morphologic characteristics of Chernobyl-related childhood papillary thyroid carcinomas are independent of radiation exposure but vary with iodine intake. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, 2008; 18(8):847-52.

Xu Z, Chi P, Pan J ve diğ. Knockdown of KLK11 inhibits cell proliferation and increases oxaliplatin sensitivity in human colorectal cancer. *Experimental And Therapeutic Medicine*, 2016; 2855-2860.

Yalçın O, Adaş M. Tiroid Kanserinde Moleküler Biyoloji. *Okmeydanı Tıp Dergisi* 28, 2012; 42-47.

Yiğitbaş B. Primer Akciger Karsinomu Nedeniyle Opere Edilecek Hastalarda Otofloresan ve Senkron Tümörlerin Sıklığının Arastırılması. Doktora Tezi. İstanbul Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Arastırma Hastanesi, 2005.

Yin Y, Hong S, Yu S ve diğ. Mir195 Inhibits Tumor Growth and Metastasis in Papillary Thyroid Carcinoma Cell Lines by Targeting CCND1 and FGF2. *Int J Endocrinol*, 2017; 6180425.

Yoshida BA, Sokoloff MM, Welch DR ve diğ. Metastasis-suppressor genes: a review and perspective on an emerging field. *J Natl Cancer Inst*. 1992; (21):1717–30.

Yu J, Mai W, Cui Y ve diğ. Key genes and pathways predicted in papillary thyroid carcinoma based on bioinformatics analysis. *J Endocrinol Invest*, 2016; 39:1285–1293.

Yukishige Y, Teruhiko Y, Kenshi H. p53 Gene Mutations in Gastric Cancer Metastases And in Gastric Cancer Cell Lines Derived from Metastases. *Cancer Research*. 1991; 51: 5800-5805.

ÖZGEÇMİŞ

1. BİREYSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Elif Büşra YILMAZ

Doğum Yeri ve Tarihi: Kocaeli-20.10.1989

Uyruğu: TC

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi ve Telefonu: Çukurbağ Mah., Gülümser Sok., Arel apt., No:10/1,
İzmit/Kocaeli

Tel: 0507 873 95 34

2. EĞİTİM DURUMU

2007 – 2011: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji Bölümü

2003 – 2006: İzmit Lisesi

STAJLAR

2010: Kocaeli Üniversitesi Tüp Bebek Anabilim Dalı

2012: Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

YABANCI DİL

İngilizce

3. ÜNVALARI

2011: Biyolog

4. MESLEKİ DENEYİMİ

- Kandan ve dokudan DNA ve RNA izolasyonu
- Agaroz jel elektroforezi ve jel görüntüleme, yorumlama
- Real Time PCR Teknolojisi-LightCycler 1.5 ve LightCycler 480 cihazı
- Gen Ekspresyon Mikroarray teknolojisi

- DNA Dizi Analizi teknolojisi
 - Sanger Sekans Metodu
 - Fragment Analizi

5. BİLİMSEL ETKİNLİKLER

- **Pubmed’de Yeralan Yayınlar:**

Güzeldemir-Akçakanat E, Sünnetçi-Akoyunlu D, Oruçbey B, Çine N, Kan B, **Yılmaz EB**, Gümüşlü E, Savlı H. Gene-Expression Profiles in Generalized Aggressive Periodontitis: A Gene Network-Based Microarray Analysis. *J Periodontol*, 2016; Jan;87(1):58-65.

- **Ulusal Kongrelerde Kabul Edilen Poster Bildirileri**

Sünnetçi Akoyunlu Deniz, Eren Keskin Seda, Çine Naci, İskenderoğlu Elmas Tuna, **Yılmaz Elif Büşra**, Devrim Nur, Kurtaş Ömer, Savlı Hakan. P-021- *Gold Nanoparticle – SIRNA Mediated NF-KB Silencing in Prostate Cancer*. 6.Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi, 2016-Konya.