

Dişeti oluşu sıvısı ve proteomikler: Otoimmün tiroiditler ve tiroid kanserlerinde kullanılabilecek tanısal birer araç olabilir mi?

Gingival crevicular fluid and proteomics: could they be become diagnostic tools for autoimmune thyroiditis and thyroid carcinoma?

Faik Yaylak¹, Hasan Hatipoğlu²

¹Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, Kütahya

²Dumlupınar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi, Diş Hekimliği Birimi-Periodontoloji, Kütahya

Özet

Otoimmün tiroiditler ve tiroid kanserlerinin bilinmeyenlerini aydınlatmak için pek çok klinik ve laboratuvar çalışması devam etmektedir. Moleküler biyolojideki genomikler ve proteomikler ile ilgili teknoloji gibi güncel gelişmeler kullanıma girmiştir ve kanser gelişim mekanizmalarını açıklamak ve kanserin erken tanısında kullanıma ilişkin umut verici sonuçlar bildirilmektedir. Yine de bu çalışmaların çoğu, doku ve kan örnekleme gerektirmektedir. Tiroid dokusu örnekleme için dekalın iğne aspirasyonu ile yapılan çalışmalar bildirilmiştir. Fakat bu teknikler ile birlikte olan potansiyel komplikasyonların varlığı araştırmacıları daha az girişimsel olan örnekleme yöntemleri geliştirmeye zorlamaktadır. Dişeti oluşu sıvısı (DOS) bir kan ultrafiltratıdır. DOS'un girişimsel olmayan yöntemlerle elde edilmesi mümkündür. Ayrıca bu sıvıda sayısız biyo-işaretleyicinin elde edilebildiği ve ölçülebildiği bildirilmiştir. Her ne kadar bugün için otoimmün tiroiditler ve tiroid kanserleri için spesifik bir veri yoksa da DOS üzerinde yapılan çalışmaların ilk sonuçları bu materyelin tiroid bezi ile ilgili yeni bir araştırma alanı olma potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: tiroid, otoimmün tiroiditler, tiroid karsinomu, dişeti oluşu sıvısı

Tiroid bezi ve salgıladığı tiroid hormonları normal beyinsel ve somatik gelişim; aynı zamanda hem çocuklarda hem de yetişkinlerde fizyolojinin yeterli bir şekilde

Abstract

Several clinical and laboratory researches are ongoing to clarify the unknowns of autoimmune thyroiditis and thyroid cancer. New methods in molecular biology such as genomics and proteomics technology have been introduced and numerous promising data are now available for clarification of the mechanisms of cancer development and for early diagnosis of cancer. However, tissue and blood sampling is essential for these studies. The use of large bore needle aspiration to obtain thyroid tissue has also been reported. However, the potential complications of such techniques forces the investigators to develop less invasive sampling methods. Gingival crevicular fluid is an ultrafiltrate of blood. It is possible to obtain gingival crevicular fluid with non-invasive techniques. Several studies have shown that numerous biomarkers can be obtained from gingival crevicular fluid and that these can be measurable. Although currently there is no specific data on the use of gingival crevicular fluid for studies on autoimmune thyroiditis and thyroid cancer, the emerging results of gingival crevicular fluid studies suggest that it has a potential to be a new investigation area in thyroid diseases.

Keywords: thyroid, thyroid otummin, thyroid cancer, gingival crevicular fluid

düzenlenebilmesi için gereklidir¹. Tiroid fonksiyonlarının yeterince kontrol edilebilmesinde normal sınırlarda çalışabilen bir hipotalamus-hipofiz-tiroid (HPT) sisteminin

Yazışma Adresi | Correspondence: Dr. Faik Yaylak
Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, Merkez Kampüs,
43100 Kütahya Tel: 0274 265 20 31 e-posta: faikyaylak@lycos.com

Başvuru tarihi | Submitted on: 06.01.2011

Kabul tarihi | Accepted on: 19.03.2011

idame ettirebilmesi şarttır². Ancak bu şekilde karmaşık bir düzen ve kontrole sahip tiroid hormonu metabolizma, transport ve sinyalizasyon mekanizmaları sürdürülebilir. Bu nedenledir ki, tiroid bezi ve tiroid hormonlarını etkileyen sayısız çevresel ve genetik faktör üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır ve halen bu tür çalışmalar sürdürülmektedir. Bu faktörlerin son etkileri tiroid fonksiyonlarında artma ya da azalma şeklinde kendini gösterebileceği gibi tiroiditler ya da tiroid kanserleri şeklinde de karşımıza çıkabilir¹. Tiroidin fonksiyonel ve yapısal bozukluklarının önlenmesi ya da kesin tedavisi için bu faktörlerin ve etki mekanizmalarının anlaşılması birincil şartlardandır. Yapılan pek çok çalışmada endüstriyel gelişme ile birlikte kullanıma girmiş sayısız çevresel kimyasalın (özellikle gıda endüstrisinde kullanılanların) tiroid hormon dokusunu ve fonksiyonlarını, konvansiyonel laboratuvar çalışmaları ile saptayamadığımız mekanizmalar yoluyla etkileyebileceği gösterilmiştir¹. Bununla birlikte, böylesi çevresel etkenlerin ve bunların tiroid üzerinde yaptıkları değişikliklerin saptanması için yeni çalışma alanlarına ve geliştirilecek yeni yöntemlere gereksinim olduğu açıktır.

Proteomiklere yaklaşım ve teknoloji

“Omikler” (genomikler, proteinomikler, ribomikler, metabolomikler) alanındaki güncel gelişmeler yeni bir klinik ve laboratuvar çalışma alanı açılmasını sağlamıştır³. Proteomik, bir proteomun global analizini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Proteom ise spesifik bir biyolojik antite için belirli bir zamanda eksprese edilen bütün proteinlerin toplamıyla ortaya çıkan kompozisyonu tanımlamak için kullanılmaktadır⁴. Son yıllarda yapılan genomik ve transkriptomik çalışmalar ile karsinogenezin anlaşılması konusunda belirgin ivmeler kazanılmıştır. Özellikle tiroid alanında kullanımı önerilen proteomik çalışma teknolojileri olarak “two-dimensional gel electrophoresis”-2D-GE (iki boyutlu jel elektroforezi), “mass spectrometry” (kitlesel spektrometri), “surface-enhanced Laser Desorption/Ionization - SELDI-TOF (yüzey ile güçlendirilmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon) kullanılmaktadır^{5,6}. Ancak bu yazı, bu teknolojilere ilişkin ayrıntıları kapsamayacaktır. Proteomik yaklaşımda öncelikli olan temel ilke, klinik bir sorunun tanımlanmış olması ya da çok iyi tanımlanmış bir çalışma ve kontrol grubunun seçimidir. Bu tanımın niteliği, bir pilot çalışma ile test edilmelidir. Daha sonraki aşamada araştırılmakta olan klinik duruma özgü eksprese edilen proteinlerin keşfi ve tanımlanması yapılır. Bunu izleyen aşama geçerliliğin test edilmesi aşamasıdır. Bu aşamada daha geniş ve bağımsız örneklem kümeleri kullanılarak en yüksek öngörü (prediksiyon) değerine sahip işaretleyici belirlenir. Test edilen biyo-ışaretleyiciler ince iğne aspirasyon sitoloji örnekleri ve serumda in-

celenmelidir. Son aşama ise geçerliliği kanıtlanmış biyo-ışaretleyici için bir test aracı geliştirmektir⁵. Tam burada son yıllarda özellikle periodontal hastalıkların tanısı üzerine yoğunlaşmış çalışmalarda dişeti oluğu sıvısının (DOS) sistemik durum ya da bazı hastalıkların tanısı için kullanılabileceğine ilişkin erken veriler dikkat çekicidir. Megson ve ark. yaptıkları çalışma ile DOS’un içerdiği C-reaktif proteinin (CRP) kaynağının sistemik olduğunu göstermişler ve bu nedenle de bir periodontal enfeksiyon ya da başka bir bölgedeki inflamatuvar hastalıktan kaynaklanıyor olabileceğini öne sürmüşlerdir⁷. Fabian ve ark. ise tükrük genomiks, transkripomiks ve proteomiks çalışmaları üzerinde yaptıkları değerlendirmede bu konudaki çalışmaların oral ekosistem konsepti üzerinde durarak bu çalışmaların kanser ve diğer hastalıkların erken tanısında potansiyel bir tanı değerine sahip olduklarını ifade etmişlerdir⁸. Bu nedenle bu yazının yazarları olarak bu konunun tiroid alanında çalışmalar açısından takip edilmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz. Özellikle DOS’un girişim gerektirmeyen yöntemlerle elde edilebilmesi uygun bir laboratuvar inceleme materyali olduğuna işaret etmektedir.

Dişeti oluğu sıvısı tanımı ve olası tanısal değeri

Dişeti oluğu sıvısı, kendine has özellikleri nedeniyle son yıllarda özellikle periodontoloji alanında araştırmaların ilgi odağı olmuştur. “PubMed” veri tabanına anahtar deyim olarak “gingival crevicular fluid” şeklinde girilmesi ile Ocak 2011’de 2400’ü aşkın sonucun varlığı dikkat çekmiştir. Bu sonuç, bu sıvının önemini ortaya koymaktadır. Genel olarak DOS’un kan ultrafiltratı olarak meydana geldiği, ancak bulunduğu bölgenin kendine has yapısal özelliği nedeniyle dişeti oluğu bölgesindeki konak ve bakteri hücrelerinin bileşenlerinin ve metabolizma ürünlerinin bu sıvının yapısal özelliğine katkıda bulunduğu düşünülmektedir⁹. DOS’daki mevcut antikorlar, hem serum hem de dişeti oluğunda meydana gelen olaylardan etkilendiğinden DOS içerisindeki antikor düzeyleri sistemik yanıtın ve yerel dişeti yanıtının bir birleşimidir¹⁰. Dişeti oluğu sıvısının oluşumu farklı teoriler ile açıklanmaktadır^{11,12}. Sağlıklı dişetinde DOS miktarı azdır veya hiç bulunmayabilir¹³⁻¹⁵. Klinik bakımdan sağlıklı dişetinde DOS’un varlığı subklinik olarak dişetin iltihap göstergesi olarak kabul edilir¹⁶. Bu tez, histolojik çalışmalar ile desteklenmiştir^{17,18}. DOS’un hacmi-akışı periodontal hastalık (gingivitis-periodontitis) ile artış göstermektedir^{14,19-22}. DOS örnekleri mikro pipet (kapiller tüp) kullanılarak gingival yıkama ile veya son dönemlerde sık kullanım alanı bulan ticari olarak üretilmiş boyut ve emiciliği standart olan kâğıt şeritler ile elde edilebilmektedir^{14,16,23-27}. Hastalık-sıvı ilişkisinin incelendiği çalışmalarda hacimsel değerlendirmeler önemlidir. Daha önce de belirtildiği

gibi, sıvının periodontal hastalık sırasında artışı söz konusudur. Hacim özellikle konsantrasyon veri sunum modelinin kullanıldığı biyo-işaretleyiciler için büyük önem taşır. Kağıt şerit ile hacim değerlendirmesinde kağıt şeridin boyanması, kağıt şeritlerin tartılması veya elektriksel olarak ölçüm yapan "Periotron" cihazı ile hacmin saptanması gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır^{14,16,19,21,28-32}. Hangi yöntem kullanılacak olursa olsun, DOS örnekleme yöntemleri birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Örnekleme esnasında DOS elde edilmesini etkileyen başlıca faktörler; örnekleme yönteminin sulkus bölgesine travmatik etki yapması, örneklerle salya, kan ve mikrobiyal dental plağın bulaşması, hacim belirlenmesi esnasında periotron kullanıldığında cihazın kalibrasyonu ve alet kutuplarında örneklerden bulaşmış materyal varlığı ve sıcaklık, nem, buharlaşma gibi çevresel etmenler şeklinde sayılabilir^{14,16,20,29,33-38}. Basit gibi gözükse de DOS elde edilmesi ciddi anlamda bir metodolojik yaklaşım gerektirmektedir. Başta yapılabilecek olan küçük hataların katlanarak artış göstermesi ve sonuçları ciddi yönde etkilemesi söz konusu olabilmektedir.

Dişeti değişikliklerinin sistemik durum üzerindeki ya da sistemik hastalıkların dişeti üzerindeki etkileri son yıllarda diş hekimliğinde sıkça araştırılan bir konu olmuştur. Başlıca çalışma konusunu diyabet, hamilelik, kardiyovasküler-serebrovasküler hastalıklar, pulmoner hastalık ve romatoid artrit gibi sık karşılaşılan hastalıklar oluşturmuştur³⁹⁻⁴⁸. Bu çalışmalar periodontal bulgular ile sistemik tablo arasında önemli ilişkiler olduğunu göstermiştir.

Daha önceki pek çok çalışmada DOS'da birçok biyo-işaretleyici incelenmiştir. Loos ve Tjoa tarafından yapılmış bir derlemede DOS'da sadece periodontitis tablosunun tespitinde yararlı olabileceği düşünülen 100 çeşit biyo-işaretleyicinin varlığından söz edilmiştir⁴⁹. Bu biyo-işaretleyiciler ile ilgili çalışmalar değerlendirildiğinde, bunlardan interlökinler, hücre adezyon molekülleri, akut faz reaktanları ve C-reaktif protein (CRP) gibilerinin son zamanlarda üzerinde sıklıkla çalışılan biyo-işaretleyiciler olduğu görülmektedir. DOS örneklerinde CRP saptanmasının dişetindeki değişikliklerden bağımsız bir şekilde vücudun herhangi bir yerinde meydana gelen sistemik bir inflamasyona işaret edebileceği gösterilmiştir⁷. Bu sonuç, DOS içeriği ile ilgili çalışmaların sistemik pek çok durumun araştırılmasında düşünülebilecek yeni ve geniş bir çalışma alanı olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde diyabetli hastalarda özel tasarlanmış glukometre cihazı kullanılarak DOS'da ve kanda glukoz ölçümlerinin DOS glukoz seviyeleri ile kan glukoz seviyeleri arasında anlamlı bir ilişkiyi göstermiş olması çarpıcıdır⁵⁰. Burada sıralanan bu bilgilerden yola çıkılacak olursa DOS örnekleme ile majör bir girişime gerek duyulmadan otoimmün tiroiditlerinin ve belki de tiroid kanserlerinin de dahil ol-

duğu pek çok sistemik durumda kullanılabilir bir tanı ve takip aracı olup olamayacağı sorusu cevaplandırılmalıdır. Hali hazırdaki çalışmalar klinik uygulamada kullanım için yüksek kanıtlar sunmasa bile bu konuda daha fazla laboratuvar temelli araştırma yapılabileceği gözükmektedir. Bu nedenle tiroid ile ilgili çalışmalarda bu alanın da hatırlanmasının önemli olduğunu düşünüyoruz.

DOS'da sistemik hastalığın göstergesi olabilecek biyo-işaretleyiciler ile ilgili uygulamalarda aşağıda sayılı özellikler göz önünde tutulmalıdır:

Araştırılması düşünülen biyo-işaretleyiciler ağız ve dişetindeki lokal değişkenlerden ya hiç etkilenmemeli ya da minimal düzeyde etkilenmeli, incelenecek sistemik rahatsızlığa özgü olmalıdır. Elde edilecek DOS örneğinin dişetinin yerel cevabından etkilenmemesi açısından, ölçümlerin klinik olarak dişetinin sağlıklı olduğu bireylerden alınmasında yarar vardır. DOS'un özellikleri ve içinde barındırdığı biyo-işaretleyiciler göz önünde bulundurulduğunda bu sıvı üzerinde çalışma yapmayı düşünen tıp kökenli hekimlerin ilk DOS elde etme çalışmalarında bu konuda deneyimli kişilerden destek almaları yararlı olacaktır. Sistemik hastalığın göstergesi olarak kullanılmasına karar verilen biyo-işaretleyiciler yüksek duyarlılığa ve özgünlüğe sahip olmalı, diğer yöntemlere göre daha etkin ve maliyeti düşük olmalıdır. DOS örneği alınmasının girişimsel olmayan işlemlerle mümkün bir işlem olması bu konuda çalışacak araştırmacılara bir avantaj sağlamaktadır.

Tiroid bezini etkileyen çevresel faktörler

Çevresel faktörlerin insan vücudunu bölgesel ya da bir bütün olarak etkilediğini gösteren pek çok çalışma yayınlanmıştır. Bu nedenle çevresel kimyasallar üzerinde birbirinden bağımsız şekilde yapılan çalışmaların sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi gereklidir. Örneğin tiroidi etkilediğini bildiğimiz bazı çevresel kimyasal bileşiklerin tiroid üzerindeki etkilerine ek olarak periodontal hastalığa ve oral pigmentasyon değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir⁵¹. Dahası en son yapılan bir çalışmada üreme çağındaki kadınlarda ya da gebelerde kullanılan cıva içeren dental dolgu malzemelerinin prenatal dönemde bebeğin cıva ile karşılaşma olasılığını artırdığına ilişkin veriler bildirilmiştir⁵². Benzer sonuçlar tiroidi etkilediği gösterilen dioksinler ile yapılan ilk çalışmalar için de geçerlidir. Pek çok çevresel kimyasalın birer transplasental genotoksin olarak da etkili olabileceği düşünüldüğünde bu kimyasalların çevresel kontrolü, serum, doku ve doku sıvılarındaki varlığının saptanması önemlidir. Bundan sonraki aşamada bu kimyasalların tiroidin otoimmün ve neoplastik hastalıklarının oluşumundaki katkıları araştırılabilir. Masu-

da'nın yakınlarında yayınladığı bir çalışmada kimyasal kirlenme ile birden fazla doku ve organ sistemine ait değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada polikloro bifenillerin (PKB) ve polikloro dibenzofuranların (PKDF) hormon aracılı etkiler (hipertrigliseridemi, tiroksin düzey değişiklikleri), immünoglobülin bozuklukları, diş bozuklukları gibi birçok bulguya neden olabildikleri vurgulanmıştır^{53,54}. Aşırı miktarda alınan bizmut, kurşun, cıva ve gümüş gibi ağır metaller oral kavitede mukokütanöz pigmentasyonlara neden olmaktadır. Bu durum, bu ağır metallerin dokuda akümüle olma potansiyelleri ile ilişkilidir⁵⁵. Benzer şekilde bu makalenin yazarları olarak bizler de, bazı çevresel kimyasalların bazı dokularda selektif olarak akümüle olma potansiyelleriyle rutin serum tarama yöntemlerine ek olarak DOS ile yapılacak çalışmaların bu kimyasalların saptanması için alternatif bir deneysel ve klinik araştırma alanı olduğunu düşünmekteyiz.

Tiroidin otoimmün hastalıklarında DOS ve proteomikler

Tiroidin otoimmün hastalıkları en sık karşılaşılan otoimmün hastalıklardandır^{56,57}. Bu hastalıklar tiroidi hedef alan hücrel ve sıvısal immün yanıt sonucunda kronik otoimmün tiroidit ve Hashimoto tiroiditinde olduğu gibi tiroid hipoaktivitesi ya da otoimmün hipertiroidizm ve Graves hastalığında olduğu gibi tiroid hiperaktivitesi şeklinde karşımıza çıkabilir. Rapoport ve ark.^{58,59} tiroid otoimmünitesinin esas tiroid antijenleri olan tiroid peroksidaz ve tirotropin reseptörlerine yönelmiş spesifik yardımcı T hücrelerin aktivasyonu ile tetiklendiğini göstermişlerdir. Aktive olan yardımcı T hücreleri daha sonra tiroid peroksidaz antikorları ve tirotropin reseptör antikorları salgılamak üzere B hücrelerini uyarmaktadır^{59,60}. Moleküler benzerlik teorisine göre immün sistemdeki bu aktivasyonun enfeksiyon ajanları ile tetiklenen mekanizmalara benzerliği, Tozzoli ve ark. tarafından enfeksiyonların otoimmün tiroid hastalıklarının gelişiminde rolü olabileceği şeklinde çarpıcı bir hipotezin ortaya atılmasına sebep olmuştur⁵⁹. İnfluenza B, Hepatitis C, Enterobacteria, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Yersinia enterocolitica* ve *Helicobacter pylori* üzerinde yapılan laboratuvar çalışmaları bu ajanların tiroidin otoimmün hastalıklarının gelişimini uyabildiklerini ya da gelişimlerini hızlandırabildiklerini göstermiştir. Ancak klinik çalışmaların sonuçları öncelikli olarak jeografik dağılım farklılıklarından kaynaklandığı öngörülen tezatlarda içermektedir⁶¹.

Normal ağız mikroflorasında pek çok mikroorganizmanın olduğu farklı yöntemler kullanılarak gösterilmiştir. Örneğin gram pozitif koklardan olan *Streptococcus* türlerinin farklı suşlarının ağız florasında varlığı genom sekanslama çalışmaları ile de teyit edilmiştir. Burada de-

taylandırılmayacak olsa da farklı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknikleri, hibridizasyon teknikleri ile ağız mikro flora tayini için kullanılan moleküler teknikler geliştirilmiştir. Periodontitis ve gingivitis sık karşılaşılan sağlık problemlerindedir. Her ikisinin oluşumunda değişik mikrobiyolojik ajanlar suçlanmaktadır. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Peptostreptococcus micros*, *Selenomonas sputigena*, *Eubacterium* türleri ve spiroketler muhtemel periodontopatojenik bakterilerdendir¹⁵. Bu verilerden yola çıkarak otoimmün tiroiditlerin gelişiminde rol oynayabilecek pek çok farklı mikroorganizmanın oral kavite içinde barındığı düşünülmelidir. Bu yazının yazarları olarak, otoimmün tiroiditli hasta grupları üzerinde başlangıç olarak yapılacak epidemiyolojik çalışmaların, otoimmün tiroiditler ile ağız diş sağlığı ya da spesifik olarak periodontitis ve gingivitis arasında herhangi bir korelasyon olup olmadığını ortaya koymayı amaçlamasının uygun olacağını düşünmekteyiz. Bir sonraki aşamada ise bu konuda sorulabilecek daha spesifik soruların cevaplarını araştıran çalışmalar planlanabilecektir.

Tiroid kanserlerinde DOS ve proteomikler

Tiroidin diferansiye kanserleri en sık karşılaşılan endokrin maligniteler olarak bildirilmektedir⁶². Giderek insidansının arttığı bildirilen papiller tiroid karsinoma (PTK) tanısı için kullanılacak uygun ve girişimsel olmayan bir yöntemle saptanabilecek bir biyo-işaretleyiciye ihtiyaç vardır. PTK tanısının erken ve doğru olarak konabilmesi ve uygun tedavinin zamanında yapılması PTK hastalarının uzun dönem yaşam sürelerinin iyileştirilebilmesi için gereklidir. PTK tanısında ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme, sitolojik incelemeler ve ince iğne aspirasyonu sıklıkla kullanılmaktadır⁶³. Güncel bazı yayınlarda kalın iğne aspirasyonu ile elde edilen tiroid dokusunda yapılacak çalışmaların, ince iğne aspirasyonu ile yapılan incelemelerde karşılaşılabilen hücre morfolojisinin yetersiz değerlendirilmesi, standartların yetersizliği ve maliyet gibi olumsuzlukları bertaraf edebileceği savunulmaktadır. Bu çalışmalardan bir tanesinde genomik ve proteomikler için galaktin-3'ün umut verici bir biyo-işaretleyici olarak düşünülebileceği savunulmuştur⁶⁴. Ancak hali hazırda kabul edilmiş tek bir tarama yöntemi bulunmamaktadır. Tiroid karsinomu tanısında kullanılabilen biyo-işaretleyicilerin başlıcaları şunlardır: galaktin-3, fibronektin-1, CITED-1, HBME1, sitokeratin-19 ve TPO⁶⁵⁻⁶⁸.

Lumachi ve ark.⁶⁹ en son yayınladıkları derleme çalışmasında tiroid kanserlerinde sitokinlerin rolünü incelemiş ve özellikle tiroid kanser hücre serilerinde ekspres-

edilen interlökin-6 (IL-6), lösemi inhibe edici faktör (LIF) ve tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1) gibi sitokinlerin rediferansiyasyon terapileri için geliştirilecek ilaç çalışmalarında kullanılabileceğini vurgulamışlardır. Ancak bu çalışmalar kabul edilir seviyede spesifikite ve sensitiviteye sahip girişimsel olmayan yöntemle elde edilebilen ve tarama için kullanılabilecek bir biyo-işaretleyiciyi saptamada yetersiz kalmıştır.

Tiroid araştırmalarında çok yeni ve kısıtlı kullanım alanına sahip olsa da farklı teknolojiler ile sürdürülen proteomik çalışmaları da bu konudaki sorunları giderebilmek amacıyla devam etmektedir⁷⁰. Haptoglobülin alpha-1 zincirin PTK hastalarında belirgin olarak yükseldiğini ve bu olayın PTK gelişiminde kritik önem taşıdığını proteomik teknoloji (LC-MS/MS) kullanılarak ortaya koyan, yakın dönemde yürütülmüş çalışmalar mevcuttur^{63,71}. Over, prostat ve pankreas kanserleri üzerinde yapılan güncel çalışmalarda da haptoglobülin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir⁷²⁻⁷⁴.

Meme kanserli hastaların serumlarında ise haptoglobülin alfa zinciri seviyelerinin arttığı gösterilmiştir⁷⁵. Daha önceki çalışmalar yüksek hemoglobülin/demir oranlarına eşlik eden artmış haptoglobülin ekspresyonunun demir-türevli oksidatif stresi artırarak tümör gelişiminde rol oynadığını göstermiştir. Benzer şekilde yapılan çalışmalarda PTK hastalarında serum apolipoproteinlerden APO C-I ve APO C-III seviyelerinde düşme olduğu saptanmıştır^{63,77}.

Tükürük üzerinde yürütülen transkriptomiks ve proteomiks çalışmaları son yıllarda tükürüğün elde edilmesinin girişimsel olmaması, güvenli ve ucuz genetik bilgi sağlaması nedeniyle giderek popülerite kazanmıştır. Bu genetik bilgi tükürükteki DNA, RNA ve proteinler hakkında bilgi vermektedir. Yakın zamanlarda tükürükte genomiks ve proteomiks konularının pek çok yönü üzerinde çalışılmaktadır. Bazı derlemeler tükürüğün kanser tanısında, sistemik hastalık tanısında, proteom analizinde kullanımını vurgulamıştır⁸. Tükürük salgısı hem insan hem de oral mikrobiyotal genom kaynağıdır. Bu da bu salgının oral kavite ve bölge kanserlerinin erken tanısında kullanılabileceğini düşündürmektedir. Serumda ve diğer vücut sıvılarında malign tümörlerinin başlangıç ve ilerlemesini gösterecek tümör spesifik DNA işaretleyicileri vardır. Oral kanser hastalarının %62,5'inde P53 geninde mutasyona uğramış tükürük DNA'sı saptanmıştır⁷⁷. Baş-boyun kanserlerinde mitokondriyal DNA içeriğinin arttığı gösterilmiştir⁷⁸. Benzer şekilde serum m-RNA bazı kanser türlerinde iyi ve duyarlı bir saptama aracıdır⁷⁹. Bu nedenle serumda yapılan global m-RNA profili çalışmaları umut vericidir ancak girişimsel ve pahalı olması düşündürücüdür. Tükürük m-RNA çalışmalarının daha uygun olduğu bildirilmiştir⁸. Biz de girişimsel olmayan yöntemlerle elde edilen DOS'un tiroid kanserlerine yönelik çalışmalar için kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç

Normal gelişim ve büyüme için gerekli olan hormonların kaynağı olan tiroid bezi üzerinde etkili olan pek çok yeni çevresel ve genetik faktör saptandıkça konvansiyonel yöntemlere ek ya da alternatif çalışma alanlarına ihtiyaç ortaya çıkmaktadır. Ancak bu şekilde otoimmün tiroititler ve tiroid kanseri konularındaki bilinmeyenleri aydınlatabiliriz. Dişeti oluşu sıvısı ve ilgili çalışmalar hali hazırda kısıtlı olsa da farklı disiplinlerde üretilen bilgi ve tekniklerin tiroid araştırmalarında kullanılabiliğini test edebileceğimiz iyi bir çalışma konusu gibi durmaktadır.

Kaynaklar

1. Zoeller TR. Environmental chemicals targeting thyroid. *Hormones* 2010;9(1):28-40.
2. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH, Laurberg P. Narrow individual variations in serum T(4) and T(3) in normal subjects: A clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1068-1072.
3. Plebani M. Proteomics: the next revolution in laboratory medicine. *Clin Chim Acta* 2005;357:113-132.
4. Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, et al. From proteins to proteomes: large scale protein identification by twodimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Biotechnology (NY)* 1996;14:61-65.
5. Krause K, Jeßnitzner B, Fuhrer D. Proteomics in Thyroid Tumor Research. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2717-2724.
6. Luo J, Qian JH, Yu JK, Zheng S, Xie X, Lu WG. Discovery of altered protein profiles in epithelial ovarian carcinogenesis by SELDI mass spectrometry. *Eur J Gynaecol Oncol* 2008;29:233-238.
7. Megson E, Fitzsimmons T, Dharmapatri K, Mark Bartold P. C-reactive protein in gingival crevicular fluid may be indicative of systemic inflammation. *J Clin Periodontol* 2010;37(9):797-804.
8. Fabian TK, Fejerdy P, Csermely P. Salivary Genomics, Transcriptomics and Proteomics: The Emerging Concept of the Oral Ecosystem and their Use in the Early Diagnosis of cancer and other diseases. *Current Genomics* 2008;9:11-21.
9. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol* 2000 2003;31:43-54.
10. Ebersole JL, Taubman MA, Smith DJ, Goodson JM. Gingival crevicular fluid antibody to oral microorganisms. I. Method of collection and analysis of antibody. *J Periodontal Res* 1984;19:124-132.
11. Alfano J. The origin of gingival fluid. *J Theor Biol* 1974;47:127-136.
12. Pashley DH. A mechanistic analysis of gingival fluid production. *J Periodontal Res* 1976;11:121-134.
13. Pöllänen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol* 2000 2003;31:12-31.
14. Hatipoğlu H, Yamalık N, Berberoğlu A, Eratalay K. The impact of the distinct sampling area on volumetric features of gingival crevice fluid. *J Periodontol* 2007;78(4):705-715.
15. Wolf HF, Rateitschak E, Rateitschak KH, Mikrobiyoloji. In: *Periodontoloji, Dişhekimliğinin Renkli Atlası 1* (Çağlayan G, Hatipoğlu H, Çev.), Palme Yayıncılık, Ankara, 2007;pp.23-38.
16. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000 2003;31:32-42.
17. Attstrom R. Presence of leukocytes in crevices of healthy and chronically inflamed gingivae. *J Periodontal Res* 1970;5:42-47.
18. Rudin HJ, Overdiek HF, Rateitschak KH. Correlation between sulcus fluid rate and clinical and histological inflammation of the marginal gingiva. *Helv Odontol Acta* 1970;14:21-26.

19. Özkavaf A, Aras H, Huri CB, et al. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *J Oral Sci* 2000;42(4):231-238.
20. Griffiths GS, Sterne JAC, Wilton JMA, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *J Clin Periodontol* 1992;19:464-470.
21. Smith QT, Geeagan SJ. Repeated measurement of gingival crevicular fluid parameters at different sites. *J Clin Periodontol* 1991;18:171-176.
22. Hatipoğlu H, Yamalık N, Kılınc A, et al. The site-specific nature of the volumetric features and enzymatic profile of gingival crevicular fluid (GCF). Analysis of myeloperoxidase (MPO) activity at distinct sampling sites. *IJCD* 2008;1(1):7-26.
23. Egelberg J. Cellular elements in gingival pocket fluid. *Acta Odont Scand* 1963;21: 283-287.
24. Kaslick RS, Chasens AI, Weinstein D, Waldman R. Ultramicromethod for the collection of gingival fluid and quantitative analysis of its sodium content. *J Dent Res* 1968;47(6):1192.
25. Skapski H, Lehner T. A crevicular washing method for investigating immune components of crevicular fluid in man. *J Periodontol Res* 1976;11:19-24.
26. Challacombe SJ, Russell MW, Hawkes J. Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid. *Clin Exp Immunol* 1978;34(3):417-422.
27. Lindhe J, Attström R. Gingival exudation during the menstrual cycle. *J Periodontol Res* 1967;2:194-198.
28. Weinstein E, Mandel I, Salkind A, Oshrain HI, Pappas GD. Studies of gingival fluid. *Periodontics* 1967;5:161-166.
29. Cimasoni G. Crevicular fluid updated. *Monographs in Oral Science*. 2nd Ed., Karger, İsviçre, 1983; pp.1-121.
30. Özmeriç N, Bal B, Baloş K, Berker E, Bulut Ş. The correlation of gingival crevicular fluid interleukin-8 levels and periodontal status in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1998;69:1299-1304.
31. Griffiths GS, Moulson AM, Petrie A, James IT. Evaluation of osteocalcin and pyridinium crosslinks of bone collagen as marker of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic treatment. *J Clin Periodontol* 1998;25:492-498.
32. Tschuchida K, Hara K. Clinical significance of gingival fluid measurement by "Periotron". *J Periodontol* 1981;52(11):697-700.
33. Egelberg J, Attström R. Comparison between orifice and intracrevicular methods of sampling gingival fluid. *J Periodontol Res* 1973;8:384-388.
34. Özkavaf A, Aras H, Huri CB, et al. Analysis of factors that may affect the enzymatic profile of gingival crevicular fluid: Sampling technique, sequential sampling and mode of data presentation. *J Oral Sci* 2001;43(1):41-48.
35. Stoller NH, Karras DC, Johnson LR. Reliability of crevicular fluid measurements taken in the presence of supragingival plaque. *J Periodontol* 1990;61:670-673.
36. Tözüm TF, Hatipoğlu H, Yamalık N, et al. Critical steps in electronic volume quantification of gingival crevicular fluid: the potential impact of evaporation, fluid retention, local conditions and repeated measurements. *J Periodontol Res* 2004;39(5):344-357.
37. Deinzer R, Mossanen BS, Herforth A. Methodological considerations in the assessment of gingival crevicular fluid volume. *J Clin Periodontol* 2000;27:481-488.
38. Suppipat N, Suppipat N. Evaluation of an electronic device for gingival fluid quantitation. *J Periodontol* 1977;48:388-394.
39. Beikler T, Kuczek A, Petersilka G, Flemmig TF. In-dental-office screening for diabetes mellitus using gingival crevicular blood. *J Clin Periodontol* 2002;29(3):216-218.
40. Gursoy UK, Marakoglu I, Ersan S. Periodontal status and cytoplasmic enzyme activities in gingival crevicular fluid of type 2 diabetic and/or obese patients with chronic periodontitis. *J Int Acad Periodontol* 2006;8(1):2-5.
41. Sharma A, Ramesh A, Thomas B. Evaluation of plasma C-reactive protein levels in pregnant women with and without periodontal disease: A comparative study. *J Indian Soc Periodontol* 2009;13(3):145-149.
42. Holm-Pedersen P, Löe H. Flow of gingival exudate as related to menstruation and pregnancy. *J Periodontol Res* 1967;2:13-20.
43. Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, West MJ, Yamazaki K. Infection or inflammation: the link between periodontal and cardiovascular diseases. *Future Cardiol* 2009;5(1):5-9.
44. Jimenez M, Krall EA, Garcia RI, Vokonas PS, Dietrich T. Periodontitis and incidence of cerebrovascular disease in men. *Ann Neurol* 2009;66(4):505-512.
45. Deo V, Bhongade ML, Ansari S, Chavan RS. Periodontitis as a potential risk factor for chronic obstructive pulmonary disease: a retrospective study. *Indian J Dent Res* 2009;20(4):466-470.
46. Mojon P. Oral health and respiratory infection. *J Can Dent Assoc* 2002;68(6):340-345.
47. Ishi Ede P, Bertolo MB, Rossa C Jr, Kirkwood KL, Onofre MA. Periodontal condition in patients with rheumatoid arthritis. *Braz Oral Res* 2008;22(1):72-77.
48. Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM. Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol* 2001;72(6):779-787.
49. Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol* 2000 2005;39:53-72.
50. Yamaguchi M, Kambe, S, Yamazaki K, Kobayahi M. Error Grid Analysis of Noninvasive Glucose Monitoring Via Gingival Crevicular Fluid. *IEEE Trans Biomed Eng* 2005;52(10):1796-1798.
51. Hashiguchi I, Yoshimine Y, Maeda H, et al. An epidemiologic examination on the prevalence of the periodontal diseases and oral pigmentation in Yusho patients in 2008. *Fukuoka Igaku Zasshi* 2009;100(5):111-117.
52. Palkovicova L, Ursinyova M, Masanova V, Yu Z, Hertz-Picciotto I. Maternal amalgam dental fillings as the source of mercury exposure in developing fetus and newborn. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2008;18(3):326-331.
53. Masuda Y. Toxic effects of PCB/PCDF to human observed in Yushoo and other poisonings. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 2009;100(5):141-155.
54. Guo YL, Lambert GH, Hsu CC, Hsu MM. Yucheng: health effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Int Arch Occup Environ Health* 2004;77(3):153-158.
55. Langlais Robert P, Miller Craig S. Inta oral findings by color changes (IV), Pigmented Lesions. In: *Color Atlas of Common Oral Diseases*. Lea&Febiger, Philadelphia, ABD, 1992.pp 74.
56. Vanderpump MP, Turnbridge WN, French JM, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995;43:55-68.
57. Cooper GS, Stroehla BC. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2003;2:119-125.
58. Rapoport B, McLachlan SM. Thyroid autoimmunity. *J Clin Invest* 2001;108:1253-9.
59. Tozzoli R, Villalta D, Kodermaz G, Bagnasco M, Tonutti, E, Bizzaro N. Autoantibody profiling of patients with autoimmune thyroid disease using a new multiplexed immunoassay method. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:837-842.
60. McLachlan S, Rapoport B. Thyroid peroxidase as an autoantigen. *Thyroid* 2007;17:923-938.
61. Pordeus V, Barzilai O, Sherer Y, et al. A longitudinal gradient study of common anti-infectious agent antibody prevalence in Italy and Colombia. *Isr Med Assoc J* 2008;10:65-68.
62. Ronckers CM, McCarron P, Ron E. Thyroid cancer and mul-

- tipleprimary tumors in the SEER cancer registries. *Int J Cancer* 2005;117:281-288.
63. Fan Y, Shi L, Liu Q, et al. Discovery and identification of potential biomarkers of papillary thyroid Carcinoma. *Molecular Cancer* 2009;8:79.
 64. Carpi A, Mechanick JI, Saussez S, Nicolini A. J Thyroid tumor marker genomics and proteomics: diagnostic and clinical implications. *Cell Physiol* 2010;224(3):612-619.
 65. Saussez S, Glinoeir D, Chantrain G, et al. Serum galectin-1 and galectin-3 levels in benign and malignant nodular thyroid disease. *Thyroid* 2008;18:705-712.
 66. Asa SL. The role of immunohistochemical markers in the diagnosis of follicular-patterned lesions of the thyroid. *Endocr Pathol* 2005;16:295-309.
 67. Nygaard B, Frisch T, Kiss K. Thyroid papillary cancer using TPO staining. *Ugeskr Laeger* 2008;170:1571.
 68. Park YJ, Kwak SH, Kim DC, et al. Diagnostic value of galectin-3, HBME-1, cytokeratin 19, high molecular weight cytokeratin, cyclin D1 and p27(kip1) in the differential diagnosis of thyroid nodules. *J Korean Med Sci* 2007;22:621-628.
 69. Lumachi F, Basso SMM, Orlando R. Cytokines, thyroid diseases and thyroid cancer. *Cytokine* 2010;50:229-233.
 70. Maurya P, Meleady P, Dowling P, Clynes M. Proteomic approaches for serum biomarker discovery in cancer. *Anticancer Res* 2007;27:1247-1255.
 71. Wassell J. Haptoglobin: function and polymorphism. *Clin lab* 2000;46:547-552.
 72. Saldova R, Royle L, Radcliffe CM, et al. Ovarian cancer is associated with changes in glycosylation in both acute-phase proteins and IgG. *Glycobiology* 2007;17:1344-1356.
 73. Saito S, Murayama Y, Pan Y, et al. Haptoglobin-beta chain defined by monoclonal antibody RM2 as a novel serum marker for prostate cancer. *Int J Cancer* 2008; 123:633-640.
 74. Nakano M, Nakagawa T, Ito T, et al. Site-specific analysis of N-glycans on haptoglobin in sera of patients with pancreatic cancer: a novel approach for the development of tumor markers. *Int J Cancer* 2008;122:2301-2309.
 75. Huang HL, Stasyk T, Morandell S, et al. Biomarker discovery in breast cancer serum using 2-D differential gel electrophoresis/MALDI-TOF/TOF and data validation by routine clinical assays. *Electrophoresis* 2006;27:1641-1650.
 76. Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J Cell Mol Med* 2005;9:59-71.
 77. Liao PH, Chang YC, Huang MF, Tai KW, Chou MY. Mutation of p53 gene codon 63 in saliva as a molecular marker for oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2000;36:272-276.
 78. Jiang WW, Masayeva B, Zahurak M, et al. Increased mitochondrial DNA content in saliva associated with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:2486-2491.
 79. Li Y, Elashoff D, Oh M, et al. Serum circulating human mRNA profiling and its utility for oral cancer detection. *J Clin Oncol* 2006;24:1754-1760.