

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Sibel GÜLDİKEN

**İYİ DİFERANSİYE TİROİD KANSERLİ
HASTALARDA İNTERLÖKİN 8 VE VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTORÜ GEN
POLİMORFİZMLERİNİN SAĞLIKLI KONTROL
GRUPLARIYLA KARŞILAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. İlhan KILIÇ

EDİRNE-2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmam sırasında yardımını, desteğini, zamanını, emeğini, ilgi ve alakasını esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Sibel GÜLDİKEN'e, eğitim sürecime bilgi ve tecrübeleriyle katkıda bulunan İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görevli başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülbin ÜNSAL'a ve tüm hocalarıma, tez çalışmama olan desteklerinden dolayı Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Tammam SİPAHİ'ye, Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Atakan SEZER'e, çok sevgili aileme ve Dr. Evnur KAHYACI'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
TİROİD BEZİNİN EMBRİYOLOJİ, ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ.....	3
DİFERANSİYE TİROİD KARSİNOMU.....	4
ANJİYOGENEZ.....	12
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ	12
İTERLÖKİN-8.....	14
TOPLUMDA GENLERİN DAĞILIMI.....	14
POLİMORFİZM VE MUTASYON	15
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
BULGULAR	23
TARTIŞMA.....	29
SONUÇLAR.....	36
ÖZET	37
SUMMARY	38
KAYNAKLAR	40
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

BRAF	: V-raf Murinesarcoma Viral Oncogene Homolog B1
CXC	: Cysteine-X amino acid-Cysteine
CXCR1	: Cysteine-X amino acid-Cysteine Receptor 1
CXCR2	: Cysteine-X amino acid-Cysteine Receptor 2
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DTK	: Diferansiye Tiroid Kanseri
ERK	: Extracellular Signal Regulating Kinase
EtBr	: Etidyum Bromür
FTK	: Folliküler Tiroid Karsinomu
IL-8	: İnterlökin-8
MAPK	: Mitogen Activating Protein Kinase
MDNCF	: Monocyte-Derived Neutrophil Chemotactic Factor
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik asit
NTKR-1	: Neurotrophic Tyrosine Kinase Receptor Type 1
PAX8	: Paired box gene 8
PPARγ	: Peroxisome Proliferatör Activated Receptor-gamma
PTK	: Papiller Tiroid Karsinomu
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAF	: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RAİ	: Radyoaktif İyot
RET	: Rearranged during Transfection

RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
sT₃	: Serbest Triiyodotironin
sT₄	: Serbest Tiroksin
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TNM	: Tümör- Lenf Nodu- Metastaz
TSH	: Tiroid Stimülan Hormon
UV	: Ultraviyole
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor

GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid kanserleri endokrin kanserler içerisinde en sık görülen kanserlerdir. Tiroid kanserlerinin çoğunu folliküler hücrelerden köken alan, iyi diferansiye papiller ve folliküler tiroid kanserleri oluşturur. Tiroid kanserleri, klinikte karşılaşılan kanserlerin %1 kadarını oluşturup, yavaş ilerleyen tümörlerdir (1). Genelde sağkalımları iyi olmakla beraber, tüm endokrin organ kanserlerinden daha çok ölüme neden olurlar (2). Özellikle papiller tiroid karsinomu (PTK) ve folliküler tiroid kanseri (FTK) için on yıllık sağkalım yaklaşık olarak %93 oranındadır (3). Diferansiye tiroid kanserinin (DTK) kadın/erkek görülme oranı 2/1-4/1 arasındadır (4). American National Cancer Data Base'den alınan verilere göre 1985-1995 yılları arasında tanı konan 53856 tiroid kanserli hastanın histopatolojik dağılımlarına göre diferansiye tiroid kanserli hasta oranı %91 olarak saptanmıştır (5). Papiller tiroid karsinomu için ortalama tanı yaşı 40-44, folliküler tiroid karsinomu için ortalama tanı yaşı ise 45-60 arasındadır (6). Diferansiye tiroid kanserlerinde bilinen en önemli prognostik faktörler erkek cinsiyet, yaştan ileri olması, aile öyküsü, kötü diferansiye histolojik tip, tümörün büyüklüğü, tiroid dışı yayılım ve metastatik yayılımdır (7). Diferansiye tiroid kanserlerinde tedavi seçenekleri; cerrahi, radyoaktif iyot (RAİ) ve tiroid hormon baskılama tedavisidir.

Tiroid kanserinin patogenezinde diğer kanserlerde olduğu gibi genetik değişimler temel rol oynamaktadır. Sporadik ve ailesel tiroid kanserleri ile ilişkili çeşitli genetik değişiklikler tanımlanmıştır. Tiroid kanserlerine özgü, yüksek sıklıkta görülen genetik değişiklikler saptanmıştır. Papiller tiroid kanseri ile ilişkili mutasyonlar kromozomal yerleşimli ve nokta mutasyonu şeklinde olmaktadır. Tiroid tümörü gelişimi ve yayılımı sürecinde genetik değişiklikler itici güçtür. Tiroid kanserlerinde sıklıkla görülen klasik onkojenik genetik değişiklikler; Ras mutasyonlarını, rearranged during Transfection

(RET)/Papillary thyroid carcinoma gen değişimlerini ve paired box gene 8-peroxisome proliferator-activated receptor (PAX8-PPAR γ) füzyon onkogenini içermektedir (8). V-raf murinesarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) mutasyonu sporadik papiller tiroid kanserlerinin %45'inde görülen en yaygın genetik değişikliklerdir.

Endotel öncülerinden yeni damar oluşumu olarak adlandırılan anjiyogenez, solid tümörlerin büyümesi ve ilerlemesi için önkoşullardan biridir. Tümör gelişimi ve yayılımı için konağın vasküler sistemine girmek ve tümöre kan kaynağı sağlamak tümör büyümesi ve yayılımı için hız kısıtlayıcı aşamalardır. Tümör damardan yoksun bir kitle olarak başlar ve sonunda mikroçevrede daha önce bulunan damarlarla temas kurar. Bir tümör büyüklük olarak yaklaşık 2-3 mm'ye ulaştığında kendine ait yeni bir damar ağına gereksinim duyar. Tümör damarlanmasının başlangıcı veya anjiyojenik fenotipe geçiş "anjiyojenik çevrim" olarak isimlendirilir. Malign sürecin en önemli aşamalarından biridir ve tümör gelişimi ve yayılımı için gereklidir (9).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve reseptörleri (VEGFR-1,VEGFR-2) tümörle ilişkili anjiyogenezde görev alan ve çeşitli insan malignitelerinde kötü prognozla ilişkilendirilmiş olan faktörlerdir. VEGF tümörle ilişkili anjiyogenezin en önemli uyarıcılarından biridir (10). VEGF/VEGF reseptörü aksının aktif duruma gelmesi endotel hücre sağkalımı, mitogenez, migrasyon, değişim, vasküler geçirgenlik ve endotel öncü hücrelerin mobilizasyonu ile sonuçlanan çoklu sinyal yollarını tetikler (11). VEGF mesajcı ribonükleik asiti (mRNA) ve proteininin yüksek oranda üretimi over kanseri, prostat kanseri, kolon kanseri ve malign melanom gibi çeşitli kanserlerde tümör yayılımı ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (12-14). Kanser hücrelerindeki üretim düzeyi birçok solid ve hematolojik tümörde tümör büyüklüğü, kötü prognoz ve metastazla ilişkilidir (12). VEGF genindeki deoksiribonükleik asit (DNA) dizilim çeşitlilikleri değişmiş VEGF üretimine ve/veya aktivitesine neden olurlar. İnterlökin-8 (IL-8) kemokin ailesi de tümör büyümesi, anjiyogenez ve metastazda önemli bir rol oynamaktadır (15). IL-8 endotel hücreleri üzerindeki potansiyel anjiyojenik özelliklerini reseptörleri olan cysteine-x amino acid-cysteine receptor 1 (CXCR1) ve cysteine-x amino acid-cysteine receptor 2 (CXCR2) ile olan ilişkisi ile gösterir (16,17). Yakın zamanda CXC kemokin ailesinin bir üyesi olan IL-8'in tümörle ilişkili anjiyogenezde VEGF'den bağımsız bir aracı madde olduğu saptanmıştır (18).

Araştırmamızın amacı; çeşitli kanserlerin etyopatogenezinde ve aynı zamanda metastazlarının oluşumunda rol aldığı düşünölen sitokinlerden VEGF ve IL-8 gibi sitokinlerin gen polimorfizmlerinin diferansiye tiroid kanserlerinin patogenezinde ve evrelendirilmesinde rol alıp almadığını incelenmektir.

GENEL BİLGİLER

TİROİD BEZİ EMBRİYOLOJİ, ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ

Tiroid bezi endokrin bezlerin en büyüğü olup, 12 haftalık fetusta 80 mg, yenidoğanda 2 g olup, erişkinlerde yaklaşık 20 g ağırlığındadır. Tiroid bezi, asini veya follikül denilen yapılardan oluşur. Folliküllerin içi kolloid ile doludur ve folliküler hücrelerden oluşur. Bu hücreler tiroid hormonlarının sentezinden sorumludur. Tiroid bezi parafolliküler veya C hücreleri denilen diğer bir hücre tipini de içerir. Kalsitonin salgılayan bu hücrelerin follikül hücresinin aksine folliküler lümen ile ilişkisi yoktur (19,20).

Tiroid bezi, fetal hayatta ilk gelişen endokrin bezdir. Fertilizasyondan yaklaşık 24 gün sonra farinks tabanında, median bir endoderm kalınlaşmasından oluşmaya başlar. Embriyo ve dil büyürken tiroid bezi taslağı, gelişen hiyoid ve larinks kıkırdaklarının ventralinden geçerek aşağıya iner. Yedinci haftada trakea ve tiroid kıkırdığının ön yüzündeki normal lokalizasyonuna yerleşir. Sekizinci-dokuzuncu haftalarda isthmus ve lateral loblardan oluşan görünümünü kazanır. Gebeliğin 10. haftasında tiroid follikül hücreleri ve kolloid yapısı görülmeye başlar. Bu folliküler taslak hücreleri kordon ve kümeleri oluşturur. Lümen oluşumu, follikül hücrelerinin ortasında küçük boşluklar şeklindedir. Kolloid, follikül boşluğunda 12. gebelik haftasında görülmeye başlanır. Bu dönemde iyot düzeyi ve tiroid hormon sentezi gösterilebilir. Tek sıralı olgun follikül hücreleri ile döşeli tiroglobulin içeren kolloidle dolu follikül yapılarından oluşan tiroid glandı morfolojisi 14. haftada gelişmiş olur (21-23).

DİFERANSİYE TİROİD KARSİNOMU

Epidemiyoloji

Tiroid kanserleri, over kanserinden sonra endokrin sistemin en sık görülen kanserleridir. Tiroid kanseri prevalansı her yıl 100000 kişide 4 yeni klinik tiroid kanseri görüldüğü şeklindedir. Tiroid kanserleri iki ana epitelyal hücreden köken alır. Papiller, folliküler ve Hurthle hücreli kanserler primitif ön barsaktan kaynaklı hücrelerden gelişirler. Medüller tiroid kanseri nöral krestten kaynaklanan C hücrelerinden gelişir. Folliküler hücre kaynaklı tiroid kanserleri diferansiye ve anaplastik tiroid kanseri gibi iki ana gruba ayrılır. Tüm tiroid kanserlerinin %80-90'ını diferansiye tiroid kanserleri oluşturur ve alt grupları ile beraber papiller ve folliküler kanserlerden meydana gelir (24,25).

Patoloji

Diferansiye tiroid kanserleri tiroid bezinin folliküler hücrelerinden gelişmektedir. Genel olarak papiller ve folliküler kanserleri olarak iki grupta sınıflandırılabilir.

Papiller tiroid karsinomlarının çeşitli patolojik alt tipleri bulunmaktadır. Folliküler varyant papiller tiroid karsinomunun %10 ile en sık görülen çeşididir. Bu tümörler küçük-orta boyutta folliküler yapılar içerirler. Sitolojik olarak tipik papiller karsinom özellikleri sergilerler; hipodens kromatin içeren üst üste binmiş geniş nükleuslar, nükleer psödoinklüzyonlar, nükleer oluklar ve psammoma cisimcikleri içerir. Folliküler varyant klasik papiller karsinomdan daha küçüktür, bölgesel lenf nodu metastazı riski daha düşüktür. Fakat genel sağkalım ve rekürrens oranları aynıdır (26). Uzun hücreli varyant klasik papiller tipten çok daha agresiftir. Papiller kanserlerin yaklaşık %1'i oranındadır. Primer tümör boyutu daha büyüktür, daha invazivdir, tanı sırasında lokal ve uzak metastaz yapmıştır (27). Papiller mikrokarsinom bir santimetrenin altındaki kitlelerdir. İyi prognozludur. Diffüz sklerozan tip daha sık çocuk ve genç yaş grubunda görülür. Yaygın skuamoz metaplazi, skleroz alanları, çok sayıda psammoma cisimcikleri ve yaygın lenfositik infiltrasyon görülür. Ekstratiroidal yayılım ve uzak metastaz sık olduğundan agresif bir alt tiptir. Kolumnar tipte belirgin köşeli hücreler görülür. Erkeklerde daha sık olup %90 oranında uzak metastaz yapma eğilimindedir. Bir de trabeküler tip mevcuttur.

Folliküler tiroid kanserinin kapsüler invazyon durumuna göre iki büyüme şekli mevcuttur; minimal invaziv folliküler kanser vasküler invazyon olmaksızın tümör kapsülüne mikroskopik penetrasyon gösterir. Geniş invaziv folliküler kanser tümör kapsülünü aşarak damarlara ve çevre tiroid parankime yayılım gösterir (28,29). Daha az sıklıkla gözlenen

patolojik tipler folliküler karsinomun varyantları olarak adlandırılmaktadır. Hurthle hücreli karsinom onkosit denilen hücre popülasyonunu içermektedir. İnsülar tiroid karsinomu bazen folliküler tiroid karsinomunun alt tipi şeklinde sınıflandırılmaktadır; kötü diferansiyasyon, agresif davranış gösterir ve kötü prognozludur (30).

Papiller tiroid kanserleri genellikle lenfatik yayılım gösterirken, folliküler tiroid kanserleri hematojen yayılım göstermektedir (31).

Etiyoloji

Çocuklukta radyasyona maruziyet diferansiye tiroid karsinomu gelişimi için en önemli risk faktörüdür. Çocukluk döneminde radyasyona en önemli maruziyet şekli; medikal tedavi ile olabilir; atom bombası ve nükleer kazalarda maruziyetlerde neden olmaktadır (32). Radyasyon maruziyeti sonucu gelişen papiller tiroid karsinomu daha agresif ve nüks etmeye eğilimli olmakla birlikte prognozu diğer papiller karsinomlardan farklı değildir (33). Diyetel faktörler, seks hormonları, çevresel maruziyet, genetik faktörler gibi radyasyon maruziyeti dışındaki faktörler üzerinde çalışılmıştır. Ancak belirgin ilişki saptanamamıştır. İyottan fakir veya iyot alımını engelleyen sebzelerden oluşan diyet tiroid stimulan hormonu (TSH) stimüle ederek guatrojenik rol oynar. İzlanda, Norveç, Hawaii gibi kabuklu deniz hayvanları tüketimi fazla olan ülkelerde papiller tiroid kanserine daha fazla rastlanmaktadır (27). Ailede tiroid kanseri genetik geçişli bazı ailevi hastalıklarla birlikte görülebilir (34). Bunlar; papiller renal neoplazi ile birlikte olan papiller tiroid karsinomu, famiyal nonmedüller tiroid karsinomu, hücre oksifili ile birlikte olan famiyal tiroid karsinomu, famiyal adenomatoz polipozis, Cowden (Multipl Hamartom) Sendromu, Carney Complex 1'dir (27).

Birinci derece akrabalarında tiroid kanseri gözlenen kişilerde, tiroid kanserine yakalanma riski 4-10 kat artmıştır (34).

Moleküler Patogenez

Papiller tiroid kanserleri taşıdıkları gen mutasyonları ve gen yeniden yapılanmaları ile mitogen activating protein kinase (MAPK) aktivasyonunu etkileyerek hücre bölünmesini tetikler. RET ve neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1 (NTRK1) tirozin kinazların yeniden yapılanması, BRAF ve RAS mutasyonlarını aktifleştirerek; MAPK aktivasyonuna yol açar. Papiller tiroid kanserleri; iki farklı transmembran tiroid kinaz geni olan RET ve NTRK1'in yeniden yapılanmasından oluşmaktadır. Bunun sonucunda üretilen şimerik proteinler; tirozin kinaz aktivitesiyle malign fenotipin gelişimine neden olur. RET veya NTRK1 genlerinin somatik yeniden yapılanması sonucu tirozin kinaz aktivitesinde yapısal

artış ve büyüme yollarının aktivasyonu meydana gelir. Bunların sonucunda papiller kanser gelişmektedir. (35-37). Erişkinlerde sporadik papiller kanserlerin yaklaşık %40'ında bu genetik yapılanmalar mevcuttur ve RET 3 kat daha sıktır (38). En az 6 şimerik RET/PTC ve tirozin kinaz geni mevcuttur. Klinik önemleri benzerdir; ancak bu genetik değişikliklere sahip papiller kanserler, genetik değişikliği olmayanlara göre daha agresif seyreder (39). Tablo 1'de diferansiye tiroid kanserlerinde rol oynayan genetik değişimler gösterilmektedir (34).

Tablo 1. Diferansiye tiroid kanserlerinin patogenezinde rol alan genetik değişimler (34)

	Papiller tiroid kanseri	Foliküler tiroid kanseri
Genetik değişimler	RET yeni düzenlemesi BRAF mutasyonu BRAF yeni düzenlemesi Ras mutasyonu NTRK1 yeni düzenlemesi P53 nokta mutasyonu	Ras mutasyonu PKI3CA mutasyonu PTEN mutasyonu TP53 mutasyonu PPARG yeni düzenlemesi

RET: Rearranged during Transfection; **BRAF:** v-raf MurinesarcomaViralOncogene homolog B1; **NTRK1:** Neurotrophictyrosinekinase receptor, type 1; **TP53:** Tumor protein p53; **PKI3CA:** Phosphatidylinositol 3'-kinase catalyticalpha; **PTEN:** Phosphataseand tensin homolog; **PPARG:** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma.

Rapidly accelerated fibrosarcoma (RAF) izoformu olan BRAF papiller tiroid kanserinin patogenezinde rol oynamaktadır. Folliküler karsinom ve nodül oluşumunda rolü yoktur. RAF proteinleri RAF/MEK/MAPK sinyal yolağını aktive eden serin-treonin kinazlardır (40). BRAF V600E mutasyonu, invaziv tümör büyümesi ve folliküler varyant ile ilişkilidir ve en sık saptanan mutasyondur. BRAF mutasyonu olan hastalar olmayanlara göre daha kötü prognozludur ve daha yüksek rekürrens riskine sahiptir (41). BRAF mutasyonları bulunan hastalarda ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı daha yaygındır ve ilk cerrahi sırasında daha ileri evrede saptanır. Lenf bezi metastazları da BRAF mutasyonu olanlarda daha sık görülmektedir (42, 43). Geniş toplum çalışmalarında diferansiye tiroid kanser riskini arttıran, ancak klinik olarak orta derecede öneme sahip fakat istatistiksel olarak anlamlı tek nükleotid polimorfizmleri saptanmıştır. MicroRNA-146a prekürsörü ile AG/C heterozigotluğu papiller tiroid karsinomu oluşumuna eğilim yaratır (44). Bu polimorfizm microRNA dizilimlerini değiştirerek microRNA fazla ekspresyonunu indükler ve hedef gen ekspresyonlarını değiştirir. Folliküler karsinomda kromozomal translokasyon tanımlanmıştır. (t(2;3)[q13;p25]) translokasyonu PAX8 geninin DNA bağlayıcı segmentinin bir kısmının PPAR-gamma-1geni ile füzyonuna sebep olur; PAX8 tiroid transkripsiyon faktörüdür ve PPAR-gamma-1 hücre diferansiasyonunu uyaran ve hücre büyümesini engelleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Füzyon geninin ürünü PPAR-gamma-1 aktivitesini bloke eder.

Sonuçta hücre diferansiasyonunu engelleyerek hücre büyümesini uyarır (45). Normal c-myc ve c-fos genlerinin fazla ekspresyonu, H-ras, N-ras, ve K-ras protoonkogenlerinin mutasyonları folliküler adenom, folliküler kanser ve kısmen de papiller kanserlerde saptanmıştır (45-50). Bu anormallikler tümör tipinden bağımsız olarak büyümeyi indükleyici etki yapar, diğer onkogen veya tümör süpresör gen mutasyonlarına ek etki yapar.

Tanı ve Klinik Özellikler

Tiroid kanserli hastaların çoğunda tiroid bezinde soliter, ağrısız bir nodül mevcuttur. Fakat %20 olguda birden çok nodül bulunur. Papiller kanserli hastaların az bir kısmı servikal lenfadenopati ile başvurur. Fakat genellikle klinik inceleme ve görüntüleme yöntemleri ile tiroid bezinde nodül saptanır. Bazı olgularda ise ilk belirtisi uzak metastazdır. Papiller kanserde uzak metastazlar çoğunlukla akciğere olmakta (%5) ve sıklıkla ileri dönemlerde ortaya çıkmaktadır. Tiroid kanseri tiroidit belirtileriyle de ortaya çıkabilir. Tanı esnasında primer papiller kanserlerin büyüklüğü okült tümörlerden, trakea ve özofagusta belirgin itilmeye yol açan dev boyun kitlelerine kadar değişebilir. Genellikle 1-4 cm çapında intratiroidal tümör saptanır ve tiroid dışı yayılım bulunmaz. Tanı esnasında ses kısıklığı da yakınmalardan biri olabilir.

Çocuklarda papiller tiroid kanseri tanısı konduğunda %90 servikal lenf düğümü, %20 akciğer metastazı bulunmaktadır (51).

Folliküler tiroid kanserli hastaların çoğu kadındır. Genellikle 6.dekatta sıklığı artar. Folliküler tiroid kanserli hastaların kliniği folliküler adenomlu hastalara çok benzer. Folliküler tiroid kanserli hastalar, adenomlarda olduğu gibi genellikle ötiroiddir. Nadiren, tiroid sintigrafisinde sıcak nodül olarak görülen ve TSH baskılı olan vakalar da vardır. Hastanın en sık başvuru şekli, ele gelen bir tiroid nodülü ve/veya ultrasonografi ile gösterilebilir baskın bir nodüldür. Nodül genellikle 2-4 cm çapında ve soliterdir. Nodül, genelde papiller tiroid kanserine göre daha yumuşaktır. Fakat palpasyon bulguları ile kolloidal guatrden ve folliküler adenomdan ayırt edilmesi mümkün değildir. Nodül sitolojik olarak değerlendirilmelidir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) ile folliküler adenom ve folliküler neoplazi tanısı konursa cerrahi endikasyon vardır ve tiroidektomi uygulanır. Hastaların %25 kadarı, kliniğe geldiklerinde tümör 5cm'den büyük ve çevre dokulara infiltredir. Bazı olgular ise patolojik femur kırığı, göğüs duvarında kitle gibi nedenlerle opere olup biyopsileri folliküler tiroid kanseri olarak saptanır. Bu tür hastaların tiroidindeki primer odağın klinik olarak belirgin olması şart değildir. Uzak organ metastazları daha çok kemik, akciğer, beyin, karaciğer gibi organlara olmaktadır. Folliküler tiroid kanseri, hematogen yayılım gösteren bir malignite

olduğu için uzak organ metastazı ile gelen hastalarda boyunda lenf düğümü metastazı olmayabilir.

Prognostik Faktörler

Bilinen prognostik faktörler erkek cinsiyet, yaşın ileri olması, histolojik tipin kötü diferansiye olması, tümörün büyüklüğü, tiroid dışına yayılım ve uzak metastazdır. Bütün olarak değerlendirildiğinde folliküler tiroid kanserinin prognozu papiller tiroid kanserine göre daha kötüdür. Folliküler tiroid kanserinde kötü prognostik faktörler tanı sırasında uzak organ metastazı, yaşın elliden fazla olması ve belirgin damar invazyonudur.

Evrelendirme

Diferansiye tiroid kanserlerine ait tümör çapı, lenf nodu tutulumu ve metastaz (TNM) sınıflaması ve evreleme Tablo 2 ve 3’de özetlenmiştir. Tüm evrelendirmelerde 10 yıllık sağkalım oranları evre I için %95, evre II için %50-95, evre III için %15-50 ve evre IV için %15’dir.

Tablo 2. Tümör-Lenf Nodu-Metastaz evrelemesi (3)

Primer Tümör (T)	Lenf Nodu (N)	Metastaz (M)
T1: Tümör 2 cm veya altında ve tiroide sınırlı. T1a: Tümör 1 cm veya altında, tiroide sınırlı. T1b: Tümör 1 cm’nin üstünde fakat 2 cm ve daha altında, tiroide sınırlı.	N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok.	M0: Uzak metastaz yok.
T2: Tümör 2 cm’den büyük fakat 4 cm ve altında, tiroide sınırlı.	N1: Bölgesel lenf nodu metastazı N1a: 6. bölge lenf nodlarına metastaz (pretrakeal, paratrakeal ve prelaringeal / Delphian lenf nodları) N1b: Ünilateral, bilateral veya karşı taraf servikal (1-5. bölge) veya retrofaringeal veya superior mediastinal lenf nodlarına (7. bölge) metastaz.	M1: Uzak metastaz var.
T3: Tümör 4 cm’den büyük tiroide sınırlı veya herhangi bir boyutta minimal ekstratiroidal yayılımı mevcut (sternotiroid kasa veya peritiroid yumuşak dokulara yayılım).		
T4a: Orta derecede ileri hastalık; herhangi boyutta tümör tiroid kapsülünü aşmış (subkütan yumuşak doku, larinks, trakea, özafagus veya rekürren laringeal sinir tutulumu). T4b: Çok ileri derecede hastalık; Tümör prevertebral fascia veya karotid arter veya mediastinal damarları tutmuş. T4b: Çok ileri derecede hastalık; Tümör prevertebral fascia veya karotid arter veya mediastinal damarları tutmuş.		

T: Tümör; N: Lenf nodu; M: Metastaz.

Tablo 3. Tümör-Lenf nodu-Metastaz evrelemesi (3)

Evre (45 yaş üstü)	T	N	M
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T1	N1a	M0
	T2	N1a	M0
	T3	N1a	M0
IV IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1a	M0
	T1	N1b	M0
	T2	N1b	M0
	T3	N1b	M0
	IVB T4a	N1b	M0
	IVC T4b	Herhangi N	M0
	Herhangi T	Herhangi N	M1
Evre (45 yaş altı)			
I	Herhangi T	Herhangi N	M0
II	Herhangi T	Herhangi N	M1

T: Tümör; **N:** Lenf nodu; **M:** Metastaz.

Tedavi

Diferansiye tiroid kanserlerinde; tedavi seçenekleri, cerrahi, radyoaktif iyot, tiroid hormon replasman tedavisidir. Diferansiye tiroid karsinomunun primer tedavisi cerrahidir. Cerrahi kararının verilmesinde preoperatif evreleme önemlidir.

İki tip cerrahi yaklaşım mevcuttur; total tiroidektomi (veya totale yakın tiroidektomi), unilateral lobektomi ve isthmusektomidir. Total tiroidektomi; tümörü 1 cm ve üzerinde olan, ekstratiroidal yayılımı olan ve metastazları olan tüm olgulara önerilmektedir. Ayrıca, baş boyun bölgesine radyoterapi almış tüm olgulara yüksek rekürrens oranları nedeniyle total tiroidektomi uygulanmalıdır (52). Unilateral lobektomi ve isthmusektomi ameliyatı tümör 1 cm'in altındaysa (düşük riskli hastalarda tamamen tiroide sınırlıysa 3 cm'ye kadar) ve glandın bir lobuna sınırlıysa önerilir. Eğer klinik olarak lenf nodu tutulumu (servikal veya mediastinal) ultrasonografi veya fizik muayene ile saptandıysa lenf nodu diseksiyonu

yapılmalıdır. Lenf nodu metastazı boyun rekürrensi ve uzak metastaz riskini arttırmaktadır (53). Boyun diseksiyonu endikasyonları; terapötik, profilaktik ve tutulumun saptandığı spesifik lenf nodu olarak tanımlanmıştır (54). Saptanan lenf nodu tutulumu olan tüm papiller tiroid karsinomlu hastalara boyun diseksiyonu önerilmektedir (54,55). Servikal nodal metastaz folliküler kanserli hastalarda nadirdir; Hurthle hücreli varyantlarda nodal hastalık olabilir aynı zamanda bu kötü prognostik faktördür; metastatik lenf nodu tanımlanmışsa boyun diseksiyonu gerekmektedir (56). Mikroskopik reyonel lenf nodu metastazı papiller tiroid kanserli hastaların büyük kısmında mevcuttur. Ancak cerrahiye başlarken; sadece bir kısmında servikal veya mediastinal lenf nodu saptanmaktadır. Mikroskopik nodal hastalık genellikle klinik öneme sahip değildir ve takipte verilecek radyoiyodin tedavisi bu odakları ablasyona uğratacaktır. Cerrahi komplikasyonları; hipoparatiroidizm, rekürren ve superior laringeal sinir yaralanmasıdır. Total tiroidektominin en önemli komplikasyonu hipoparatiroidizmdir.

Radyoaktif iyot tedavisi (RAI) 1940'lı yıllardan beri diferansiye tiroid kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. Tiroid dokusu kandan iyot alma kabiliyetine sahiptir. İyodin gibi radyoiyodin de tiroid membranında yer alan sodyum-iyodin taşıyıcısı aracılığıyla tiroid folliküler hücrelerine alınır (57). RAI tedavisinin amacı; rezidü tiroid dokusunu hasarlayarak bölgesel rekürrensini önlemek; uzun süreli takipte tüm vücut iyot taramalarını ve/veya uyarılmış tiroglobulin ölçümlerini kolaylaştırmaktır. Büyük tümörler (>1 cm), rezidü hastalık, nodal metastaz I-131 ablasyon tedavisinden fayda görmektedir (27). American Thyroid Association kılavuzuna göre RAI tedavi endikasyonları; tüm evre III ve IV hastalar, evre II olup 45 yaş altı hastalar ve 45 yaş üstü hastaların çoğu, evre I seçilmiş hastalar (1,5 cm üzeri tümörler, rezidü hastalık, nodal metastaz, vasküler invazyon ve intermediate diferansiye histoloji) şeklindedir. I-131 ablasyonu için kullanılan doz tartışmalıdır. Ayaktan takip edilecek olan hastalarda 30 mci gibi düşük dozlar önerilir. 30-100 mci arasındaki dozlarla da başarılı iyot ablasyonu yapılabilir (58). Daha yüksek ablatif dozlar (100-200 mci); daha yaşlı, yüksek riskli, tümör rezeksiyonu tam olmayan hastalarda, intermediate diferansiyasyonu ve metastazı olanlarda önerilir. Postoperatif ablasyon genellikle total veya totale yakın tiroidektomiye takiben 6 hafta sonra yapılır. Normal rezidü tiroid dokusu ve tiroid kanseri olan dokuda iyot uptake'ini optimize etmek için hasta hipotiroid duruma getirilerek TSH belli bir düzeye kadar yükseltilir.

Tiroid hormon replasman tedavisi tedaviden 2 hafta önce kesilir. TSH düzeyi optimal uptake'i sağlayabilmek için 30'un üzerine çıkmalıdır (27). Düşük iyot içeren diyet hem total vücut tarama hem de I-131 ablasyonu için işlemiden 2 hafta önce önerilmektedir. Genellikle

tedaviden 1 hafta sonra tüm vücut tarama önerilmektedir (58).Yüksek riskli hastalarda TSH düzeyi 0,1 mU/L altında tutulmalı, düşük riskli hastalarda ise normal sınırın hafif altında tutulmalıdır (0,1-0,5 mU/L). RAI tedavisinin en sık görülen yan etkileri; sialadenit, bulantı, geçici kemik iliği baskılanmasıdır. RAI tedavisi alan kadınların tedaviden sonra düşük ve fetal malformasyon nedeniyle 6-12 ay süreyle gebe kalmaları önerilmez. Geçici oligomenore ve amenore hastaların %25'inde görülebilir, 4-10 ay kadar sürebilir. Testiküler disfonksiyonlar görülebilir ve spermatogenez geçici süreyle etkilenebilir ancak daha sonra normale döner.

Radyoiyot tedavisi ve tiroid baskılama tedavisine rağmen metastatik tiroid karsinomu ilerleyebilir. Progresyon gelişmesi durumunda kemoterapi düşünülebilir. Kemoterapi seçeneklerinden birisi doksorubisindir. Tiroid kanserlerinin biyolojik temelleri ile bilgilerin ortaya çıkması ile yeni tedavi hedefleri belirlenmiştir. Son 10 yılda hedef tedavilere yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Tümörlerin çoğunda tirozin kinazlar tümör proliferasyonu, anjiyogenez, invazyon, metastaz ve apoptozisin önlenmesinde kritik rol oynamaktadır. İleri evre tiroid kanserin tedavisinde küçük molekül tirozin kinaz inhibitörleri gündeme gelen tedaviler arasındadır.

Takip

Tiroid karsinomunun takibinde tiroglobulin düzeyi önemli bir parametredir. Başarılı bir tiroid ameliyatı ve rezidü dokunun radyoaktif iyot tedavisi ile ablasyonunun yapıldığı hastalarda tiroglobulin düzeyleri çok düşüktür. Yüksek seyreden düzeyler kalıcı fonksiyonel tiroid dokusu veya kanser lehine anlamlıdır. Tiroksin ile baskılama tedavisi yapılan hastalarda tiroglobulin düzeyi baskılanabilir; baskılama tedavisi kesilip belirgin hipotiroidi geliştikten sonra değerlendirilmesi daha uygun olur. Tiroksin kesilmesi veya insan rekombinant TSH ile stimülasyonu sonrası tiroglobulin düzeyi bakılması ve birlikte tüm vücut taraması kanserin belirlenmesinde daha duyarlıdır (27). Tiroksin kesildikten 72 saat sonra veya TSH ile uyarı yapıldıktan sonra tiroglobulin düzeyinin 2 ng/ml'nin üzerinde olması kalıcı veya rekürren hastalığın saptanmasında yüksek duyarlılığa sahiptir (59). Serum tiroglobulin düzeyleri 6-12 ayda bir ölçülebilir. Anti-tiroglobulin antikoları tiroid kanserli hastaların % 25'inde ve normal populasyonun % 10'unda mevcuttur ve serum tiroglobulin düzeylerinde hatalı olarak düşüklüklere sebep olabilir. Serum tiroglobulinin her ölçümünde antikorların da ölçülmesi gerekmektedir. Tüm vücut tarama düşük riskli, TSH ile stimüle tiroglobulin düzeyi düşük ve boyun ultrasonografi normal olan hastalarda önerilmemektedir. Yapılması gerekliyse 1-3 mCi gibi düşük I-131 dozu ile yapılmalıdır. TSH ile uyarılmış tiroglobulin düzeyleri düşük olsa da servikal ultrasonografi ile servikal metastazlar saptanabilir. Boyun ultrasonografi operasyon

sonrası 6. ve 12. ayda daha sonra hastanın rekürrens riski ve tiroglobulin düzeyine göre takip sıklığı düzenlenir (58). Tiroglobulin pozitif fakat tüm vücut iyot tarama ve boyun ultrasonografisi normal olan hastalarda BT ve PET-BT kullanılabilir (27).

Persistan hastalık için takip sırasında saptanan metastatik hastalık bir göstergedir ve genellikle ek tedavilerle kür şansı bulunmaz. Nodal bölgesel rekürrensi olanlarda modifiye radikal boyun diseksiyonu veya rekürrensin yerine göre santral kompartman boyun diseksiyonu yapılabilir. Cerrahi uygulanamayan lenf nodu metastazlarında ve tüm vücut iyot taramada saptanan metastazlarda I-131 tedavisi kullanılabilir. I-131 dozu olarak genellikle 150-300 mci arasında yüksek dozlar kullanılmaktadır. Pulmoner metastazlar sıklıkla iyot tarama ile saptanmakta ve I-131 tedavisine iyi yanıt vermektedir. Tedaviye yanıt alındıkça 6-12 ayda bir tedavi tekrarlanabilir. Daha önceki tedavilere dirençli lokal ileri ve metastatik nüks hastalıkta sorafenib, motesanib gibi hedefe yönelik tedavilerin kullanımı gündemdedir.

ANJİYOGENEZ

Normal dokular gibi tümörler de yeterli oksijen ve besin desteği sunulmasına ve artık ürünlerin etkili bir şekilde uzaklaştırılmasına ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle tümör gelişimi ve yayılımı için konağın vasküler sistemine girmek ve tümöre kan kaynağı sağlamak tümör büyümesi ve yayılımı için hız kısıtlayıcı basamaklardır. Tümör damarsız bir kitle olarak başlar ve sonunda mikro çevredeki daha önce var olan damarlanma ile temas kurar. Bir tümör büyüklük olarak yaklaşık 2-3 mm'ye ulaştığı zaman kendine ait yeni bir damar ağına ihtiyaç duyar. Tümör damarlanmasının başlangıcı ya da anjiyojenik fenotipe geçiş "anjiyojenik çevrim" olarak isimlendirilir. Malign sürecin en önemli yapıtaşlarından biridir ve tümör gelişimi ve yayılımı için gereklidir (9). Yüksek derecede karmaşık anjiyojenik işlemler bir takım proanjiyojenik ve antianjiyojenik faktörler tarafından düzenlenir ve embriyogenezde, organ gelişiminde ve yara iyileşmesi gibi olaylarda yer alırlar. Bu fizyolojik işlemler, proanjiyojenik ve antianjiyojenik sinyallerin sıkı bir şekilde kontrol edilişiyle patolojik anjiyogenezden ayrılır. Tümörler esas olarak proanjiyojenik faktörleri üreterek pozitif ve negatif kontroller arasındaki uygun dengeyi kaybederler. Tümör damarlanması ve tümörün proanjiyojenik faktörleri salgılaması bazı insan kanserlerinde ilerlemiş tümör derecesi ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (9,60,61).

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süper ailesinin üyesi olan VEGF ailesi, endotel hücrelerine özgüdür ve önemli etkileri vardır. Vücutta hem fizyolojik olaylarda hem de tümör

büyümesi ve yayılmasını da içeren patolojik birçok hastalıkta rol oynarlar. VEGF, 6. kromozomun kısa kolunda (6p12) lokalize, molekül ağırlığı 45 kDA olan bir sitokindir.

Vasküler endotelyal büyüme faktörünün seçici olarak endotel hücrelerinde mitojenik etki ile damar gelişimini uyarmasının yanı sıra morfogenez ve kemotaksiste de önemli roller üstlendiği bilinmektedir (62). Anti-apoptotik proteinlerin sentezinin artması veya anti-apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu ile yeni damar oluşumunda yaşamsal rol oynar. VEGF; vasküler endotel hücreleri için potent bir mitojendir. Ancak diğer hücre tipleri için mitojenik aktivitesi yoktur. Megakaryositler, VEGF'nin önemli kaynağıdır ve trombositlerin α granüllerinde depo edilirler. Bunun yanında VEGF, vücutta değişik hücrelerden ve tümör hücrelerinden salgılanan hemodinamik bir glikoproteindir. Yapılan araştırmalar göstermektedir ki; endotel hücreleri lökosit, megakaryosit, ovaryum follikülleri, korpus luteum, akciğer alveoler hücreleri, renal glomerül visseral epitelyum hücreleri, kardiyak myositler, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteksin tüm hücreleri, Leydig hücreleri, aktive makrofajlar, arteriyoller çevreleyen fibroblastlar, bronşiyal ve koroid pleksus epitelyum hücreleri, hepatositler ve özellikle de malign tümör hücrelerinde (karaciğer, mesane, böbrek, over, mide, kolon, beyin ve meme kanserleri) VEGF sentezlenmektedir (63-65). Vasküler endotelyal büyüme faktörünün yedi üyesi vardır: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve PlGF.

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

- 1- VEGFR-1/ Flt-1(fms-like tyrosinekinase-1)
- 2- VEGFR-2/ Flk-KDR (kinase domain region-fetal liverkinase)
- 3- VEGFR-3/ Flt-4 (fms-like tyrosine kinase-4)

Tirozin kinaz reseptör ailesinden olan VEGF reseptörleri içinde anjiyogenez sürecinde en önemli rolü VEGFR-2/Flk/KDR reseptörü oynamaktadır. Alınan sinyali hücre içine ileterek hücre proliferasyonuna ve kemotaksise neden olmaktadır. VEGF ailesi kan damarlarının yapılanmasını ve damar geçirgenliğini VEGFR-1/Flt-1 ve VEGFR-2/Flk-KDR reseptörleri ile etkileşerek kontrol eder. VEGFR-1 çözünür durumda olsa bile, VEGF için yüksek afiniteye sahiptir. VEGFR-2, VEGF'nin mitojenik ve permeabilite etkisinde en önemli reseptördür.

Patolojik anjiyogenezi VEGFR-1 negatif yönde etkileyerek, VEGFR-2'nin proanjiyojenik etkilerini azaltmaktadır. VEGFR-1 ve VEGFR-2 endotel hücreleri üzerinde bulunurken VEGFR-3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır. VEGF reseptörleri esas olarak endotel hücrelerinde eksprese olur. Hipoksi ve VEGF tarafından üretimi potansiyalize edilir

(66). VEGFR-1, çözülebilir formda iken bile hem damarlardan hem de tümör hücrelerinden elde edilebilir.

Vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2) bulunmayan farelerin endotel hücrelerinin farklılaşmadığı ve organize kan damarları üretmediklerini, Vascular endothelial growth factor receptor 1'den (VEGFR-1) yoksun farelerde ise, endotel hücrelerinin farklılaştığı, ancak damarların büyük ve organize olmadığı gözlenmiştir. Her iki reseptörün eksikliği ise damarlanmayı ve embriyonik gelişimi önlemektedir (67).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörlerinin aktivasyonu; VEGF'nin reseptörü ile birleşmesini takiben reseptöre G proteinleri de bağlanır ve fosfolipaz-C'yi aktifler. Aktiflenmiş fosfolipaz C'nin etkisi ile ikinci haberciler olan diaçilgliserol (DAG) ve inositol trifosfat (IP3) oluşur. DAG, protein kinaz C'yi aktive eder. IP3 de hücre içi kalsiyum seviyesini arttırıp, kalsiyum-kalmodulin kompleksi oluşturarak kalmodulin kinazları aktive eder. Bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinleri, bu kinazlar aracılığıyla, fosforile edilerek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiasyonunu sağlar. VEGF'nin reseptörlerine bağlanmasını, heparan sülfat proteoglikanları düzenlemektedir. Düşük heparin konsantrasyonu VEGF bağlanmasını arttırırken, yüksek heparin konsantrasyonun bağlanmayı azalttığı bildirilmiştir (68).

İNERLÖKİN-8

Molekül ağırlığı 8,8 kD olan peptid yapıda bir sitokindir. Başlıca monosit, makrofaj, fibroblast, keratinosit ve endotel hücrelerinden salgılanır (69). IL-8 tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi proinflamatuvar bir sitokindir. IL-8 hedef hücrelerde büyümeden çok fonksiyonları üzerine etkilidir. Nötrofillerin aktivasyonu, degranülasyonu sağlar ve anjiyogeneze rolü vardır. IL-8'in endotel hücrelerinin proliferasyonunu arttırarak yeni kan damarlarının oluşumunu uyardığı bilinmektedir. Bu da organogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi ve metastazlarında etkili olabileceğini düşündürmektedir (70-73). Yakın zamanda CXC kemokin ailesinin bir üyesi olan IL-8'in tümörle ilişkili anjiyogeneze VEGF'den bağımsız bir aracı madde olduğu saptanmıştır (16). IL-8 endotel hücreleri üzerindeki potansiyel anjiyojenik özelliklerini reseptörleri olan CXCR1 ve CXCR2 ile olan ilişkisi ile gösterir (17,18).

TOPLUMDA GENLERİN DAĞILIMI

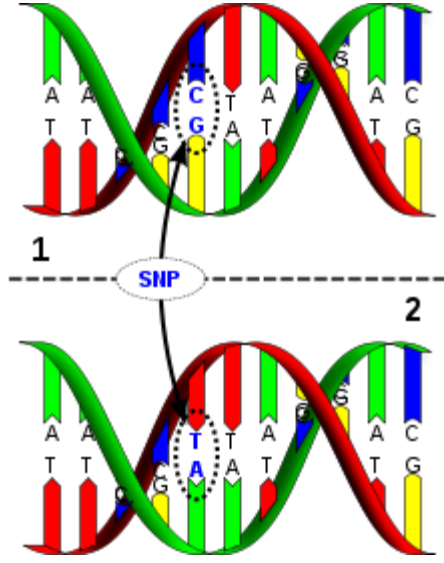
Bir toplum, genlerinin dağılımı ile tanımlanabilir. Bir popülasyondaki farklı genotiplerin frekansları ile popülasyon genetiği ilgilenir. Belirli bir popülasyonda, belli bir

gen lokusunda, bir allelin bulunma sıklığı allel frekansı veya gen frekansı olarak adlandırılır. Allel frekansı, doğrudan bireysel genotiplerin frekansını değil, tamamen popülasyondaki allel frekansını ifade eder. A ve a şeklindeki iki olası allel barındıran bir gen lokusu için tek olası genotipler AA, Aa veya aa'dır. İki allelin birlikte frekansı (A'nın frekansı p ve a'nın frekansı q) %100 (1,0) olmalıdır. Eğer iki allel aynı derecede sıkıysa (her biri 0,5) A alleli için $p=0,5$ ve a alleli içinde $q=0,5$ frekansına sahiptirler, yani $p+q=1$ dir. Bir popülasyonda iki allelin sıklık dağılımının basit bir binominal ilişkisi vardır: $(p+q)^2=1$. Buna göre popülasyondaki genotip dağılımı $p^2+2pq+q^2=1$ 'e uymaktadır (74).

POLİMORFİZM VE MUTASYON

Polimorfizm gen fonksiyonunda değişime neden olmaksızın gerçekleşen aynı genin DNA dizisindeki değişikliklerdir. Bir genin toplumda %1 veya daha fazla sıklıkla rastlanan varyasyonlarını tanımlamak için kullanılır. Bu orandan daha az sıklıkla rastlanan varyasyonlar ise mutasyon olarak adlandırılır. Polimorfizmler bir veya daha fazla bazın diziye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) gibi birçok yolla oluşabilir. Farklı habitatlarda adaptasyon avantajı sağlayan alellere yönelik baskıdan kaynaklandığı düşünülmektedir. İnsan genomunda en çok görülen polimorfizmler tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleridir (SNP). SNP'ler genomda yaklaşık her 1000 bazda bir tane olacak sıklıkla bulunur. Baz değişimi ile oluşan yeni kodon eskisi ile aynı aminoasidi kodluyorsa, bir değişimin etkisini diğer bir değişim ortadan kaldırıyorsa, daha önceden oluşan bir değişiklik yeni bir değişiklikle normale döndürülmüşse, değişiklik kodlanmayan dizilerde ise ve değişiklik sonucu proteine yanlış olarak giren amino asit, proteinin aktif bölgesinde değilse ve proteinin üç boyutlu yapısını, fonksiyonunu etkileyecek şekilde değiştirmiyorsa, bu tür değişimler polimorfizm oluşmasına neden olur. Bu DNA bölgeleri bireyler arası farklılık gösterir ancak tüm kalıtım kurallarına uyarlar. Bu tip genetik değişimler fenotipik bir değişikliğe neden olmaz (75).

Şekil 1'de tek nükleotid polimorfizmine örnek gösterilmiştir (76).



A: Adenin; T: Timin; C: Sitozin; G: Guanin.

Şekil 1. Sitozin/timin polimorfizmi (76)

Deoksiribonükleik Asit Polimorfizmi

Türdeş canlıların farklılıkları genetik olarak belirlenmekte ve polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşiklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm) veya DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde görülebilmektedir (77).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Gen Polimorfizmi

Vasküler endotelyal büyüme faktörü geni 6p21.3 kromozomunda lokalize olup 8 eksondan oluşmaktadır. Bu eksonlar “alternative splicing” ile VEGF protein ailesini oluşturur. Bu gende şimdiye kadar birçok polimorfizm tespit edilmiş olup bunların VEGF protein üretiminde varyasyonlara neden olduğu tespit edilmiştir. VEGF genindeki DNA varyasyonları VEGF üretimini veya aktivitesini değiştirebilir. Bu şekilde tümörlerin gelişiminde ve yayılmasında bireyler arasındaki farklılıklar açıklanabilmektedir. VEGF gen polimorfizminin VEGF üretimi ile ilişkili olduğunu gösteren az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmaların sonuçları ise birbirleri arasında çelişki göstermektedir (78).

İnterlökin-8 Gen Polimorfizmi

Monosit kaynaklı nötrofil kemotaktik faktör/İnterlökin-8 (MDNCF/IL-8) geni tek bir "CAT" ve "TATA" benzeri yapı ile 4 ekson ve 3 intron içerir. MDNCF/IL-8 geninin 5'-ucu bölgesi, üretimleri IL-1 ve TNF'den etkilenen diğer sitokin ve akut faz reaktanı genlerle

hiçbir dizilim benzerliği taşımaz. Ancak 5'-ucu bölgesi aktive edici faktör 1, aktive edici faktör 2, interferon düzenleyici faktör 1 ve hepatosit nükleer faktör 1'i içeren birçok nükleer faktör için potansiyel bağlanma bölgeleri barındırır. Bununla birlikte glukokortikoide yanıtı eleman ve ısı-şok elemanı da 5'-ucu bölgesinde yer alır. IL-8 geninde -251 pozisyonunda oluşan polimorfizmler neticesinde IL-8 salınım artışı, azalışı ya da fonksiyon değişikliği gerçekleştiği ve bu nedenle çeşitli tümörlerde büyüme ve yayılım özelliklerinin değişebildiği saptanmıştır (72).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji Polikliniği'nden ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniği'nden takip edilmekte olan toplam 101 (85 kadın, 16 erkek) diferansiye tiroid kanseri tanılı olgu ve 109 (62 kadın, 47 erkek) sağlıklı kontrol olgusu dahil edildi. Çalışmaya tiroide yönelik ince iğne aspirasyon biyopsisi ile veya cerrahi operasyonlar sonrasında papiller veya folliküler tiroid kanseri tanısı almış ve postoperatif dönemde takiplerine devam etmiş hastalar dahil edildi. Kontrol grubuna ise; bilinen kanser öyküsü olmayan, tiroid ultrasonografisinde tiroid nodülü bulunmayan veya nodül nedeniyle uygulanan tiroid operasyonu sonrasında tiroid kanseri olmadığı tespit edilen olgular alındı.

Araştırma öncesi Trakya Üniversitesi Rektörlüğü Etik Kurulundan etik kurul onayı alındı (Ek 1). Gönüllü katılımcı olgulara hazırlanmış olan bilgilendirmiş onam formu okutuldu ve imzalatıldı (Ek 2).

Tüm olguların fizik muayeneleri yapıldı. Boy, kilo ve bel çevreleri ölçülerek kayıt edildi. Vücut ağırlığı hafif giysilerle ve ayakkabılar çıkarıldıktan sonra, dijital bir tartı ile ölçüldü. Boy bir mezura ile ayakkabısız olarak ayakta dururken ve omuzlar normal pozisyonda iken ölçüldü. Beden kitle indeksi (BKİ) vücut ağırlığının (kg) boyun (m) karesine (kg/m^2) bölünmesi ile hesaplandı. Bel çevresi ölçümü sağ pelvis kemiğinin en üst noktası bulunduktan ve mezura bu noktaya yerleştirildikten sonra yere paralel bir şekilde tutularak ve bel çevresinde dolandırılarak yapıldı.

Diferansiye tiroid kanseri tanısıyla izlenen olguların tanı tarihleri, uygulanan cerrahi protokolleri, tanı sırasındaki lenf ve/veya uzak metastaz varlığı, postoperatif ablasyon tedavisi uygulanıp uygulanmadığı kayıt edildi.

LABORATUVAR İNCELEMELERİ

Tüm olgulardan 12 saatlik açlığı takiben sabah 08.00-09.00 arasında, 10 ml kan alınarak katkısız steril tüpe konuldu. Kan, pıhtılaştıktan hemen sonra bekletilmeden 3000 devir dakikada 5 dakika santrifüje edildi. Santrifüj sonrası, örneklerin süpernatant (üst) kısımları eppendorfa konularak -85 °C’de depolandı. Ayrıca gen polimorfizmi çalışması için de hasta ve kontrol gruplarından etilendiamin tetraasetik asitli tüplere 10 ml daha kan alındı.

Çalışmaya alınan tüm olgulardan numune toplama işlemi bittikten sonra -85 °C’deki örneklerden çalışılacak parametreye göre numune eppendorfları çıkartılarak oda sıcaklığında çözölmeye bırakıldı ve daha sonra aynı anda analizler yapıldı. Serbest T3 (sT3), serbest T4 (sT4) ve TSH düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı’na bağlı Hormon Laboratuvarı’nda “Beckman-Coulter Inc. ABD, UnicelDx I 800 Immunoassay System” cihazı ile kemiluminesans yöntemi ile çalışıldı.

Tüm olguların EDTA’lı kan numuneleri ise Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda toplanarak Roche izolasyon kiti kullanılarak DNA izolasyonları yapıldı. DNA izolasyonundan sonra, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile VEGF genindeki ürünler %2’lik agaroz jellere yüklenip etidyum bromür (EtBr) ile boyanarak elektroforezde 110 voltta yürütüldü. Daha sonra PZR ürünleri VEGF geninin polimorfizm bölgesine özgü NlaIII (Hin1II) restriksiyon enzimi kullanılarak restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile enzim, 37 °C’de 3 saat inkübasyon yapılarak kesime bırakıldı. Kesim sonucu ürünler %3’lük agaroz EtBr ile boyanarak elektroforezde 110 voltta yürütüldükten sonra ultraviyole (UV) ışık altında polimorfizmler saptandı. Ayrıca IL-8 -251 polimorfizm için, DNA’lar PZR ile istenen bölgelere özgü primerlerle çoğaltıldı. PZR ürünleri %2’lik agaroz jelde yürütülerek ürün oluşup oluşmadığına bakıldı. Daha sonra PZR ürünleri IL-8 -251 geninin polimorfizm bölgesine özgü VspI (AseI) restriksiyon enzimini kullanılarak RFLP yöntemi ile enzim 37 °C’de 3 saat inkübasyon yapılarak kesime bırakıldı. Kesim sonucu ürünler %3’lük agaroz jelde EtBr ile boyanarak elektroforezde 110 voltta yürütüldükten sonra ultraviyole ışık altında polimorfizmler saptandı.

Biyofizik Laboratuvarında Kullanılan Malzemeler

Agaroz (Sigma), borik asit (Sigma), DNA marker seti, 50 bç (Fermentas), DNA marker seti 100 bç (Fermentas), dNTP (deoksiribonükleotit trifosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas), EtBr (Sigma), EDTA (Sigma), ApaI restriksiyon enzimi (Fermentas), BstnI restriksiyon enzimi (Fermentas), HaeII restriksiyon enzimi (Fermentas), primerler

(Fermentas), Proteinaz K (Roche), Taq DNA polimeraz seti (Fermentas), trisma (Base) (Bio Basic).

Biyofizik Laboratuvarında Kullanılan Cihazlar

Agaroz elektroforez tankı (MINICELL PRIMO EC 320), derin dondurucu (AEG), güç kaynağı (EC-105), manyetik karıştırıcı (Nüve), otoklav (Heraeus), otomatik mikro pipetler (Finnpipette), santrifüj (Allegra X-22R), terazi (Sartorius), thermalcycler (Boeco TS-100), vorteks (VELP Scientifica).

Biyofizik Laboratuvarında Kullanılan Çözeltiler

10X TBE çözeltisi (1 litre), 60,5 gr Tris, 3.72 gr Na₂EDTA 2H₂O, 30.85 gr borik asit.

Biyofizik Laboratuvarında Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Primer Dizileri

VEGF 936C>T gen polimorfizmi için kullanılan primerler;

F: 5'-AGGAAGAGGaGACTCTGCGCAGAGC-3'

R: 5'-TAAATGTATGTATGTGGGTGGGTGTGTCTACAGG-3'

IL-8 -251 gen polimorfizmi için kullanılan primerler;

F: CCATCATGATAGCATCTGT

R: CCACAATTTGGTGAATTATTAA

Biyofizik Laboratuvarında Polimeraz Zincir Reaksiyonu için Hazırlanan Karışımlar

Bir olgunun VEGF 936C>T PZR incelemesinde kullanılan karışım (25 µl toplam hacim): 1,5mM MgCl₂, 1XKC'li içeren Taq polimeraz tamponu, 0,5 µM F primeri, 0,5 µM R primeri, 0,2 mM dNTP, 1,25 Taq DNA polimeraz ünitesi, 2 µl izole edilmiş DNA.

Bir olgunun IL-8 -251 PZR incelemesinde kullanılan karışım: 1,5 mM MgCl₂, 1X (NH₄)₂SO₄ içeren Taq polimeraz tamponu, 0,5 µM F primeri, 0,5 µM R primeri, 0,2 mMdNTP, 1,25 Taq DNA polimeraz ünitesi, 2 µl izole edilmiş DNA.

Polimeraz zincir reaksiyonu için gerekli koşullar;

VEGF +936 için:

Başlangıç: 94 °C 5 dakika

94 °C 1 dakika

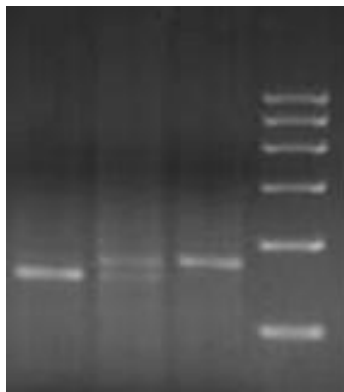
57 °C 55 saniye 35 Döngü
72 °C 60 saniye
Sonlanma: 72 °C 8 dakika

IL-8 –251 için:

Başlangıç: 94 °C 5 dakika
94 °C 1 dakika
55 °C 1 dakika 35 Döngü
72 °C 1 dakika
Sonlanma: 72 °C 7 dakika

Restriksiyon Enzim Kesimi Yöntemleri: VEGF 936C>T için; 8, 0 µl PZR reaksiyon ürünü, 1, 0 µl 1x Fast Digest Green Buffer (enzim kesme) tamponu, 0, 5 µl NlaIII (Hin1II) restriksiyon enzimi, 3 µl dH2O (toplam hacim:12, 5µl) karışımında 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresinin sonunda ürünler 1, 5 µl EtBr ile hazırlanan %3’lük agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi. IL-8 –251 için; 2, 0 µl PZR reaksiyon ürünü, 1, 0 µl 1xM (enzim kesme) tamponu, 0, 5 µl VspI (AseI) restriksiyon enzimi, 6, 5 µl dH2O (toplam hacim:10µl) ile birkaç saniye yavaşça karıştırıldı. 37 °C’de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresinin sonunda ürünler 4, 5 µl EtBr ile hazırlanan %3’lük agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi.

Şekil 2’de IL-8 –251 gen polimorfizmi ile ilişkili jel görüntüsü sunulmuştur.



TT genotipi (174 bç; 3’üncü örnek); AT genotipi (174 bç; 153 bç ve agaroz jelinde gözükmeyen 21 bç; 2’inci örnek); AA genotipi (153 bç ve agaroz jelinde gözükmeyen 21 bç; 1.’inci örnek); 50bç; DNA markeridir (Fermentas GeneRuler 100 bç DNA Ladder).

Şekil 2. İnterlökin-8 (-251) gen polimorfizmine ait polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin VspI (AseI) restriksiyon enzimi ile kesilmiş örneklerin etidyum bromür ile boyanmış jel görüntüsü

İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Olguların istatistiksel değerdendirmesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Biyoistatistik Anabilim Dalı bilgisayar laboratuvarında bulunan SPSS 20,0 (Lisans no: 10240642) adlı program kullanılarak yapıldı. Çalışmada incelenen gen polimorfizmlerinin dağılımları Hardy Weinberg yasasına göre incelendi. Olguların verilerin karşılaştırılmasında Student-t testi, Mann-Whitney-U testi, kıkare testi uygulandı. DTK gelişimi üzerine etkili olan risk faktörleri lineer regresyon analizi ile değerdendirildi. $p<0,05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza 18-80 yaş arasında bulunan 85'i kadın 16'sı erkek olmak üzere toplam 101 DTK'li olgu ile 62'si kadın 47'si erkek 109 kontrol olgu dahil edildi. DTK'li grupta kadın hasta oranı anlamlı olarak daha fazlaydı ($p<0,001$). DTK'li grubun yaş ortalaması kontrol grubu ile kıyaslandığında daha ileriye (Sırasıyla; $49,8\pm12,0$, $36,9\pm9,8$, $p<0,001$). Diferansiye tiroid kanserlilerin ortalama yaşı erkekler için 49,50, kadınlar için 50,00 olarak saptandı. Çalışmamızda tiroid kanserli kadınların erkeklere oranı 5,3/1 idi. 45 yaş öncesinde bu oran 6,2/1 iken, 45 yaş sonrasında 4,9/1 olarak saptandı. DTK'li grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama BKİ (Sırasıyla; $30,3\pm5,7$ kg/m², $25,8\pm3,8$ kg/m², $p<0,001$) ve bel çevresi (Sırasıyla; $96,4\pm12,1$ cm, $87,9\pm12,1$ cm, $p<0,001$) ölçümlerinde farklılık olduğu saptandı. Diferansiye tiroid karsinomlu hastalarda serum sT3 değerleri kontrol grubundaki olgulara göre anlamlı ölçüde daha düşük bulundu. Yine serum sT4 değerleri de istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazlaydı. DTK'li hasta grubunun serum TSH değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşüktü. Tablo 4'te DTK'li hastalar ile kontrol grubunun demografik ve laboratuvar özellikleri sunulmuştur.

Çalışmamıza dahil olan hastaların 29'unun (%29,3) ailesinde kanser öyküsü bulunmaktaydı.

Çalışmamızda incelenen diferansiye tiroid kanseri olgularından 97 tanesi (%96) papiller tiroid kanseri, 4 olgu (%3,9) folliküler tiroid kanseri idi. Papiller tiroid kanserli olguların 30'u (%30,9) mikropapiller karsinom tanısı ile izlenmekteydi. Papiller tiroid kanser olgularının 60'ı (%59,4) klasik tip, 35'i (%34,6) folliküler varyant, 2'si (%2) onkositik varyant tanısı almıştı. Tablo 5'te çalışmamıza alınan DTK'li hastaların tanı alt tiplerinin sayısal dağılımları ve genel toplam içindeki yüzdeleri görülmektedir.

Tablo 4. Grupların demografik ve laboratuvar özellikleri

	DTK grubu (n=101)	Kontrol grubu (n=109)	P
Yaş (yıl)	49,8±12,0	36,9±9,8	<0,001
Cinsiyet (kadın/erkek)	85/16	62/47	<0,001
Bel çevresi (cm)	96,4±12,1	87,9±12,1	<0,001
BKİ (kg/m²)	30,3±5,7	25,8±3,8	<0,001
sT3 (pg/ml)	2,92±1,3	3,74±0,811	<0,001
sT4 (ng/dl)	1,13±0,45	0,97±0,12	<0,001
TSH (UIu/ml)	0,112±22,7	1,88±1,66	<0,001

DTK: Diferansiye tiroid kanseri; sT3: Serbest triiyodotironin; sT4: Serbest tiroksin; TSH: Tiroid stimulan hormone; BKİ: Beden kitle indeksi.

Tablo 5. Diferansiye tiroid karsinomlu grubun tanı alt tipleri

DTK alt tipleri	Sayı	%
Papiller karsinom klasik tip	60	%59,4
Papiller karsinom folliküler varyant	35	%34,6
Papiller karsinom onkositik tip	2	%1,98
Folliküler karsinom	4	%3,96

DTK: Diferansiye tiroid kanseri.

Diferansiye tiroid kanseri olgularında lenf bezi metastazı saptanan olgu sayısı 14 (%13,8) idi. 87 hastada ise (%86,2) lenf bezi metastazına rastlanmadı.

Diferansiye tiroid kanserli olguların TNM sınıflandırılmasına göre yapılan evrelendirmelerine göre; hastaların yaşı ilerledikçe hastalık evresinde artış gözlemlendi (Tablo 6). Özellikle evre III ile evre I grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0,001$). Tablo 6’da vakaların evrelerine göre yaş dağılımları görülmektedir.

Tablo 6. Vakaların evrelerine göre yaş ortalamaları

	Sayı	Ortalama yaş
Evre I	82	47,85±11,70
Evre II	7	55,00±7,60
Evre III	9	60,50±7,09
Evre IV	3	58,00±19,30

Çalışmamızda incelenen DTK'li hastaların 51'i Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde, 49'u ise başka hastanelerde opere olmuşlardı. Çalışmamıza katılan bir vaka opere edilmemişti. Uygulanan operasyonla ilişkili raporlarına ulaşabildiğimiz vakalarımızın dağılımları Tablo 7'de sunulmaktadır. Total tiroidektomi ile birlikte bir vakada sağ boyun diseksiyonu, 4 vakada sol boyun diseksiyonu, 3 vakada santral boyun diseksiyonu ve 3 vakada da bilateral boyun diseksiyonu uygulanmıştı.

Tablo 7. Diferansiye tiroid karsinomlu gruba yapılan operasyonlar

	Sayı	%
Opere edilmemiş	1	%1,6
Total tiroidektomi	33	%54,1
Sağ tiroidektomi	2	%3,3
Totale tamamlayıcı tiroidektomi	14	%23,0
Total tiroidektomi+sağ boyun diseksiyonu	1	%1,6
Total tiroidektomi+sol boyun diseksiyonu	4	%6,6
Total tiroidektomi+santral boyun diseksiyonu	3	%4,9
Total tiroidektomi+bilateral boyun diseksiyonu	3	%4,9

Çalışmamıza katılan tiroid kanseri olgularından 54'üne (%53,5) takipleri sırasında radyoaktif iyot ablasyon tedavisi uygulanmıştı. 47 (%46,5) hastaya ise RAI ablasyon tedavisi uygulanmamıştı.

Çalışmada değerlendirilen gen polimorfizmlerinin dağılımları Hardy-Weinberg yasasına göre incelendi. IL-8 gen polimorfizminin dağılımlarının Hardy-Weinberg yasasına (DTK grubu $p=0,159$) uygun olduğu tespit edildi. VEGF gen polimorfizminin dağılımlarının ise Hardy-Weinberg yasasına (DTK grubu $p\leq 0,001$) uygun olmadığı saptandı.

Yaş ve cinsiyete göre eşleştirme uygulandıktan sonra diferansiye tiroid kanser grubu ile kontrol grupları IL-8 ve VEGF genotip değişimlerinin sıklıkları açısından karşılaştırıldı. IL-8 genotipleri açısından DTK grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak

anlamlı fark saptanmadı. Tablo 8’de IL-8 genotiplerinin DTK’li ve kontrol grupları arasındaki dağılımları görülmektedir.

Tablo 8. İnterlökin-8 genotiplerinin gruplara göre dağılımı

GENOTİP	Diferansiye Tiroid Kanseri Grubu	Kontrol Grubu	p
AT	41	50	0,529
TT	53	49	0,528
AA	7	10	0,726

A: Arjinin; T: Timin.

Tablo 9’da VEGF genotiplerinin DTK’li ve kontrol grupları arasındaki dağılımları görülmektedir.

Tablo 9. Vasküler endotelyal büyüme faktörü genotiplerinin gruplara göre dağılımı

GENOTİP	Diferansiye Tiroid Kanseri Grubu	Kontrol Grubu	p
TC	36	38	>0,05
TT	3	14	0,029
CC	62	57	>0,05

C: Sitozin; T: Timin.

Diferansiye tiroid kanserli 99 vakada IL-8 ve VEGF genotip özelliklerinin tümör çapına ve yayılımına (T evreleme) etkisi olup olmaması açısından incelendi.

İnterlökin-8 genotipleri arasında T skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Tablo 10’da IL-8 genotiplerinin T skorları içindeki sayısal dağılımları görülmektedir.

Tablo 10. İnterlökin-8 genotiplerinin T skoruna göre dağılımı

GENOTİP	T1	T2	T3	T4	p
AT	22	5	5	0	0,269
TT	33	2	14	1	0,147
AA	3	3	1	0	0,700

A: Arjinin; T: Timin.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü genotipleri arasında T skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Tablo 11’de VEGF genotiplerinin T skorları içindeki sayısal dağılımları görülmektedir.

Tablo 11. Vasküler endotelyal büyüme faktörü genotiplerinin T skoruna göre dağılımı

GENOTİP	T1	T2	T3	T4	p
TC	20	4	6	0	0,921
TT	2	0	0	0	0,817
CC	36	6	14	1	0,527

C: Sitozin; T: Timin.

İnterlökin-8 genotipleri arasında DTK evreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Tablo 12’de IL-8 genotiplerinin DTK evreleri içindeki sayısal dağılımları görülmektedir.

Tablo 12. İnterlökin-8 genotiplerinin tümör evrelemesine göre dağılımı

GENOTİP	EVRE I	EVRE II	EVRE III	EVRE IV	p
AT	26	4	2	0	>0,05
TT	40	1	6	3	>0,05
AA	6	1	0	0	>0,05

A: Arjinin; T: Timin.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü genotipleri arasında da DTK evreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Tablo 13’de VEGF genotiplerinin DTK evreleri içindeki sayısal dağılımları görülmektedir.

Tablo 13. Vasküler endotelyal büyüme faktörü genotiplerinin tümör evrelemesine göre dağılımı

GENOTİP	EVRE 1	EVRE 2	EVRE 3	EVRE 4	p
TC	23	1	5	0	>0,05
TT	2	0	0	0	>0,05
CC	47	5	3	2	>0,05

C: Sitozin; T: Timin.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü genotipleri arasında DTK ile ilişkili lenf bezi metastazı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Tablo 14’de VEGF genotiplerinin lenf bezi metastazı olan gruplar arasındaki sayısal dağılımları görülmektedir.

Tablo 14. Lenf bezi metastazı olan ve olmayan diferansiye tiroid karsinomlu olgularda vasküler endotelyal büyüme faktörü genotiplerinin dağılımı

GENOTİP	LENF BEZİ METASTAZI OLMAYAN GRUP	LENF BEZİ METASTAZI OLAN GRUP	P
TC	32	4	>0,05
TT	3	0	>0,05
CC	52	10	>0,05

C: Sitozin; T: Timin.

İnterlökin-8 genotipleri arasında DTK ile ilişkili lenf bezi metastazı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. TT genotipine sahip hastalarda DTK ile ilişkili istatistiksel olarak anlamlı şekilde ($p=0,02$) daha fazla lenf bezi metastazı görüldüğü saptandı. Tablo 15’de IL-8 genotiplerinin lenf bezi metastazı olan gruplar arasındaki sayısal dağılımları görülmektedir.

Tablo 15. Lenf bezi metastazı olan ve olmayan diferansiye tiroid karsinomlu olgularda İnterlökin-8 genotiplerinin dağılımı

GENOTİP	LENF BEZİ METASTAZI OLMAYAN GRUP	LENF BEZİ METASTAZI OLAN GRUP	P
AT	40	1	>0,05
TT	40	13	0,02
AA	7	0	>0,05

A: Arjinin; T: Timin.

Çalışmaya dahil edilen hastaların verileri Ek 3’te verilmiştir.

TARTIŞMA

Tiroid kanserinin patogeneğinde tiroid kanserlerine özgü genetik değişimler temel rol oynamaktadır. Bizim çalışmamızın amacı diferansiye tiroid kanseri gelişiminde anjiyogeneizde rolü bulunan IL-8 ve VEGF gen polimorfizmlerinin önemini belirlemektir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2002 yılında tanı konan 2400 tiroid kanseri olgusu incelendiğinde kadın erkek oranı 2,7/1 olarak saptanmıştır (79). Çalışmamıza katılan 101 DTK'li olgunun 16 tanesi erkek (%15,8), 85 tanesi kadın (%84,1) olup tiroid kanserli kadınların erkeklere oranı 5,3/1 idi. 45 yaş öncesinde bu oran 6,2/1 iken, 45 yaş sonrasında 4,9/1 olarak saptandı. Çalışmamızda kadın erkek oranını literatürle uyumlu olarak tespit ettik. Bu sonuç nodül sıklığının kadınlarda daha yüksek olmasının, dolayısıyla tiroid kanserine yakalanma olasılığının kadın cinsiyetinde daha fazla olması ile açıklanabilir. Yine aynı çalışmada DTK tanısı anındaki ortalama yaş 46 olarak saptanmıştır (79). Amerikan Kanser Topluluğu'na göre tiroid karsinomunun ortalama tanı yaşı 49'dur ve 15-84 yaşları arasında değişmektedir. Genellikle papiller tiroid karsinomunun tanı yaşının 40-44, folliküler tiroid karsinomunun tanı yaşının ise 45-60 olduğu kabul edilmektedir (6). Bizim çalışmamızda ise DTK için ortalama yaş erkeklerde 49,5, kadınlarda 50,00 olarak saptadık. Çalışmamızda diferansiye tiroid karsinomu ortalama tanı yaşı literatürle uyumlu olarak saptanmıştır. Özellikle 45 yaş öncesinde DTK'lerinin tanınması evreleme ve prognoz açısından önemlidir. Çalışmamızda 45 yaş altında 36 vaka, 45 yaş üzerinde ise 75 vaka mevcuttu. Bu sonuçlar bize prognozu olumlu yönde etkileyebilecek yaş faktörüne dikkat etmemiz gerektiğini, dolayısıyla tiroid nodüllerinin değerlendirilmesinin çok erken yaşlardan itibaren yapılması gerektiğini göstermektedir.

Muro-Cacho ve Ku (80) tarafından yapılan çalışmada diferansiye tiroid kansinomu tipleri arasında papiller kansinom oranı %85, folliküler kansinom oranı ise %15 olarak saptanmıştır. Burgess (81) tüm tiroid kanseri tiplerini dahil ederek yaptığı geniş ölçekli bir çalışmada, 1982-1997 yılları arasında yeni tanı konan 9053 tiroid kanseri olgusu içinde papiller tiroid kansinomunu %65,8, folliküler tiroid kansinomunu %17,8, medüller tiroid kansinomunu %4,6, anaplastik tiroid kansinomunu %1,3 ve diğer tiroid kansinomlarını %10,6 oranında saptamıştır. 2001 yılında diferansiye tiroid kansinomu vakalarında yapılan bir çalışmada ise papiller kansinom oranı %82, folliküler kansinom oranı %11, Hurthle hücreli kansinom oranı ise %7 olarak tespit edilmiştir (82). Bir başka çalışmada ise hastaların %87 ile en yüksek oranda papiller kansinom, ikinci sıklıkta %11 ile folliküler kansinom olduğu bulunmuştur (83). Bizim çalışmamızda incelenen diferansiye tiroid kanseri olgularından 97 tanesi (%96) papiller tiroid kanseri, 4 olgu (%3,9) folliküler tiroid kanseri idi. Papiller tiroid kanserli olguların 30'u (%30,9) mikropapiller kansinom tanısı ile izlenmekteydi. Papiller tiroid kanser olgularının 60'ı (%59,4) klasik tip, 35'i (%34,6) folliküler varyant, 2'si (%1,98) onkositik varyant tanısı almıştı. Bizim çalışmamızda da diferansiye tiroid kansinomu alt tiplerinin oranları literatürle uyumlu olup, papiller tiroid kanseri klasik varyant en sık rastlanan tip olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tiroid kanserli hastaların birinci derece akrabalarında yapılan bir çalışmada tiroid kanserli hasta yakınlarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %38 daha fazla kanser insidansı olduğu izlenmiştir (84). Yapılan bir başka çalışmada tiroid kanserli olguların %6'sının, sağlıklı kontrollerin ise %3,7'sinin annelerinde meme kanseri öyküsü olduğu bu nedenle kişinin annesinde meme kanseri öyküsü olmasının kişide tiroid kanseri gelişme riskini hafifçe artırdığı belirtilmiştir (85). 1958 ile 2002 yılları arasında İsveç kanser kayıtlarından yapılan 3292 tiroid kanserli hastayı temel alan bir başka çalışmada ise tiroid kanseri gelişiminde artmış bir ailesel risk olduğu saptanmıştır. Yakın zamanda Hemminki tarafından yürütülen bir başka çalışmada tiroid kanseri gelişimi açısından ailesel bir risk artışı saptanmıştır (86). Bizim çalışmamıza dahil olan hastaların 29'unun (%29,3) ailesinde kanser öyküsü bulunmaktaydı. Çalışmamızda ailede kanser öyküsünün literatüre göre daha fazla çıkmasının nedeni öykünün sadece tiroid kanserini kapsamaması ve bunun yanında akraba olarak sorgulanan kişilerin yakınlık derecesinin dışlama kriterleri içerisinde yalnızca birinci derece akrabalarla sınırlandırılmamış olması olabilir.

Diferansiye tiroid kanserinde tam cerrahi rezeksiyonun rolü tartışmasız olmakla birlikte başlangıç cerrahi rezeksiyonun genişliği tartışma konusudur. Günümüze kadar tiroid kanserinin primer tedavisi nodülektomi, isthmusektomi ile veya isthmusektomisiz

hemitiroidektomi, subtotal tiroidektomi ve total tiroidektomiye içermiştir. Nodülektomiyle birlikte olan yüksek rekürrens oranları bu yaklaşımın yetersiz olduğunu ispatlamıştır. Hastalığın multisentrik doğasına dayanarak daha agresif bir cerrahiye doğru bir eğilim artmışken hala parsiyel tiroidektominin yeterli olduğu konusunda ısrar eden yaklaşımlar mevcuttur (87). Total tiroidektomiye karşı çıkanlar bilateral multisentrik hastalığın sıklıkla mikroskopik olduğunu ve klinik olarak önem taşımadığını belirtmişlerdir. Bu daha sonra hemitiroidektomiyle karşılaştırıldığında total tiroidektominin birçok çalışmada sağkalım avantajı sağlamayı başaramadığı gözlemiyle desteklenmiştir (88,89). Bazı araştırmacılar sadece büyük lenf nodları için seçici rezeksiyonu tercih ettiklerini bildirmişlerdir (90,91). Bazı araştırmacılar ise modifiye boyun diseksiyonunu önermiştir (92). Bazıları ise profilaktik lenf nodu diseksiyonunu tercih etmişlerdir (93-96). Bizim çalışmamıza katılan hastaların 33'üne (%54,1) total tiroidektomi uygulanmıştı. 14'üne (%23,0) totale tamamlayıcı tiroidektomi uygulanmıştı. 11 (%18) hastaya ise lenfadenektomi uygulanmıştı. Yapılan cerrahi uygulama sonuçlarının tümüne ulaşamamış olmasına rağmen farklı merkezlerde farklı cerrahi yaklaşımların uygulandığı görülmektedir. Bu konuda standardizasyon halen sağlanamamıştır.

Uzak metastazlar tiroid papiller ve folliküler kanserli hastaların %10'undan azında görülmektedir (97). Hannover Tıp Okulu'nda 1972 ila 1992 yılları arasında takip edilen 728 tiroid kanserli hastanın 342 papiller tiroid kanserli alt grubunun incelendiği bir çalışmada 160 hastanın %46,8'inde başlangıçta lenf nodu metastazı olduğu saptanmıştır. Yine aynı çalışmada başlangıçta lenf nodu metastazı olan hastaların daha fazlası uzak metastaza sahip olduğu bildirilmiştir (98). Bu sonuçlarda olduğu gibi, Vassilopoulou-Sellin ve ark. (99) ile McHenry ve ark.'nın (100) çalışmalarında da uzak metastazın başta varolan lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu desteklenmiştir. Lenfatikler yoluyla yayılan papiller kanserin aksine folliküler kanserlerin hematojen yolla akciğerlere ve kemiklere yayılma eğilimi mevcuttur. Başlangıçtaki uzak metastaz oranları ise nadir değildir ve yeni vakaların %10'u ila %20'si arasında değişmektedir (101). Bizim çalışmamızda incelenen diferansiye tiroid kanseri olgularında lenf bezi metastazı saptanan olgu sayısı 14 (%13,8) idi. 87 hastada ise (%87) metastaza rastlanmadı. Lenf bezi metastazlarının tespitinde yapılan klinik değerlendirmelerin yanı sıra uygulanan cerrahi işlemin şekli de önemlidir. Çalışmamızda incelediğimiz tiroid kanserli olguların lenf bezi metastaz oranının literatüre göre daha düşük olmasının nedeni olguların tek merkez tarafından değerlendirilmemiş olması, yine uygulanan cerrahi yöntemlerin tek merkez kontrolünde olmamasından kaynaklanabilir. Lenf bezi metastazı tespit edilmesi, olguların TNM evrelemesine göre değerlendirilmesini değiştirmekte, daha da

önemlisi tedavi ve takip açısından yönlendirici olmaktadır. Bu da tanı esnasında DTK'li olguların lenf bezi metastazları açısından dikkatli bir şekilde değerlendirilmesinin önemli olduğunu göstermektedir.

Rekürrens riskini azaltmak ve tiroglobulin monitörizasyonunu kolaylaştırmak çok düşük riskli hastalar haricindeki hastalara total tiroidektomiden sonra I-131 ile rezidü ablasyonu rutin olarak uygulanmaktadır. Rezidü tiroid dokusunun açıklığını artırmak için tiroid baskılama tedavisi sonlandırılır ve iyottan fakir diyet başlanır. TSH değeri 25 ila 30 mU/L'nin üzerine çıktığında hastaya 30 mCi ila 100 mCi dozları arasında radyoaktif iyot verilir. Rezidü mikroskobik hastalığı olduğu kuşkusunu uyandıran, agresif tümör histolojisi yada bilinen uzak metastazı olan hastalara 100 ila 300 mCi aralığında daha yüksek I-131 dozları uygulanır. İyoda aç tümöre sahip daha genç hastalar I-131 tedavisine daha iyi yanıt verirler (102). Tiroid kanseri pulmoner metastazıyla ilgili bir çalışmada tiroid kanseri pulmoner metastazına yanıtın tümörün büyüklüğü, hastanın yaşı ve I-131'i konsantre etme yeteneği ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (103). Fakat folliküler tiroid kanserlerinde daha fazla görülen kemik metastazları I-131 tedavisine daha az yanıt verir (102). Radyoaktif iyot tedavisi I-131 tutulumu olan papiller tiroid kanserli hastalarda temel bir tedavi modalitesidir ve eksternal radyasyon ışınlama ve cerrahi gibi lokal tedavilerle birlikte uygulanabilir. Durante ve ark. (97) tarafından papiller ve folliküler tiroid karsinomlu uzak metastazları bulunan 444 hastayla yapılan bir çalışmada; uzak bölgelerdeki veya boyunda kalıcı hastalık veya normal tiroid dokusu artıklarının ortadan kaldırılması amacıyla hastaların 396'sına (%90) cerrahi, 145'ine (%55) lenf nodu diseksiyonu, 403'üne I-131 [3,7 GBq (100 mCi)] uygulanmıştır. 82 hastaya postoperatif dönemde boyuna eksternal radyasyon ışınlama uygulanmıştır (97). Çalışmamıza katılan tiroid kanseri olgularından 54'ine (%53,5) takipleri sırasında radyoaktif iyot ablasyon tedavisi uygulanmıştır.

Diferansiye tiroid kanserleri genelde yavaş seyirlidir. Ayrıca cerrahi ile RAI tedavileri sonrasında sıklıkla kür elde edilebilmesine rağmen bazı hastalarda nüks görülmektedir. Düşük riskli olguların dışındaki tiroid kanserlerine radyoaktif iyot tedavisi planlandığı düşünülecek olursa, çalışmamızdaki vakaların yarısından fazlasına radyoaktif iyot tedavisi uygulanması yine olguların erken dönemde yakalanamadığını düşündürmektedir. Erken tanı ile birlikte uygulanması gereken RAI tedavi oranını azaltmak mümkün olacaktır. Bu yüzden yüksek rekürrens riskli hastaları tespit edip daha agresif tedavi ve daha uygun monitörizasyon sağlayabilmek için risk sınıflandırmasının yapılması önemlidir. Bu prognoz belirleme işlemi hastanın yaşı ve cinsiyeti, tümörün büyüklüğü ve histolojik alt tipi, hastalığın ekstratiroidal ve metastatik yayılımı gibi bazı kesin klinik ve histopatolojik risk faktörlerinin varlığına ya da

yokluğuna göre hareket edilerek planlanmaktadır (104-109). Bu tümörlerin prognostik seyrini belirleyen belirteçleri tanımlamak için birçok araştırma yapılmıştır. Üç tip prognostik belirteç vardır: Klinikopatolojik, morfolojik ve biyolojik. İlk kategoride yaş, cinsiyet, tümörün büyüklüğü, çok odaklı olması, vasküler ve ekstrasitroidal yayılım olması ve metastaz varlığıdır. İkinci kategoride tümör alt tipi, otoimmün tiroid hastalıklarla ilişki gibi morfolojik özellikler mevcuttur. Son grup RET ve RET/PTC yeniden düzenlenmeleri gibi onkogenlerden oluşmaktadır (109). Çalışmamızda tanı esnasında ileri evrede olan hastaların daha yaşlı olduğu, özellikle evre III DTK'li hastaların evre I DTK'li hastalara göre daha ileri yaşta oldukları saptanmıştır. Bu sonuç yine erken yaşlarda DTK tanısının konulabilmesinin hastanın gelecekteki prognozu açısından önemli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda DTK'li olgularda sağlıklı olgulara göre tümör gelişimi için kritik rol üstlenen, anjiyogeneze etkili olan IL-8 ve VEGF gen polimorfizmlerinin sıklıklarının farklı olup olmadığını inceledik. Bu konuda yapılan insan meme kanserleriyle ilgili bir çalışmada IL-8 ve VEGF salınımının anjiyogeneze ilişkili olduğu saptanmıştır (110). Kolon kanserli hastalarda tümör rekürrensini inceleyen bir çalışmada ise, IL-8 ve VEGF gen polimorfizmlerinin yaş, cinsiyet, etnik köken gibi demografik, kemoterapinin tipi gibi klinik ya da tümör evresi gibi patolojik özelliklerden etkilenmemekle birlikte tümör anjiyogeneze yolunda bulunan bu gen polimorfizmlerinin diğer faktörlerden bağımsız bir şekilde tümör rekürrensini tahmin ettireceği gösterilmiştir (111).

Meme ve akciğer kanserlerini de kapsayacak şekilde kanserlere eğilim ve VEGF C+936T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır (112-114). Renner ve ark. (115) sağlıklı olgularda yaptıkları bir çalışmada VEGF 936 T allel taşıyıcılarının daha düşük düzeylerde plazma VEGF'ye sahip olduğunu göstermişlerdir. Biz çalışmamızda VEGF plazma düzeylerini inceleyemedik. Yakın zamanda yapılan bir çalışma düşük plazma VEGF 936 T allelinin prevalansının bu genetik varyantın meme kanserine karşı koruyucu olduğunu düşündürecek şekilde meme kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha az olduğu saptanmıştır (112). Aynı zamanda VEGF gen polimorfizmlerinin cerrahi olarak rezeke edilmiş gastrik kanserli Kore'li hastalar için bağımsız bir prognostik belirteç olduğu tespit edilmiştir (113). Bununla birlikte anjiyogeneze ilişkili gen polimorfizmlerini adjuvan kolorektal karsinomlu hastalarda relapsa kadar geçen süre veya klinik sonlanımla ilişkili bulunmamış olmasına rağmen VEGF C+936 T'nin (VEGF +936 C/C) yüksek salınlı varyantları tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerde adjuvan kolorektal karsinomlu hastalarda relapsa kadar geçen süre ile önemli derecede ilişkili bulunmuştur (111). Bizim çalışmamızda ise DTK'li hastalarda VEGF gen polimorfizmlerinden biri olan TT genotipinin

TC genotipine göre 4,4 kat daha az sıklıkta görüldüğü saptanmıştır. Bu sonuç VEGF +936'da TT genotipinin DTK' ye karşı koruyucu bir rol oynadığını düşündürmektedir. Buna karşın DTK'li olgularda VEGF'nin 936. pozisyonundaki allel frekansları, genotip sıklıkları ve evreleme arasında ilişki tespit edilmemiştir. Bu da tiroid nodülü nedeniyle değerlendirilen ve malign, benign ayrımı yapılamayan olgularda incelenecek VEGF 936 TT genotipinin varlığının veya yokluğunun yol gösterici olabileceğini göstermektedir.

Sekiz ailede yapılan bir çalışmada IL-8 251A allelinin artmış IL-8 plazma seviyesi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (116). Yakın zamanda da IL-8 251 A allelinin artmış meme, prostat, mide ve kolorektal kanser ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (117-120). 70 rekürren, metastatik epitelyal over kanserli hasta ile yapılan bir başka çalışmada da IL-8 geninde -251 pozisyonunda T'nin yerine A gelmesiyle oluşan polimorfizmin rekürren over kanserli ya da primer peritoneal kanserli hastalarda siklofosamid ve bevasuzimab bazlı kemoterapiye verilen yanıtla ilişkili olduğu saptanmıştır (121). IL-8 T-251A'nın yüksek salınlı varyantları tek değişkenli ve regresyon ağacı analizlerinde rektal kanserli hastalarda rekürrens riskiyle önemli derecede ilişkili olarak bulunmuştur (122). Yüksek salınlı varyantı IL-8 T-251A polimorfizmini (A/A genotip) taşıyan evre III kolorektal karsinomlu hastaların tümör rekürrensi açısından daha yüksek riskli oldukları saptanmıştır. Yine aynı çalışmada yapılan VEGF C+936T ve IL-8 T-251A birleştirilmiş analizi neticesinde iki polimorfizm ve relapsa kadar geçen süre arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (15). 238 prostat kanserli hastayı 235 sağlıklı kontrolle karşılaştıran bir başka çalışmada ise IL-8'in daha az üretilmesine yol açan IL-8 (-251) TT genotipinin kontrollerle kıyaslandığında prostat kanserli hastalarda önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (123). Prostat kanserli hastalarda yapılan bir başka çalışmada ise IL-8'e karşı nötralizan antikörlerin anjiyojenik aktiviteyi baskıladığı gösterilmiştir. Bu da prostat kanseri gelişiminde IL-8'in önemli bir rolü olduğunu yeniden vurgulamıştır (124). Bizim çalışmamızda ise IL-8 genotipleri ile DTK gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. IL-8 TT polimorfizmi taşıyan vakalarda DTK ile ilişkili lenf bezi metastazı sıklığının artmış olduğunu saptadık. Bu saptama doğrultusunda DTK'li hastalarda IL-8 genotiplerine göre IL-8 plazma düzeylerinin de ölçülmesi ve yüksek ya da düşük IL-8 salınlı varyantlar olup olmadıklarının da araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; tümör anjiyogenezinde rol oynadığı bilinen VEGF'nin 936. pozisyonundaki TT genotipinin DTK gelişimini engellediği, dolayısıyla koruyucu bir faktör olarak rol oynadığını tespit ettik. VEGF 936. pozisyonda TT genotipini taşımayan ve tiroid nodülü nedeniyle değerlendirilen olgularda daha dikkatli incelemeler yapılması, altta yatan

diferansiye tiroid kanserinin erken dönemde tespit edilmesi açısından yardımcı olacağını düşünmekteyiz. Yine tümör gelişimi ile ilişkili basamaklarda rol oynadığı bilinen IL-8'in 251. pozisyonundaki TT genotipinin ise DTK bulunan hastalarda lenf bezi metastazı gelişme olasılığını arttırdığını saptadık. IL-8 251. pozisyonda TT polimorfizmi taşıyan hastaların tedavi açısından değerlendirildikleri sırada daha geniş cerrahi rezeksiyon için aday olabileceği, takip sırasında da metastaz açısından daha dikkatli incelenmeleri gerektiğini düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

En sık görülen endokrin kanserler diferansiye tiroid kanserleridir. Tiroid kanserlerinin çoğu iyi diferansiye papiller ve folliküler tiroid kanserlerinden oluşur. Anjiyogenez malignite gelişim aşamalarının en önemlilerinden biridir ve tümör yayılımı için gereklidir. Bu çalışmada iyi diferansiye tiroid kanserli hastalarda anjiyogenezde rolü olan IL-8 ve VEGF gen polimorfizmlerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırılması amaçlandı.

1. Çalışmamızda incelenen diferansiye tiroid kanseri olgularından 97 tanesi (%96) papiller tiroid kanseri, 4 olgu (%3,9) folliküler tiroid kanseri idi. Papiller tiroid kanserli olguların 30'ı (%30,9) mikropapiller karsinom tanısı ile izlenmekteydi. Papiller tiroid kanser olgularının 60'ı (%59,4) klasik tip, 35'i (%34,6) folliküler varyant, 2'si (%1,98) onkositik varyant tanısı almıştı.
2. Diferansiye tiroid kanseri olgularında lenf bezi metastazı saptanan olgu sayısı 14 (%13,8) idi.
3. Diferansiye tiroid kanserli hastaların yaşlarının ileri olması ile hastalık evrelerinin ileri olması arasında korelasyon tespit edildi.
4. İnterlökin-8 gen polimorfizmleri ile diferansiye tiroid karsinomu gelişimi arasında korelasyon saptanmadı. Bununla birlikte IL-8 genotiplerinden TT polimorfizminin diferansiye tiroid karsinomu ile ilişkili lenf bezi metastazı gelişme olasılığı açısından daha riskli oldukları sonucuna varıldı.
5. Tümör evresi ve T skoru ile ilişkili olmadığı bulunsa da VEGF genotiplerinden TT polimorfizminin diferansiye tiroid karsinomlu gelişimi açısından koruyucu olabileceği fikrine varıldı.

ÖZET

Bu çalışmada iyi diferansiye tiroid kanserli hastalarda IL-8 ve VEGF gen polimorfizmlerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırılması amaçlandı. Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri kayıt edildi, laboratuvar değerleri ölçüldü ve IL-8 ve VEGF gen polimorfizmleri analiz edildi.

Tiroid kanserlerinin çoğunu iyi diferansiye papiller ve folliküler tiroid kanserleri oluşturur. Tiroid kanserinin oluşumunda genetik değişimler temel bir rol oynamaktadır. Tümör damarsız bir kitle olarak başlar ve daha sonra çevresinde daha önce bulunan damarlanma ağı ile temas kurar. Tümör büyüklüğü yaklaşık 2-3 mm'ye ulaştığında tümör kendine ait yeni bir damar ağına ihtiyaç duyar. Anjiyogenez malignite gelişim aşamalarının en önemlilerinden biridir ve tümör yayılımı için gereklidir. Tümör anjiyogenezinin en önemli uyarıcılarından biri VEGF'dir. IL-8 sitokini de tümör büyümesi, anjiyogenez ve metastazda kritik bir role sahiptir.

Diferansiye tiroid kanserli grubun yaş ortalaması kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha ileriydi. Diferansiye tiroid kanserlerinin kadınlarda daha fazla görüldüğü tespit edildi. Diferansiye tiroid kanserli hastaların yaşlarının ileri olması ile hastalık evrelerinin ileri olması arasında korelasyon tespit edildi. İnterlökin-8 gen polimorfizmleri ile diferansiye tiroid karsinomu gelişimi arasında korelasyon saptanmadı. Bununla birlikte IL-8 TT polimorfizminin DTK ile ilişkili lenf bezi metastazı gelişimini arttırdığı saptandı. Tümör evresi ve T skoru ile ilişkili olmadığı saptansa da VEGF genotiplerinden TT polimorfizminin diferansiye tiroid karsinomlu gelişimi açısından koruyucu olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Diferansiye tiroid kanseri, anjiyogenez, polimorfizm

COMPARING OF INTERLEUKIN-8 AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR GENE POLYMORPHISMS WITHIN DIFFERENTIATED THYROID CANCER AND HEALTHY CONTROL GROUPS

SUMMARY

In this study comparing of IL-8 and VEGF gene polymorphisms within patients with well differentiated thyroid cancers and healthy individuals was purposed. The demographic features were noted and laboratory parameters were measured and the gene polymorphisms of IL-8 and VEGF were analyzed.

Most of the thyroid cancers are well differentiated papillary and follicular thyroid cancers which are formed of follicular cells. Genetic changes play a major role in the formation of tumors. In the beginning the tumor is an avascular mass and then it communicates with the vascular web around it. When the tumor is approximately 2-3 mms it needs a new vascular web. Angiogenesis is one of the most important steps of tumor formation and angiogenesis is necessary for tumor extension. One of the most important stimulators of tumor angiogenesis is VEGF. IL-8 cytokine also plays a major role in angiogenesis and metastasis.

The average age of the differentiated thyroid cancer group were higher than the average age of the healthy control group. It was detected that differentiated thyroid cancers were more common in the women than man. Despite no correlation between interleukin-8 gene polymorphism and differentiated thyroid cancer formation, it was detected that IL-8

polymorphism increases lymph node metastasis. There was a correlation between the older age and higher grades of differentiated thyroid cancer patients. Although no correlation between VEGF genotypes and tumor grades and T scores were detected, TT polymorphisms of VEGF gene could be protective against differentiated thyroid cancer.

Keywords: Differentiated thyroid cancer, angiogenesis, polymorphism

KAYNAKLAR

1. Duman BB. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde Phosphatase and tensin homolog (PTEN), Phosphoinositide 3 kinase (PI3K), Mammalian target of rapamycin (MTOR), Kras Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi ve Klinik, Prognostik Önemi (tez). Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2011.
2. Gagel RF, Goepfert H, Gallewler DL. Changing concepts in the pathogenesis and management of thyroid cancer. CA Cancer J Clin 1996;46:261-83.
3. Carling T, Udelsman R. Thyroid tumors. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, (Eds.). Cancer: Principles and practice of oncology. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.p.1502-19.
4. Franssila KO. Follicular carcinoma. Semin Diag Pathol 1985;2(2):101-22.
5. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. Cancer 1998;83(12):2638-48.
6. Mazzaferri EL, Kloos RT. Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:1447-63.
7. Eichhorn W, Tabler H, Lippold R, Lochmann M, Schreckenberger M, Bartenstein P. Prognostic factors determining long-term survival in well-differentiated thyroid cancer: An analysis of four hundred eighty-four patients undergoing therapy and aftercare at the same institution. Thyroid 2003;13(10):949-58.
8. Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. Endocr Relat Cancer 2005;12:245-62.
9. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. Nat Rev Cancer 2003;3:401-10.
10. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. J Clin Oncol 2005;23:1011-27.

11. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:4368-80.
12. Ferrer FA, Miller LJ, Lindquist R, Kowalczyk P, Laudone VP, Albertsen PC et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors in human prostate cancer. *Urology* 1999;54:567-72.
13. Masood R, Cai J, Zheng T, Smith DL, Hinton DR, Gill PS. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an autocrine growth factor for VEGF receptor-positive human tumors. *Blood* 2001;98:1904-13.
14. Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, Koura AN, Bucana CD, Cleary KR et al. Vessel counts and expression of Vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch Surg* 1997;132: 541-6.
15. Lurje G, Zhang W, Schultheis AM, Yang D, Groshen S, Hendifar AE et al. Polymorphisms in VEGF and IL-8 predict tumor recurrence in stage III colon cancer. *Ann Oncol* 2008;19:1734-41.
16. Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J Immunol* 2003;170:3369-76.
17. Venkatakrishnan G, Salgia R, Groopman JE. Chemokine receptors CXCR-1/2 activate mitogen-activated protein kinase via the epidermal growth factor receptor in ovarian cancer cells. *J Biol Chem* 2000;275:6868-75.
18. Strieter RM, Burdick MD, Mestas J, Gomperts B, Keane MP, Belperio JA et al. Cancer CXC chemokine networks and tumour angiogenesis. *Eur J Cancer* 2006;42:768-78.
19. Gönç NE, Yordam N. Çocukluk ve adölesanda tiroid hastalıkları. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S (eds). *Pediatric Endocrinoloji*. Ankara; 2003.s.261-360.
20. Braverman LE, Utiger RD. Werner and Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text. Braverman LE, Utiger RD (eds). USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2000.p.3-51.
21. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, McGegor AM. Fetal thyroid function. *Thyroid* 1992;2:207-17.
22. Glinioer D, Delange F. The potential repercussions of maternal, fetal and neonatal hypothyroxinemia on the progeny. *Thyroid* 2000;10:871-87.
23. James SR, Franklyn JA, Kilby MD. Placental transport of thyroid hormone. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007;21:253-64.
24. Hung-Seng Wu J, Young MT, Clark OH. Tiroid Kanserlerine Genel Bakış. İşgör A (ed). *Tiroid hastalıkları ve Cerrahisi*. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık; 2000.s.367-72.
25. Baskan S, Koçak S. Papiller Tiroid Karsinomu. İşgör A (ed). *Tiroid hastalıkları ve Cerrahisi*. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık; 2000.s.383-426.

26. Tielens ET, Sherman SI, Hruban RH, Ladenson PW. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma. A clinicopathologic study. *Cancer* 1994;73:424-31.
27. Wells SA. Cancer of the Endocrine System. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds.: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2008.p.1655-82.
28. Collini P, Sampietro G, Rosai J, Pilotti S. Minimally invasive (encapsulated) follicular carcinoma of the thyroid gland is the low-risk counterpart of widely invasive follicular carcinoma but not of insular carcinoma. *Virchows Arch* 2003;442:71-6.
29. D'Avanzo A, Treseler P, Ituarte PH, Wong M, Streja L, Greenspan FS et al. Follicular thyroid carcinoma: histology and prognosis. *Cancer* 2004;100:1123-9.
30. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid* 2009;19:1159-65.
31. Mazzaferri EL. Thyroid cancer. In: Becker KL (Eds.). *Principles and practice of endocrinology and metabolism*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.p.40:382.
32. Nikiforov YE, Nikiforova M, Fagin JA. Prevalence of minisatellite and microsatellite instability in radiation-induced post-Chernobyl pediatric thyroid carcinomas. *Oncogene*. 1998;17(15):1983-8.
33. Enewold L, Zhu K, Ron E, Marrogi AJ, Stojadinovic A, Peoples GE et al. Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:784-91.
34. Galanti MR, Ekblom A, Grimelius L, Yuen J. Parental cancer and risk of papillary and follicular thyroid carcinoma. *Br J Cancer* 1997;75(3):451-6.
35. Indo Y, Mardy S, Tsuruta M, Karim MA, Matsuda I. Structure and organization of the human TRKA gene encoding a high affinity receptor for nerve growth factor. *Jpn J Hum Genet* 1997;42:343.
36. Jhiang SM, Sagartz JE, Tong Q, Parker-Thornburg J, Capen CC, Cho JY et al. Targeted expression of the ret/PTC1 oncogene induces papillary thyroid carcinomas. *Endocrinology* 1996;137:375-8.
37. Santoro M, Chiappetta G, Cerrato A, Salvatore D, Zhang L, Manzo G et al. Development of thyroid papillary carcinomas secondary to tissue-specific expression of the RET/PTC1 oncogene in transgenic mice. *Oncogene* 1996; 12:1821-6.
38. Bongarzone I, Vigneri P, Mariani L, Collini P, Pillotti S, Pierotti MA. RET/NTRK1 rearrangements in thyroid gland tumors of the papillary carcinoma family: correlation with clinicopathological features. *Clin Cancer Res* 1998;4:223-8.
39. Bounacer A, Wicker R, Caillou B, Cailleux AF, Sarasin A, Schlumberger M et al. High prevalence of activating ret proto-oncogene rearrangements in thyroid tumors from patients who had received external radiation. *Oncogene* 1997;15:1263-73.

40. Di Cristofano A, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell* 2000;100(4):387-90.
41. Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6373-9.
42. Vasko V, Hu S, Wu G, Xing JC, Larin A, Sachenko V et al. High prevalence and possible de novo formation of BRAF mutation in metastasized papillary thyroid cancer in lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5265-9.
43. Oler G, Ebina KN, Michaluart P Jr, Kimura ET, Cerutti J. Investigation of BRAF mutation in a series of papillary thyroid carcinoma and matched-lymph node metastasis reveals a new mutation in metastasis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62:509-11.
44. Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:7269-74.
45. Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, Chen CJ, Mueller E, Spiegelman BM et al. PAX8-PPARGgamma1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma. *Science* 2000;289:1357-60.
46. Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:1454-7.
47. Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, Williams ED, Goyns M, Stringer B et al. High frequency of ras oncogene activation in all stages of human thyroid tumorigenesis. *Oncogene* 1989;4:159-64.
48. Namba H, Rubin SA, Fagin JA. Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 1990;4:1474-9.
49. Suarez HG, du Villard JA, Severino M, Caillou B, Schulemberger M, Tubiana M et al. Presence of mutations in all three ras genes in human thyroid tumors. *Oncogene* 1990;5:565-70.
50. Karga H, Lee JK, Vickery AL Jr, Thor A, Randall D, Jameson JL et al. Ras oncogene mutations in benign and malignant thyroid neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:832-6.
51. Thompson NW. Differentiated thyroid carcinoma. In: *disease of the thyroid*. Ed: Wheeler MH, Lazarus JH Chapman and Hall, London. 1994;365-77.
52. Fogelfeld L, Wiviott MB, Shore-Freedman E, Blend M, Bekerman C, Pinsky S et al. Recurrence of thyroid nodules after surgical removal in patients irradiated in childhood for benign conditions. *N Engl J Med* 1989;320:835-40.
53. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med* 1994;97:418-28.

54. American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, Cooper DS, Doherty GM et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2009;19:1167-214.
55. Soh EY, Clark OH. Surgical considerations and approach to thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996;25:115-39.
56. Stojadinovic A, Ghossein RA, Hoos A, Urist MJ, Spiro RH, Shah JP et al. Hurthle cell carcinoma: a critical histopathologic appraisal. *J Clin Oncol* 2001;19:2616-25.
57. Spitzweg C, Harrington KJ, Pinke LA, Vile RG, Morris JC. Clinical review 132: The sodium iodide symporter and its potential role in cancer therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3327-35.
58. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. American Thyroid Association Guidelines Taskforce. *Thyroid* 2006;16(2):109-42.
59. Mazzaferri EL, Robbins RJ, Spencer CA, Braverman LE, Pacini F, Wartofsky L et al. A consensus report of the role of serum thyroglobulin as a monitoring method for low-risk patients with papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(4):1433-41.
60. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in primary and metastatic epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:541-7.
61. Bamberger ES, Perrett CW. Angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Mol Pathol* 2002;55:348-59.
62. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacology* 2004;68:1017-2.
63. Yamaguchi R, Yano H, Lemura A, Ogasawara S, Haramaki M, KOjiro M. Expression of vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998;28:68-77.
64. Monacci W, Merrill MJ, Oldfield EH. Expression of vascular permeability/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am j Physiol* 1993;264:995-1002.
65. Zachary I, Glik G. Signalling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res* 2001;49:568-81.
66. Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signaling and endothelial function. *JUBMB Life* 2001;52:61-6.
67. Shibuya M. Structure and dual function of vascular endothelial growth factor receptor-1(Flt-1). *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:409-20.
68. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-39.

69. Özbal Y. Sitokinler. Temel İmmünoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000.s.150-69.
70. Chen RH, Chen WC, Wang TY, Tsai CH. Lack of association between pro-inflammatory cytokine (IL6-8,TNF alpha) gene polymorphism and graves disease. İnt J İmmunogenet 2005;32(6):343-7.
71. Chen RH, Cheng CT, Chen WC, Tsai CH, Tsai FJ. Proinflammatory cytokine gene polymorphisms among hashimoto thyroiditis patients. J Clin Lab Anal 2006;20(6):260-5.
72. Chen K, Wei Y, Sharp GC, Braley-Mullen H. Decreasing TNF-alpha results in less fibrosis and earlier resolution of granulomatous experimental autoimmune thyroiditis. J Leukoc Biol 2007;81(1):306-14.
73. Şentürk T, Kozacı LD, Kadikoylu G, Balman L. Proinflammatory cytokine levels in hiperthyroidism Clin Invest Med 2003;26(2):58-63.
74. Stark GR, Wahl GM. Gene amplification. Ann Rev Biochem 1984;53:447-91.
75. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Koel CFB (Çeviri: E. Serap). Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2005.s.79-87.
76. Single-nucleotide polymorphism. From Wikipedia, The Free Encyclopedia [serial online]. http://en.wikipedia.org/wiki/Single-nucleotide_polymorphism. Erişim Tarihi:15.05.2012.
77. Colins FS, Guyer MS, Charkravarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. Science 1997;278(5343):1580-1.
78. Eleni Zygalaki, Alikı Stathopoulou, Christos Kroupis, Loukas Kaklamanis, Zenon Kyriakides, Dimitrios Kremastinos et al. Real-Time Reverse Transcription-PCR Quantification of Vascular Endothelial Growth Factor Splice Variants. Clin Chem 2005;vol. 51(8)1518-20.
79. Louise D, Gilbert W. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. JAMA 2006;295(18):2164-7.
80. Muro-Cacho CA, Ku NN. Tumors of the thyroid gland: histologic and cytologic features-part 1. Cancer Control 2000;7(3):276-87.
81. Burgess JR. Temporal trends for thyroid carcinoma in Australia: an increasing incidence of papillary thyroid carcinoma (1982-1997). Thyroid 2002;12(2):141-9.
82. Merhy J, Driscoll HK, Leidy JW, Chertow BS. Increasing incidence and characteristics of differentiated thyroid cancer in Huntington, West Virginia. Thyroid 2001;11(11):1063-9.
83. Elboğa U, Doğan N, Kalender E, Çelen YZ, Yılmaz M, Demir HD ve ark. Demographical analysis of the patients received radioiodine therapy for the differentiated thyroid carcinoma in our clinic. Gaziantep Med 2012;18(1):27-30.
84. Pal T, Vogl FD, Chappuis PO, Tsang R, Brierley J, Renard H et al. Increased risk for nonmedullary thyroid cancer in the first degree relatives of prevalent cases of

nonmedullary thyroid Cancer: A Hospital-Based Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(11):5307-12.

85. Anne McTiernan, Noel S. Weiss and Janet R. Daling. Incidence of thyroid cancer in women in relation to known or suspected risk factors for breast Cancer. *Cancer Res* 1987;47:292-5.
86. Hemminki K, Dong C. Familial relationships in thyroid cancer by histopathological type. *Int J Cancer* 2000;85:201-5.
87. Shah JP, Loree TR, Dharker D, Strong EW, Begg C, Vlamis V. Prognostic factors in differentiated carcinoma of the thyroid gland. *Am J Surg* 1992;164:658-61.
88. Rossi RL, Nieroda C, Cady B, Wool MS. Malignancies of the thyroid gland: The Lahey Clinic experience. *Surg Clin North Am* 1985;65:211-30.
89. Sanders LE, Cady B. Differentiated thyroid cancer: reexamination of risk groups and outcome of treatment. *Arch Surg*. 1998;133:419-25.
90. McConahey WM, Hay ID, Woolner LB, van Heerden JA, Taylor WF. Papillary thyroid cancer treated at the Mayo Clinic, 1946 through 1970: initial manifestations, pathologic findings, therapy, and outcome. *Mayo Clin Proc* 1986;61:978-96.
91. Cady B. Surgery of thyroid cancer. *World J Surg* 1981;5:3-12.
92. Harwood J, Clark OH, Dunphy JE. Significance of lymph node metastases in differentiated thyroid cancer. *Am J Surg* 1978;136:107-12.
93. Ozaki O, Ito K, Kobayashi K, Suzuki A, Manabe Y, Hosoda Y. Modified neck dissection for patients with non advanced, differentiated carcinoma of the thyroid. *World J Surg* 1988;12:825-9.
94. Noguchi M, Kumaki T, Taniya T, Miyazaki I. Bilateral cervical lymph node metastases in well-differentiated thyroid cancer. *Arch Surg* 1990;125:804-6.
95. Noguchi M, Kumaki T, Taniya T, Segawa M, Nakano T, Ohta N et al. Impact of neck dissection on survival in well-differentiated thyroid cancer: a multivariate analysis of 218 cases. *Int Surg* 1990;75:220-4.
96. Noguchi M, Yamada H, Ohta N, Ishida T, Taijiri K, Fuiji H et al. Regional lymph node metastases in well-differentiated thyroid carcinoma. *Int Surg* 1987;72:100-3.
97. Durante C, Haddy N, Baudin E, Leboulleux S, Harti D, Travagli JP et al. Long-term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary and follicular thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2892-9.
98. Georg FW, Scheumann MD, Oliver Gerd W, Hundeshagen MD, Henning Dralle MD. Prognostic significance and surgical management of locoregional lymph node metastases in papillary thyroid cancer. *World J Surg* 1994;18(4):559-67.

99. Vassiloupou-Sellin R, Klein MJ, Smith TH, Samaan NA, Frankenthaler RA, Goepfert H et al. Pulmonary metastases in children and young adults with differentiated thyroid cancer. *Cancer* 1993;71:1348-52.
100. McHenry CR, Rosen IB, Walfish PG. Prospective management of nodal metastases in differentiated thyroid cancer. *Am J Surg* 1991;162:353-6.
101. Shaha AR, Shah JP, Loree TR. Differentiated thyroid cancer presenting initially with distant metastasis. *Am J Surg* 1997;112:226-31.
102. Genden EM, Brett E. Contemporary management of thyroid carcinoma. *Cancer* 2009;7:7-20.
103. Schlumberger M, Challeton C, De Vathaire F, Travagli JP, Gardet P, Lumbrosso JD et al. Radioactive iodine treatment and external radiotherapy for lung and bone metastases from thyroid carcinoma *J Nucl Med* 1996;37:598-605.
104. Hay ID, Bergstralh EJ, Goellner JR, Ebersold JR, Grant CS. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. *Surgery* 1993;114:1050-7.
105. Bilimoria KY, Bentrem DJ, Clifford YK, Stewart AK, Winchester DP, Talamonti MS et al. Extent of surgery affects survival for papillary thyroid Cancer *Ann Surg* 2007;246(3):375-84.
106. Fonseca E, Soares P, Rossi S, Sobrinho-Simoes M. Prognostic factors in thyroid carcinomas. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1997;81:82-96.
107. Gilliland FD, Hunt WC, Morris DM, Key CR. Prognostic factors for thyroid carcinoma. A population-based study of 15,698 cases from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) program 1973–1991. *Cancer* 1997;79:564-73.
108. Sherman SI, Brierley JD, Sperling M, Ain KB, Bigos ST, Cooper DS et al. Prospective multicenter study of thyroid carcinoma treatment: initial analysis of staging and outcome. National Thyroid Cancer Treatment Cooperative Study Registry Group. *Cancer* 1998;83:1012-21.
109. LiVolsi VA, Fadda G, Baloch ZW. Prognostic factors in well-differentiated thyroid cancer. *Rays* 2000;25:163-75.
110. Xu X, Wang B, Ye C, Yao C, Lin Y, Huang X et al. Overexpression of macrophage migration inhibitory factor induces angiogenesis in human breast cancer. *Cancer Lett* 2008; 261:147-57.
111. Lurje G, Zhang W, Schultheis AM, Yang D, Groshen S, Hendifar AE et al. Polymorphisms in VEGF and IL-8 predict tumor recurrence in stage III colon cancer. *Ann Oncol* 2008;19:1734-41.
112. Krippel P, Langsenlehner U, Renner W, Yazdani-Biuki B, Wolf G, Wascher TC et al. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk. *Int J Cancer* 2003;106:468-71.

113. Lee SJ, Lee SY, Jeon HS, Park SH, Ang JS, Lee GY et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of primary lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:571-5.
114. Eroglu A, Gulec S, Kurtman C, Cam R, Akar N. Vascular endothelial growth factor 936 C/T polymorphism in cancer patients. *Ann Oncol* 2006;17:1467-8.
115. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pitesch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res* 2000;37(6):443-8.
116. Hull J, Thomson A, Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. *Thorax* 2000;55:1023-7.
117. Lee WP, Tai DI, Lan KH. The -251 T allele of the interleukin-8 promoter is associated with increased risk of gastric carcinoma featuring diffuse-type histopathology in Chinese population. *Clin Cancer Res* 2005;11:6431-41.
118. McCarron SL, Edwards S, Evans PR, Gibbs R, Dearnaley DP, Dowe A et al. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res* 2002;62:3369-72.
119. Snoussi K, Mahfoudh W, Bouaouina N, Ahmed SB, Noureddine HA, Chouchane L. Genetic variation in IL-8 associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma. *Hum Immunol* 2006;67:13-21.
120. Taguchi A, Ohmiya N, Shirai K, Mabuchi N, Itoh A, Niwa Y et al. Interleukin-8 promoter polymorphism increases the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2487-93.
121. Schultheis AM, Lurje G, Rhodes KE, Zhang W, Yang D, Garcia AA et al. Polymorphisms and clinical outcome in recurrent ovarian cancer treated with cyclophosphamide and bevacizumab. *Clin Cancer Res* 2008;14:7554-63.
122. Gordon MA, Gil J, Lu B, Zhang W, Yang D, Yun J et al. Genomic profiling associated with recurrence in patients with rectal cancer treated with chemoradiation. *Pharmacogenomics* 2006;7:67-88.
123. McCarron SL, Edwards S, Evans PR, Gibbs R, Dearnaley DP, Dowe A et al. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res* 2002;62:3369-72.
124. Moore BB, Arenberg DA, Stoy K, Morgan T, Addison CL, Morris SB et al.. Distinct CXC chemokines mediate tumorigenicity of prostate cancer cells. *Am J Pathol* 1999;154:1503-12.

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSSEL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU Edirne,Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TUBADK 2011/77				
	PROTOKOL ADI	İyi Diferansiyeli Tiroid Kanseri Hastalarında IL8 ve VEGF Gen Polimorfizmlerinin Sağlıklı Kontrol Gruplarıyla Karşılaştırılması				
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Sibel GÜLDİKEN				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ					
	DESTEKLEYİCİ					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez ☐ Ulusal	☐ Çok Merkez ☐ Uluslararası			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 08/ 01	Tarih: 06.04.2011				
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Sibel GÜLDİKEN'in sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. İlhan KILIÇ'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.					
DEĞERLENDİRME KOMİSYONU BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TUBADK Yönergesi						
ÜYELER						
Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Hakan KARADAĞ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Başkan Yardımcısı	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	Katılmadı
Doç. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Üye	Çocuk Sağ. ve Hast.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A. D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Biyoloji	T.Ü.T.F. Tıbbi Biyoloji A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Tunç KUTOĞLU Üye	Anatomi	T.Ü.T.F. Anatomi A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Erhan TABAKOĞLU Üye	Göğüs Hastalıkları	T.Ü.T.F. Göğüs Hastalıkları A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Figen KULOĞLU Üye	Enfeksiyon Hastalıkları	T.Ü.T.F. Enfeksiyon Hastalıkları A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Ömer Nuri PAMUK Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Yener YÖRÜK Üye	Göğüs Cerrahisi	T.Ü.T.F. Göğüs Cerrahisi A.D.	E	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	İzinli
Doç. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	T.Ü.T.F. K.B.B. Hast. A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Ümit Nusret BAŞARAN Üye	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐	
Avukat Gülden ATILLA ÖZTÜRK Üye		T.Ü. Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Murat DİKMENGİL
Dekan

Ek 2
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU¹

Bu form, yürütülmesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 06.04.2011 tarih ve 08/01 sayılı kararı ile onaylanan bilimsel bir araştırma konusunda sizi bilgilendirmek ve gönüllü katılımınızı sağlamak amacıyla düzenlenmiştir.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılmaya gönüllü olduğunuzda, sağlığınızın ve gönüllü olarak haklarınızın korunması ile gizliliğin sağlanması araştırmacıların ödevidir.

Araştırma, yalnızca uygun bilimsel eğitim ve niteliklere sahip araştırmacılar tarafından yürütülecektir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (AÇIK AD) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

Açık olmayan bir bölüm varsa, daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırma başladıktan sonra sorularınız olursa istediğiniz zaman bize başvurabilirsiniz.

Katılacağınız araştırma ile ilgili bilgiler aşağıdadır:

- 1. Araştırmanın bilimsel adı:** İYİ DİFERANSİYE TİROİD KANSERLİ HASTALARDA IL8 VE VEGF GEN POLİMORFİZMLERİNİN SAĞLIKLI KONTROL GRUPLARIYLA KARŞILAŞTIRILMASI **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Damarlanma ile ilişkili genlerin yapısal farklılıklarının iyi farklılaşmış tiroid kanserli hastalar ile sağlıklı kontroller üzerine olan etkisinin karşılaştırılması
- 2. Sorumlu Araştırmacının adı, unvanı ve görev yeri:** Araştırma Görevlisi Dr. İlhan Kılıç / İç Hastalıkları Anabilim Dalı
- 3. Araştırmanın konusu ve niteliği (ilaç, klinik, laboratuvar, epidemiyolojik - tez çalışması vb....):** Uzmanlık Tezi

¹ Formun her sayfasının altı, gönüllü (gerekirse vasisi-yasal temsilcisi ve tanık) tarafından imzalanacaktır.

- 4. Araştırmanın amacı:** Damar yapımı ile ilişkili bazı faktörlerin kanser yayılımında rolünün olabileceği gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda benzer değişimlerin tiroid kanserlerinde de etkili olabileceğinden bahsedilmektedir. Bu çalışma ile tiroid diferansiye karsinomlarında çeşitli gen polimorfizmlerinin hastalığın seyri üzerine olan etkilerini araştırmayı hedefledik.
- 5. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 01.05.2011-2 yıl
- 6. Araştırmaya katılan gönüllü sayısı:** 101 diferansiye tiroid kanserli ile 109 kontrol sağlıklı gönüllü
- 7. Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:**
- 8. Araştırmada uygulanacak yöntemler:**
Gönüllülerde alınan kan örnekleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi biyokimya ve biyofizik laboratuvarlarında çalışılacaktır.
- 9. Uygulama sırasında karşılaşılabileceğiniz riskler, rahatsızlıklar ve olası yan etkiler:** Bu araştırma ile ilgili olarak sizin kan vermek dışında sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Bu araştırmanın sizin için kan örneği vermek dışında bir riski yoktur.
- 10. Gönüllü için araştırmadan beklenen yarar:** Sizin için beklenen yararlar hastalığınızın seyrinin anlaşılması ve gerektiğinde tedavi değişikliğinin yapılmasına olanak sağlamasıdır.
- 11. Araştırma yöntemine alternatif olan tedavi ve girişimler:**
- 12. Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile araştırmaya katılan bir gönüllü olarak diğer hakları konusunda bilgi almak için bağlantı kurulacak kişinin adı-soyadı, ünvanı, görev yeri ve telefon numarası.** Araş. Gör. Dr. İlhan KILIÇ Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 05554544359
- 13. Araştırma bütçesi kimin tarafından karşılanıyor?**
Araştırmacının kendisi tarafından karşılanıyor.
- 14. (Varsa) Sigortalamaya ilişkin bilgiler:**
- 15. Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?**
Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırmamıza katıldığınız için teşekkür ederiz.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA OLURU

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu formun tamamının imzalı bir kopyası bana verildi.

Gönüllünün; (bu bölüm gönüllünün kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (bu bölüm veli/vasinin kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Gerekli durumlar için; (bu bölüm görüşme tanığının kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Görüşme Tanığının Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının (bu bölüm araştırmacının kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Ek 3