

TC  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**PAPİLLER TİROİD KANSERİ HASTALARINDA BRAF, NRAS,  
TERT PROMOTER MUTASYON SIKLIĞI VE  
MUTASYONLARIN KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER VE  
UZAK METASTAZ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Ezgi YILMAZ**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA  
2021**



TC  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**PAPİLLER TİROİD KANSERİ HASTALARINDA BRAF, NRAS,  
TERT PROMOTER MUTASYON SIKLIĞI VE  
MUTASYONLARIN KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER VE  
UZAK METASTAZ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Ezgi YILMAZ**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Ömer Alper GÜRLEK**

**ANKARA  
2021**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, engin bilgi birikimi ve disiplinli çalışması ile örnek aldığım, çalışmalarına yardımcı olan çok değerli tez danışmanım, hocam Prof. Dr. Ömer Alper GÜRLEK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmama verdikleri katkı ve destekleri için Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yeşim Gaye GÜLER TEZEL ve Uzm. Dr. Olcay KURTULAN'a ve tüm ekibe teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın istatistiksel analiz kısmında yardımsever ve hoşgörülü tutumlarıyla çalışmama katkıda bulunan Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Jale KARAKAYA'ya çok teşekkür ederim.

Çalışmamın hastaların belirlenmesi kısmında zamanını ayırarak çalışmama katkıda bulunan, çalışmam sırasında manevi desteğini esirgemeyen Nükleer Tıp Anabilim Dalı'dan Uzm. Dr. Tuğçe TELLİ'ye çok teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında desteğini esirgemeyen, hedeflerime ve hayallerime ulaşmam için beni cesaretlendiren annem Nadide YILMAZ ve babam Vahdet YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

**Dr. Ezgi Yılmaz**  
**Ankara, 2021**

## ÖZET

**Yılmaz, E., Papiller tiroid kanserli hastalarda *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT* promoter, *NRAS* mutasyonlarının sıklığı ve mutasyonların klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz ile ilişkisinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara, 2021.**

Papiller tiroid kanseri patogenezinde çeşitli moleküler mekanizmalar rol oynamaktadır. Uzak metastaz PTK'de nadir gözlenen bir durum olup kötü sonuçlar ile ilişkilidir. PTK'de klinik sonuçların geliştirilmesi için altta yatan patogeneze ve genetik değişikliklerin anlaşılmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmada papiller tiroid kanserli hastalarda *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT* promoter ve *NRAS* mutasyonlarının sıklığı ve mutasyonların klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz arasındaki ilişkisini, mutasyonların prognostik ve prediktif değerinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Hastanesinde takipli 2004-2021 yılları arasında Patoloji Anabilim Dalı'nda arşivlenmiş 18 yaşın üzerinde 16 uzak metastaz olan ve 26 uzak metastaz olmayan toplam 42 PTK hastasının paraffin kaplı tümör dokularından PCR ve direkt sekanslama yöntemiyle mutasyonlar saptandı ve klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi belirlendi. İstatistiksel analizlerde Pearson, ki kare ve Mann Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 olan değer istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışmada *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu sıklığı tüm grupta %64.3 (27/42) olarak saptandı. *BRAF* pozitifliği, uzak metastazı olanların %22.2'sinde (6/15), olmayanların ise %77.8'inde (21/25) mevcuttu (p=0.006). *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu ile tanı anındaki yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik varyant, ekstriroidal invazyon, multifokalite, lenfovasküler invazyon, kapsül invazyonu, lenf nodu metastazı, nüks, uzak metastaz arasında anlamlı fark saptanmadı. *TERT* promoter mutasyonu sıklığı tüm kohortta %9,5 (4/42) olarak bulundu. Bu mutasyonların hepsi C228T pozisyonundaki mutasyonlar idi. *TERT* promoter mutasyonu ile tanı anındaki yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik varyant, ekstriroidal invazyon, multifokalite, lenfovasküler invazyon, kapsül invazyonu, lenf nodu metastazı, nüks, uzak metastaz arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Çalışmada hiçbir PTK vakasında *NRAS* mutasyonu saptanmadı (0/42). *BRAF*<sup>V600E</sup> ve *TERT* promoter mutasyonlarının ikisini birden bulduran ve her ikisinden birini bulduran vakalarda klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz için istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Sonuç olarak *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu kohortumuzdaki PTK vakalarında yüksek prevalansta bulundu. Sonuçlarımız PTK'de *BRAF*<sup>V600E</sup> ve *TERT* promoter ya da her iki mutasyonun birlikteliğinin prognostik ya da uzak metastaz için prediktif olmadığı yönündedir.

**Anahtar Kelimeler: Papiller Tiroid Kanseri, Uzak Metastaz, *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT* Promoter, *NRAS*.**

## ABSTRACT

**Yılmaz. E., The frequency of *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT* promoter, *NRAS* mutations in patients with papillary thyroid cancer and the relationship of these mutations with clinicopathological features and distant metastasis, Hacettepe University Faculty of Medicine, Medical Specialty, Thesis in Internal Medicine. Ankara, 2021.**

Various molecular mechanisms play a role in the pathogenesis of papillary thyroid cancer (PTC). Distant metastasis is a rare condition in PTC and is associated with a poor outcome. Understanding the underlying pathogenesis and molecular changes is needed to improve clinical outcomes in PTC. In this study, we aimed to determine the frequency of *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT* Promoter and *NRAS* mutations in patients with papillary thyroid cancer, and the relationship of mutations with clinicopathological features and distant metastasis. Mutations were detected by PCR and direct sequencing method from the paraffin-embedded tumor tissues of 42 PTC patients (16 with distant metastasis and 42 without) over 18 years of age who were followed up in Hacettepe University Hospital and archived in the Department of Pathology between 2004-2021. Pearson's, chi-square and Mann-Whitney U tests were used for statistical analysis. A P value <0.05 was considered statistically significant. The frequency of *BRAF*<sup>V600E</sup> mutation was found to be 64.3%(27/42) in the total group. *BRAF* positivity was found in 22.2% (6/15) of patients with distant metastasis, and %77.8% (21/25) in those without distant metastasis (p=0.006). There was no statistically significant difference between *BRAF*<sup>V600E</sup> mutation and age at diagnosis, gender, tumor size, aggressive histological variant, extrathyroidal invasion, multifocality, lymphovascular invasion, capsule invasion, lymph node metastasis, recurrence and distant metastasis. The frequency of *TERT* promoter mutation was found to be 9.5%(4/42). These mutations were all at position C228T. No statistically significant difference between *TERT* promoter mutation and age at diagnosis, gender, tumor size, aggressive histological variant, extrathyroidal invasion, multifocality, lymphovascular invasion, capsule invasion, lymph node metastasis, recurrence and distant metastasis. No *NRAS* mutation was detected in any of the PTC cases in the study (0/42). There was no statistically significant difference for clinicopathological features and distant metastasis in cases with *BRAF*<sup>V600E</sup> and *TERT* promoter mutations and in cases with both. In conclusion, *BRAF*<sup>V600E</sup> mutation was found to be frequent in our PTC cases. Our results indicate that *BRAF*<sup>V600E</sup> and *TERT* promoter mutations, either in isolation or together, do not seem to be prognostic or predictive for distant metastasis in PTC.

**Key Words: Papillary Thyroid Cancer, Distant Metastasis, *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT* Promoter, *NRAS***

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tiroid Kanseri Genel Bilgiler	4
2.1.1. Epidemiyoloji	4
2.1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri	5
2.1.3. Tiroid Kanseri Sınıflandırması	6
2.2. Tiroid Kanseri Moleküler Patogenezi	7
2.2.1. Tiroid Kanserinde Sinyal Yollarındaki Değişiklikler	10
2.2.2. Tiroid Kanseri Patogenezinde Onkogenler ve Kromozomal Yeniden Düzenlenmeler	15
2.3. Tanı	25
2.4. DTK'de Risk Değerlendirmesi, Skorlama Sistemleri, Preoperatif Değerlendirme	31
2.5. TNM Sınıflaması ve Evreleme	32
2.6. Papiller Tiroid Kanseri Risk Sınıflandırması	34
2.7. Papiller Tiroid Kanserinde Prognostik Faktörler	35
2.7.1. Yaş	35
2.7.2. Cinsiyet	35
2.7.3. Tümör Boyutu	35
2.7.4. Ekstratiroidal Yayılım	35
2.7.5. Lenf Nodu Metastazı	36
2.7.6. Uzak Metastaz	36

2.7.7. Histolojik Alt Tip	36
2.7.8. Multifokalite	37
2.7.9. Moleküler Özellikler	37
2.8. Tedavi	38
2.8.1. Cerrahi Tedavi	38
2.8.2. Radyoaktif İyot (RAİ) Tedavisi	41
2.8.3. Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi	41
3. BİREYLER VE YÖNTEM	45
3.1. Hastaların Belirlenmesi ve Hastalara ait Doku Örnekleri	45
3.2. Çalışma Protokolü	45
3.2.1. Paraffin Bloktan DNA Ekstraksiyonu	45
3.2.2. Paraffin Bloktan RNA Ekstraksiyonu	46
3.2.3. Mutasyon Analizi	47
3.3. İstatistiksel Analiz	47
3.4. Araştırmanın Etik Yönü	47
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR	64
7. KAYNAKÇA	66



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>%</b>	Yüzde
<b>(PPAR<math>\gamma</math>)</b>	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör
<b>ADTK</b>	Az Differansiye Tiroid Kanseri
<b>AJCC</b>	American Joint Committee of Cancer
<b>Anti -Tg</b>	Anti-tiroglobulin
<b>ATK</b>	Anaplastik Tiroid Kanseri
<b><i>BRAF</i></b>	B-rapidly accelerated fibrosarcoma
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>DTK</b>	Differansiye Tiroid Kanseri
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Faktör Reseptör
<b>ERK</b>	Ekstrasellüler Sinyal İlişkili Kinaz
<b>FDG PET</b>	Florodeoksiglukoz Pozitron Emisyon Tomografi
<b>FDG-PET</b>	Fluoro Deoksi Glukoz Pozitron Emisyon Tomografi
<b>FTK</b>	Foliküler Tiroid Karsinomu
<b>FVPTC</b>	Foliküler Varyant Papiller Tiroid Kanseri
<b>HHK</b>	Hurthle Hücreli Karsinom
<b>İİAB</b>	İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
<b>MAPK</b>	Mitojen Aktive Protein Kinaz
<b>MEN</b>	Multiple Endokrin Neoplazi
<b>MRG</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>MTK</b>	Medüller Tiroid Karsinomu
<b>PDGFR</b>	Platelet Kökenli Growth Faktör Reseptör
<b>PDTC</b>	Az Differansiye Tiroid Kanseri
<b>PI3K</b>	Fosfotidil Inozitol-3 Kinaz
<b>PPFP</b>	PAX8/PPAR Füzyon Protein
<b>PTK</b>	Papiller Tiroid Kanseri
<b>RAİ</b>	Radyoaktif İyot
<b>RTK</b>	Reseptör Tirozin Kinaz

<b>SNPs</b>	Single Nucleotide Polymorphisms
<b>TCGA</b>	The Cancer Genom Atlas
<b>TERT</b>	Telomerase Reverse Transkriptse
<b>Tg</b>	Tiroglobulin
<b>TRK</b>	Tropomyozin Reseptör Kinaz
<b>TSH</b>	Tiroid Stimülan Hormon
<b>TSH</b>	Tiroid Stimülan Hormon
<b>TSP1</b>	Trombospondin1
<b>USG</b>	Ultrasonografi
<b>VEGFR</b>	Vasküler Endotel Growth Faktör Reseptör

## ŞEKİLLER

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Tiroid Karsinogenezinde Çok Adımlı Teori	8
Şekil 2.2. Tiroid karsinogenezinde Tümör Kök Hücre Teorisi	8
Şekil 2.3. Tiroid Kanserinde MAPK ve PI3K Sinyal Yolakları	9
Şekil 2.4. Tiroid Kanserinde MAPK ve İlişkili Sinyal Yolları	12
Şekil 2.5. PI3K/AKT Sinyal Yolağı	14
Şekil 2.6. Papiller Tiroid Kanseri Moleküler Sınıflandırılması (TCGA Çalışması)	17
Şekil 2.7. PTK TİİAB/Sitoloji özellikleri	30
Şekil 2.8. PTK Işık mikroskobunda Psammom cisimi görünümü(A), elektron mikroskobunda psammom cisimi görünümü (B)	30
Şekil 2.9. PTK (A)Papilla yapıları (B)üst üste binmiş, çentikli ,cam nükleus ve inklüzyon cisimleri	31
Şekil 4.1. BRAF <sup>V600E</sup> Mutasyonu Sıklığı ve Uzak Metastaz İlişkisi	52
Şekil 4.2. TERT Promoter Mutasyonu Sıklığı ve Uzak Metastaz İlişkisi	52

## TABLOLAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Tiroid Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırılması (DSÖ)	6
Tablo 2.2. Tiroid Nodüllerinin Ultrasonografik Karakterlerine Göre Malignite Belirteçleri	26
Tablo 2.3. Tiroid Nodüllerinde sonografik özellikler, malignite riski, TİİAB önerileri	27
Tablo 2.4. Bethesda Sistemi (Tiroid Sitopatoloji Raporlama Sistemi)	28
Tablo 2.5. AJCC UICC 8. Baskı Diferansiye ve Anaplastik Tiroid Karsinomlarının Sınıflaması ve Evrelemesi	33
Tablo 2.6. PTK ATA Risk Sınıflaması	34
Tablo 2.7. ATA 2009 Tedavi Sonrası Risk Değerlendirmesi	40
Tablo 2.8. TTx Yapılmış ve RAI Almış DTK'li Hastalarda Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi	43
Tablo 2.9. TTx Yapılmış ve RAI Ablasyon Tedavisi Yapılmamış ya da Lobektomi Yapılmış DTK'li Hastalarda Tedavi Cevabı Değerlendirmesi	44
Tablo 4.1. Tüm PTK Vakalarının Demografik ve Klinikopatolojik Özellikleri (n=42)	49
Tablo 4.2. Uzak Metastaz Olan ve Olmayan PTK Vakalarının Klinikopatolojik Özellikleri	50
Tablo 4.3. <i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> ve <i>TERT Promoter</i> Mutasyon Ve Uzak Metastaz ile ilişkisi	51
Tablo 4.4. <i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> Mutasyonu ile Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki	53
Tablo 4.5. <i>TERT Promoter</i> Mutasyonu ile Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki	55
Tablo 4.6. <i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> ve <i>TERT Promoter</i> mutasyonları birlikte bulunan ; <i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> veya <i>TERT Promoter</i> mutasyonlarından biri bulunan vakaların klinikopatolojik özellikleri	56

## 1. GİRİŞ

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin sistem malignitesidir. Tiroid kanseri yeni tanı almış kanser vakalarının %1'ini oluşturmaktadır (1, 2). Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre 2017 yılında 56,780 yeni tiroid vakası saptanmıştır. 1990 yılının ortasına kadar tiroid kanseri insidansı 5/100,000 vaka olarak stabil seyretmekteydi. 1990'lardan bu yana tiroid kanseri insidansı giderek artış göstermiştir. Bunun sebebi olarak düşük riskli, ölümcül olmayan, tesadüfen saptanan ve subklinik seyreden vakaların görüntüleme yöntemlerinin çok kullanılmaya başlamasıyla sık tanı almaya başlamasıdır (*overdiagnose*) (3). Tiroid kanseri kanserden ölümlerin %0,2' sini oluşturmaktadır. Bu kanserlerin büyük çoğunluğu papiller tiptedir. Papiller tiroid kanseri (PTK) iyottan fakir ya da zengin diyetle beslenen ülkelerde tiroid bezinin en sık görülen malign tümörüdür ve tüm tiroid malignitelerinin %80-85 'ini oluşturmaktadır. PTK biyolojik olarak yavaş seyirli olma eğilimindedir ve mükemmel prognoza sahiptir (yaşam beklentisi > %95). Çoğu hasta 30-50 yaş arasında tanı almaktadır. Kadınlar erkeklerden daha sık etkilenmektedir (Oran 2:1-4:1). Etyolojide ilişkisi gösterilmiş en önemli faktör radyasyon maruziyetidir (4).

PTK genellikle bölgesel lenf nodlarına metastaz yapmaktadır (%20-50) ve bu durum genellikle iyi prognozlidir. Yapılan bir çalışmada yaş ve uzak metastazın en önemli prognostik belirteç olduğu gösterilmiştir (5). Uzak metastaz PTK'da sık görülen bir durum değildir ve artmış mortalite ile ilişkilidir. Uzak metastaz PTK vakalarının %2-5'inde görülür. Amerikan Tiroid Derneği son kılavuzlarına göre uzak metastaz yüksek risk kriterlerinden birisidir. Birkaç klinikopatolojik özellik örneğin; yaş, büyük tümör boyutu, vasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım uzak metastaz için risk faktörü olarak gösterilmiştir. Ayrıca bazı moleküler özelliklerin PTK için kötü prognoz ve agresif davranışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (6). Uzak metastaz gelişen PTK vakalarında hastalığa özgü ölüm oranı %70 tir ve papiller tiroid mikrokarsinomlarda metastaz gelişmesi durumunda ölüm oranı %33 olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla, uzak metastaz PTK vakalarında en önemli prognostik faktörlerden birisidir. Amerikan Tiroid Derneği kılavuzlarına göre uzak metastaz saptanan PTK vakaları daha agresif tedavi edilmelidir (örneğin total tiroidektomi,

geniş lenf nodu diseksiyonu, radyoaktif iyot tedavisi ve daha agresif TSH supresyon tedavisi).

Tiroid kanseri başlangıcı ve progresyonunda multiple genetik ve epigenetik değişiklikler ile *MAPK* ve *PI3K-AKT* sinyal yollarını aktive eden mutasyonların ilişkisi gösterilmiştir. Tiroid kanserinde en sık görülen mutasyonlar *BRAF* ve *RAS* gen nokta mutasyonları ile *RET/PTC* ve *PAX8/PPAR $\gamma$*  kromozomal değişiklikleridir. Somatik mutasyonlar ve moleküler değişikliklerin tiroid kanserinde prognostik ve diagnostik belirteç olarak kullanılabilirliği son yıllarda önemli bir çalışma alanıdır (7). Çeşitli moleküler genetik değişiklikler PTK progresyonunu daha iyi anlamak için çalışılmıştır. PTK sıklıkla mitojen aktive protein kinaz (MAPK) kaskadı aktivasyonu yapan *RET* kromozom yeniden düzenlenmesi, ya da *RAS* ve *BRAF* proto-onkogen nokta mutasyonları ile karakterizedir. *BRAF*, *RAS* ya da *RET* gen mutasyonları PTK'da %70 sıklıkta bulunmaktadır (8). Tiroid kanserinde gen değişiklikleri ya da protein ekspresyonu araştırılması, dissemine hastalık için riskli grupların saptanması ile erken ve agresif tedaviyi sağlayacak ve yaşam süresini olumlu yönde etkileyecektir (9).

*BRAF<sup>V600E</sup>* PTK'da en sık saptanan mutasyondur. Sıklığı çeşitli etnik gruplarla yapılan çalışmalarda değişiklik göstermekle birlikte PTK vakalarında %36-%83 (10), tüm tiroid kanseri vakalarında %80-90 olarak bulunmuştur (11). PTK seyrinde *BRAF* mutasyonu ile klinikopatolojik özellikler, rekürrens, uzak metastaz arasındaki ilişkiler son yıllarda önemli bir araştırma konusudur. Çeşitli çalışmalar *BRAF* mutasyonu varlığının agresif tümör davranışı ve kötü klinikopatolojik özellikler ile ilişkili olduğunu gösterirken, bazı çalışmalarda ise ileri yaş dışında diğer klinik özellikler ve rekürrens ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (12). *BRAF* mutasyonu varlığı ve uzak metastaz arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmış olup, literatürde bu konuyla ilgili sonuçlar arasında kesin bir fikir birliği yoktur. Bazı çalışmalarda *BRAF* mutasyonu ile uzak metastaz arasında ilişki olmadığı, hatta uzak metastaz yapmayan PTK vakalarında *BRAF* mutasyon sıklığının daha fazla olduğu gösterilmiştir (13). *RAS* onkogen mutasyonunun PTK vakalarında klinik önemi tam olarak net olmamakla birlikte *N-RAS* mutasyonunun agresif seyretmesinde bağımsız bir risk faktörü olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (14). Çeşitli çalışmalarda *TERT promoter (TERTp)* mutasyon varlığı PTK

vakalarında gösterilmiştir. Ancak *TERT promoter* mutasyonunun PTK vakalarında tanınal ve prognostik değeri net değildir. *TERT promoter* mutasyonu varlığının agresif klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz ile ilişkisini gösteren çalışmalar olsa da bu konuyla ilgili hala yeterli veri yoktur (15).

Son yıllarda tiroid kanseri patogenezi ve genetik profilinin anlaşılmasına yönelik çalışmalarda gelişme kaydedilmiştir. Birkaç genetik olayın PTK vakalarında agresif tümör davranışı ve kötü sonuçlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak yeni tedavi yöntemleri ve stratejilerinin geliştirilmesi için PTK vakalarında uzak metastaz varlığını saptayan güvenilir prediktif moleküler belirteçlerin saptanmasına ihtiyaç vardır ve bu konuyla ilgili veriler yetersizdir. Agresif seyredecek tümörlerin ve PTK vakalarında en önemli kötü prognostik gösterge olan uzak metastaz varlığının bazı moleküler biyobelirteçler ile saptanması, başlangıç tedavisi ve agresif tedavi gerekliliğinin tedavi başlangıcında belirlenmesi ve kötü seyretmeyeceği öngörülen tümörlerin aşırı tanı almasını (“*Overdiagnose*”) önleyecektir.

Bu çalışmadaki amacımız; papiller tiroid kanseri vakalarında *TERT promoter*, *BRAF* ve *NRAS* mutasyon sıklığının; ve bu mutasyonların varlığının klinikopatolojik özellikler (yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik alt tip, vasküler invazyon, multifokalite, ekstrasvasküler yayılım, evre, lenf nodu metastazı) ve uzak metastaz ile ilişkisinin incelenmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tiroid Kanseri Genel Bilgiler

#### 2.1.1. Epidemiyoloji

Tiroid kanserinin tüm kanserlerin %1'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir. Tiroid kanseri yaş standardize insidansı kadınlarda 9.1/100.000, erkeklerde 2.9/100.000 olarak tahmin edilmektedir (16). Genel olarak tiroid kanseri kadınlarda daha sık görülmektedir (2-3:1) (17). Son 30 yıl içerisinde tiroid kanseri insidansı Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve diğer ülkelerde artış göstermektedir. Yapılan bir çalışmaya göre 1975 ve 2009 yılları arasında tiroid kanseri insidansı 4.9/100.000 oranından 14.3/100.000 oranına yükselerek yaklaşık 3 kat artış göstermiştir. Bununla birlikte mortalite oranı 0.5/100.000 olarak sabit kalmıştır. Tiroid kanseri insidansındaki bu artışı ultrasonografi (USG) ve ince iğne aspirasyon biyopsisi (TİİAB) gibi tanısal yöntemlerin kullanımının yaygınlaşmasıyla açıklanmıştır. Mortalitenin insidansa oranla artış göstermemesi ise görüntüleme yöntemlerinde subklinik seyredebilecek küçük boyutlu tümörlerin saptanması ile açıklanmaya çalışılmıştır (18). Tiroid kanseri insidansındaki artışın bir diğer sebebi de majör risk faktörü olan radyasyon maruziyetinin artışı olarak düşünülmüştür.

PTK tiroid kanserinin en sık görülen alt tipidir ve tüm tiroid kanserlerinin %80-85'ini oluşturmaktadır. 1975-2012 yılları arasında yapılan bir çalışmada PTK insidansının 100.000 de 4.8 den 14.9'a arttığı belirlenmiştir. PTK ortalama başlangıç yaşı 50'dir ve kadınlarda erkeklere göre daha sık görülmektedir (3:1) (19). Yapılan bazı çalışmalarda papiller kanser insidansı 5/100.000, metastatik papiller kanser insidansı 0.15/100.000 olarak belirlenmiştir (20).

Türkiye Kanser İstatistikleri 2017 verilerine göre tiroid kanseri kadınlarda en sık ikinci kanser (22.6/100.000), erkeklerde sekizinci sıradadır (6.4/100.000) (20). Kadınlarda tiroid kanseri sıklığı dikkat çekici olmakla birlikte, son 5 yıl verilerinin yüz binde 20 civarında seyrettiği görülmektedir. 2016 yılında "Türkiye'de ve Dünya'da Tiroid Kanseri Raporu" yayınlanmıştır. Raporda kadın cinsiyet, obezite, iyot eksikliği ve çocukluk çağında radyasyon maruziyeti tiroid kanseri ile ilişkisi gösterilen etyolojik nedenler olarak sıralanmıştır (20).



### 2.1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri

İyonize radyasyon maruziyeti tiroid kanseri gelişiminde saptanmış en önemli risk faktörüdür. Tiroid bezi, lokalizasyonu ve iyodu konsantre edebilme yeteneği sebebiyle radyasyona diğer dokulara göre daha duyarlıdır. Benign ve malign hastalıkların tanısında kullanılan radyolojik yöntemlerin (örneğin BT) yaygınlaşması sebebiyle iyonize radyasyon maruziyeti artmıştır (21). Tiroid kanseri gelişiminde iki önemli risk faktörü, maruz kalınan yaş ve radyasyon dozudur. 0.05-0.1Gy dozdan sonra risk artmaktadır. Maruziyet ile tiroid kanseri gelişmesi arasındaki süre 5-10 yıl arası olabilmektedir. PTK radyasyon maruziyeti ile ilişkisi en fazla olan tiroid kanseri alt tipidir (22). Tiroid dokusu özellikle genç yaşlarda oldukça radyosensitiftir. Son çalışmalar çocuklarda tiroid kanseri riskinin baş-boyun bölgesine radyasyon ilk maruziyet yaşı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca çeşitli çalışmalarda dental *X-Ray* maruziyetinin erişkinlerde tiroid kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir (20). Çernobil kazasından sonra 4000 yeni tiroid kanseri vakası saptanması radyasyon maruziyeti ve tiroid kanseri arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir (23).

İyot eksikliği tiroidin folliküler hücreleri için temel büyüme faktörü olan Tiroid Stimulan Hormon (TSH) salınımında artışa sebep olmaktadır. İyot eksikliği özellikle tiroid kanseri tipini belirleyen bir faktördür. İyot eksikliği olan bölgelerde daha çok folliküler tiroid kanseri, daha az sıklıkta PTK görülmektedir. Ayrıca 10.000 tiroid nodülü ile yapılan çalışmada başlangıç TSH değeri yüksek olan nodüllerin tiroid kanseri riskinin daha fazla olduğu gösterilmiştir. TSH seviyesi baskılı, hipertiroidi ile seyreden otonom nodüllerin kanser riskinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Soliter tiroid nodüllerinde tiroid kanseri gelişme sıklığı %5 olarak saptanmıştır. Son tiroid kılavuzlarında tek tiroid nodülü ile birden fazla nodülü olan hastalarda kanser gelişim riski açısından fark olmadığı belirtilmiştir.

Son çalışmalar obezite, hiperinsülinizm ve insülin direncinin tiroid kanseri gelişimi için risk faktörü olduğunu göstermiştir. İnsülin insülin gen ekspresyonunu regüle etmekte, tiroisit proliferasyonu, differansiasyonu ve transformasyonunu uyarmaktadır (20).

Differansiye tiroid kanseri (DTK) genellikle sporadik olmakla birlikte, ailesel vakalar da tanımlanmıştır. Ailesel DTK'nin tüm tiroid kanseri vakalarının %7'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir. PTK'nin kolorektal kanser ile, folliküler tiroid kanserinin meme kanseri ile ve *Familyal Adenomatöz Polipozis (FAP)*, *Gardner Sendromu ve Cowden Sendromu* gibi ailesel kanser sendromlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (16).

### 2.1.3. Tiroid Kanseri Sınıflandırması

Tablo 2.1. Tiroid Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırılması (DSÖ) (24)

<b>TİROİD KARSİNOMLARI</b>	<b>DİĞER TİROİD TÜMÖRLERİ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Papiller Karsinom (PTK)</li> <li>• Folliküler Karsinom (FTK)</li> <li>• Az Differansiye Karsinom</li> <li>• Undifferansiye (Anaplastik Karsinom)</li> <li>• Skuamöz Hücreli Karsinom</li> <li>• Mukoepidermoid Karsinom</li> <li>• Eozinofili ile Birlikte Sklerozan Mukoepidermoid karsinom</li> <li>• Müsinöz karsinom</li> <li>• Medüller Karsinom (MTK)</li> <li>• Mikst Medüller ve Folliküler Hücreli Karsinom</li> <li>• Timus benzeri diferansiyasyonu olan iğsi hücreli tümör</li> <li>• Timus benzeri diferansiyasyon gösteren Karsinom</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teratom</li> <li>• Primer Lenfoma ve Plazmositom</li> <li>• Ektopik Timoma</li> <li>• Anjiosarkom</li> <li>• Düz Kas Tümörleri</li> <li>• Periferik sinir kılıfı tümörleri</li> <li>• Paraganlioma</li> <li>• Soliter fibröz tümör</li> <li>• Folliküler dendritik hücreli tümör</li> <li>• Langerhans hücreli histiyositoz</li> </ul>
<b>TİROİD ADENOMU VE BENZER TÜMÖRLER</b>	<b>SEKONDER (METASTATİK) TİROİD TÜMÖRLERİ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Folliküler Adenom</li> <li>• Hyalinize Trabeküler Tümör</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Renal Hücreli Karsinom (RCC)</li> <li>• Meme Kanseri</li> </ul>

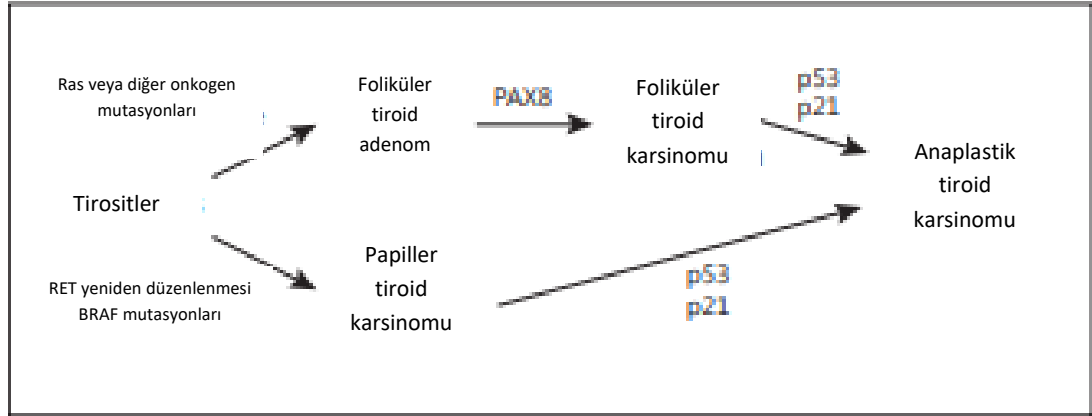
Tiroid karsinomları köken aldığı hücreye göre iki ana kategoriye ayrılır. Folliküler hücrelerden köken alan grup ana grubu oluşturur (%95). Parafolliküler C hücrelerinden köken alan medüller tiroid kanseri tüm tiroid kanserlerinin %3-5 'ini oluşturur. Folliküler hücrelerden köken alan kanserler papiller tiroid karsinomu (PTK), folliküler tiroid karsinomu (FTK), hurthle hücreli karsinom (HHK), az

differentiye tiroid kanseri (ADTK), anaplastik tiroid kanseri (ATK) olarak kendi içinde gruplara ayrılır. PTK, FTK, HHK differentiye tiroid kanseri olarak bilinir. PTK, tiroid kanserinin en sık alt tipidir ve on adet varyanttan oluşan heterojen bir gruptur (25). Tiroidin folliküler epitel hücrelerinden kaynaklanan malign tümörleri differentiye tiroid kanseri olarak da bilinir. PTK ve FTK differentiye tiroid kanseri tümörleri arasında yer alır. PTK tüm tiroid tümörlerinin yaklaşık %80-90, FTK tüm tiroid tümörlerinin %5-10 unu oluşturur. Tiroidin kalsitonin sentezleyen C hücrelerinden köken alan Medüller Tiroid Kanseri (MTK) tüm tiroid tümörlerinin %10'undan azını oluşturur. Tiroidin lenfoma, sarkom, sekonder tümörleri (metastazları) gibi diğer tümörleri ise tüm tiroid tümörlerinin yaklaşık %12'sini oluşturmaktadır (26).

## 2.2. Tiroid Kanseri Moleküler Patogenezi

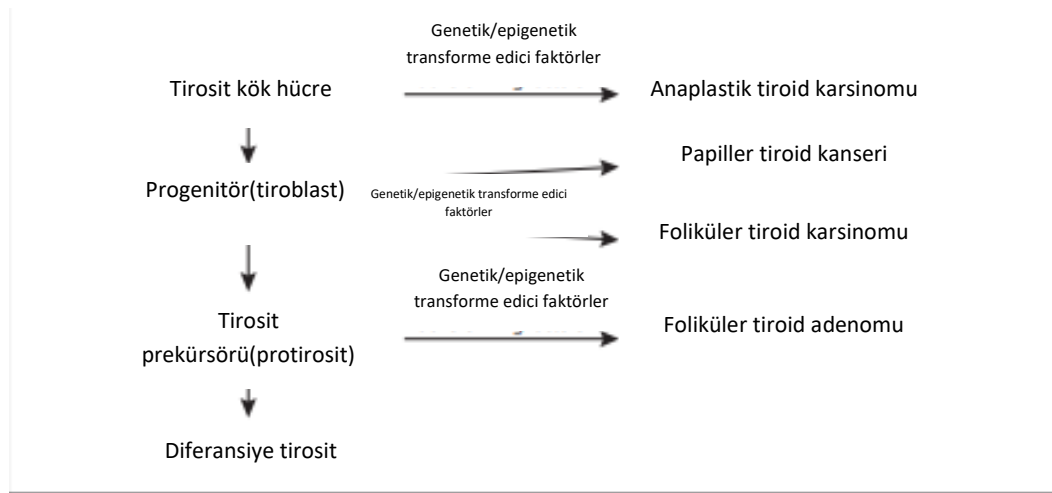
Tiroid karsinogenezinde tiroid formasyonunu işleyen ve heterojenitesini açıklayan iki temel hipotez vardır; birincisi, kanser klonal orijinine dayalı klasik çok adımlı karsinogenez modeli, diğeri de güncel tanımlanmış kanser kök hücrelerine dayanan hipotez.

a) **Çok Adımlı Model:** Bu model, tümör formasyonunun somatik hücrelerdeki genom instabilitesinin ve mikroçevre etkisiyle agresif klonların ortaya çıkması sonucu geliştiğini öne sürmektedir. Fonksiyonel olarak belirtilen mutasyonlar yeni subklonlar arasında uyumsuzluk yaratarak yeni mutasyonlar oluşana kadar diğer hücreleri yönetir. Bu teoriye göre FTK'nın folliküler adenomlardan PTK'nın *BRAFV600E* ve *RET* geni yeniden düzenlenmesi sonrasında oluştuğu ileri sürülmektedir. Az differentiye ve differentiye olmayan tiroid karsinomları fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K) ve WNT yollarında değişiklikler kazandıktan sonra diğer differentiye tiroid kanseri tiplerinden gelişmektedir (Şekil 2.1).



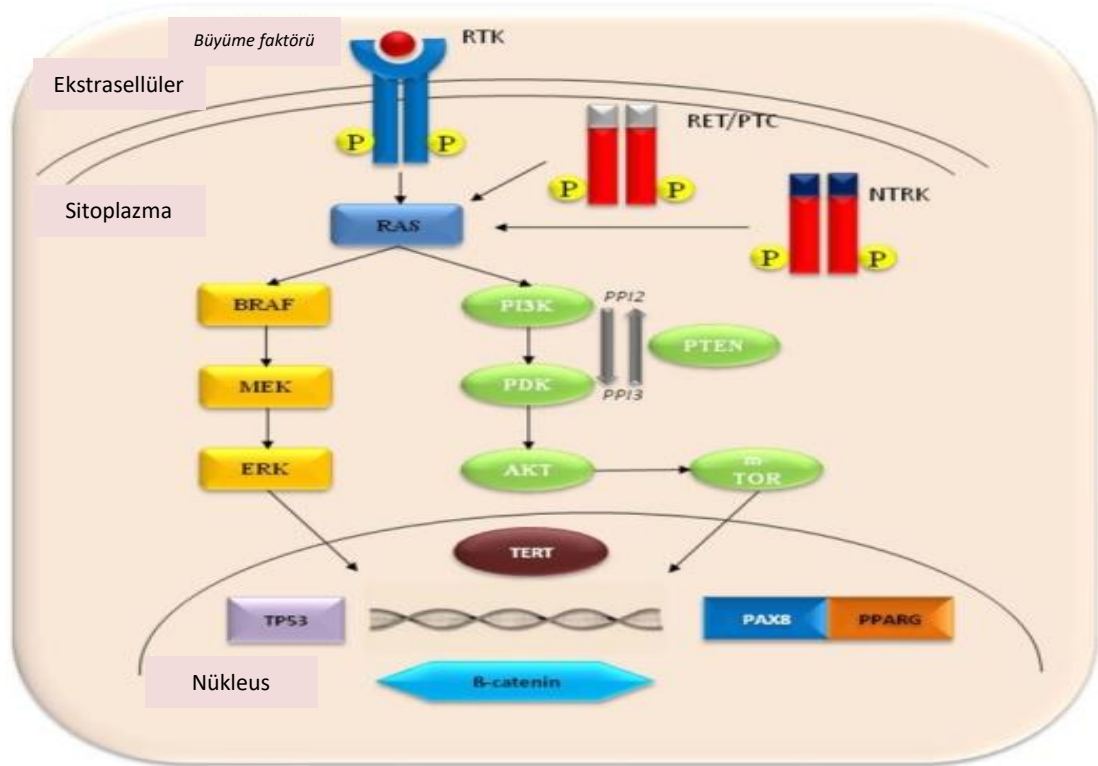
Şekil 2.1. Tiroid Karsinogenezinde Çok Adımlı Teori

**b) Kök Hücre Teorisi:** Bu teori, genetik ve epigenetik transformasyonlar sonrasında fenotipik olarak farklı kanser hücreleri üretebilen küçük kök hücre popülasyonlarının olduğunu ileri sürmektedir (Şekil 2.2) (27).



Şekil 2.2. Tiroid kansinogenezinde Tümör Kök Hücre Teorisi (27)

Son 30 yıl içerisinde tiroid kanseri moleküler mekanizmasını anlamak için birçok çalışma yapılmıştır. Tiroid kanseri patogenezinde rol oynayan temel moleküler mekanizmalar *Mitojen Aktive Protein Kinaz (MAPK)* ve *fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K/AKT)* sinyal yollarındaki disregülasyondur (28).



Şekil 2.3. Tiroid Kanserinde MAPK ve PI3K Sinyal Yolakları (27)

Tiroid kanserinin değişik formları için tanımlanmış çeşitli genetik değişiklikler ve sinyal yolakları vardır (29). Tiroid kanserinde en sık görülen genetik değişiklikler *RAS* ve *BRAF* gen nokta mutasyonları ile *RET/PTC*, *PAX8* & *PPAR $\gamma$*  kromozomal yeniden düzenlemeleridir (29, 32). Kromozomal yeniden düzenlenmeler iyonize radyasyon ve muhtemel DNA fragilitesiyle yakından ilişkilidir. Nokta mutasyonları muhtemelen kimyasal mutagenез sonucu oluşmaktadır. Diyetle alınan iyot fazlalığının *BRAF* mutasyonunda potansiyel rol oynadığı ileri sürülmüştür (30). Tiroid kanseri tümörögenezinde rol oynayan temel sinyal yolakları olan MAPK (*RAS/RAF/MEK/ERK*) sinyal yolağı ile PI3/AKT sinyal yolağı hücre yaşamı, progresyonu, metabolizması ve anjiogenezinden sorumludur (31). MAPK efektörleri (Tirozin reseptör kinaz, RET) ve intrasellüler sinyal efektörleri ile RAS ve BRAF aktivasyonları PTK patogenezinde önemli rol oynar. Benzer şekilde fosfotidilinozitol-3-kinaz(PI3K/AKT) efektörleri ile PTEN ve PI3KCa aktivasyonu yapan mutasyonların folliküler tiroid kanseri patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (28, 31). Genetik olaylar tümörün biyolojik davranışını ve hastanın son durumunu etkilemektedir (32). Son zamanlarda TERT ve TP53 genleri tiroid kanseri

tanısı ve progresyonunda tanımlanmıştır. Ayrıca güncel çalışmalar SNPs(Single nucleotide polymorphisms) tiroid kanseri gelişiminde önemli rol oynadığını öne sürmüştür (33).

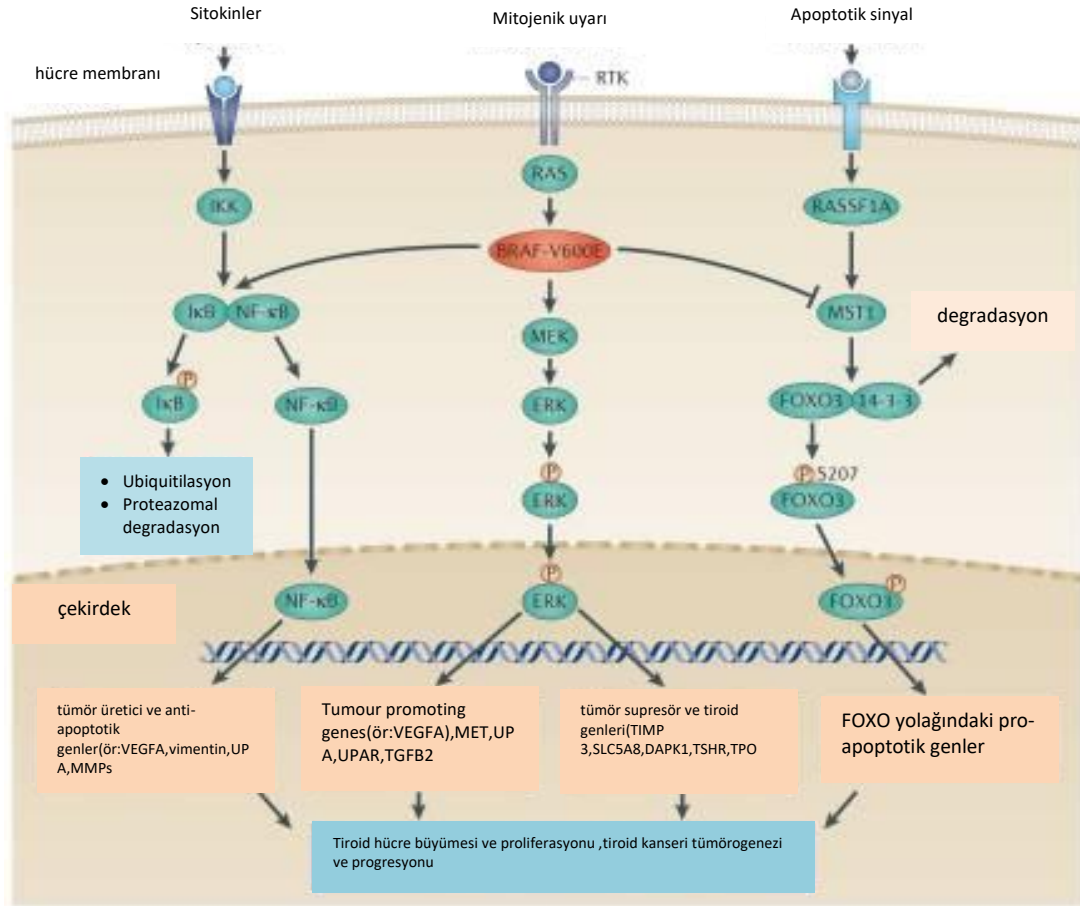
Son 20 yılda PTK progresyonunun anlaşılması için önemli moleküler değişiklikler çalışılmıştır. PTK sıklıkla *RET* kromozomal yeniden düzenlenmesi ya da MAPK yolunu aktive eden *RAS* veya *BRAF* proto-onkogenlerinde nokta mutasyonları ile karakterizedir. PTK vakalarında *BRAF*, *RAS* ya da *RET* geni %70 sıklıkta bulunmaktadır (34). Farklı genetik olaylar çeşitli PTK varyantlarına öncülük etmektedir. Bu varyantlar farklı histolojik özellikler göstermektedir. En sık görülenler klasik, folliküler ve *tall cell* varyantlarıdır. PTK varyantları arasında *tall cell* ve kolumnar hücreli varyant daha agresif özellik göstermektedir (35).

### 2.2.1. Tiroid Kanserinde Sinyal Yollarındaki Değişiklikler

#### MAP Kinaz (MAPK) Sinyal Yolağı

MAPK yolu hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozisi ve yaşamı gibi olaylarda temel rol oynamaktadır. Aşırı aktivasyonu tümörigenezis ile ilişkilidir (36). MAPK yolunun aktivasyonu tiroid kanseri karsinogenezinde temel rol oynamaktadır. Bu sinyal yolunda rol alan önemli proteinler; tirozin kinazlar (VEGFR, RET, ALK, TRK içerir), RAS, RAF, MEK, ERK dir (Bkz 2.4). RAS küçük bir G protein ailesidir. Reseptör tirozin kinazdaki büyüme faktörlerine bağlanır. Serin/treonin kinaz BRAF aracılığıyla yolun devamını uyarır (37). Bu sinyal yolunun tiroid tümörigenezinde özellikle PTK'da önemi açıklanmıştır, özellikle de tiroid kanserinde MAPK yolağı *BRAF*, *RAS*, *RET/PTC*, *ALK* genlerindeki mutasyonlar ile aktive olmaktadır. Tiroid kanserinde *RET/PTC* kromozomal yeniden düzenlenmesi MAPK yolu aktivasyonunda en sık uyarandır (38). Ayrıca *MAPK* yolu aktivasyonunda *RAS* geni uyarısı önemlidir (39). İnsan kanserlerinde *BRAF* mutasyonu MAPK yolunun anormal aktivasyonunda en önemli sebeptir. MAPK yolunun en güçlü uyarıcıları bilinen üç Raf-kinaz; *A-Raf*, *B-RAF*, *C-Raf*'tir (40). *MAPK* ilişkili tiroid tümörigenezi ikincil moleküler değişiklikler (hiper-hipometilasyon) ile güçlendirilmektedir. Ayrıca bazı temel onkogenik proteinlerin; örneğin; nükleer faktör  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), matrix metalloproteinaz (*MMPs*), prohibitin, vimentin, prokinetin, ürokinaz artmış ekspresyonu rol oynamaktadır. Bu proteinler; insan

tümörigenezinde kanser hücre proliferasyonu, büyümesi, migrasyonu, döngüsü ile tümör anjiogenezi, invazyonu ve metastazında rol oynamaktadır (41). *MAPK* intrasellüler hedefler için reseptörler içeren enzimlerdir. İyi tanımlanmış üç alt grubu vardır. Ekstrasellüler sinyal regüle edici kinaz (*ERK*) ve cJun, *NH2* terminal kinazlar (42). *BRAF*<sup>v600E</sup> ilişkili MAPK yolu aktive olduğunda trombospodin-1(TSP1); integrin ve nonintegrinler, hücre membran reseptörleri, matrix proteinleri, sitokinler, VEGFA ve MMP gibi proteinlerle etkileşip ekstrasellüler matrice salınır. Bu etkileşimle birlikte bu proteinler sıradaki sinyalleri aktive eder ve tümör progresyonu ve metastazını organize eder (43). Bu yolakta ekstrasellüler mitojenik uyarı, hücre membranında bulunan reseptör tirozin kinazı aktive eder. Sırasıyla RAS,RAF(*BRAF*<sup>V600E</sup>), MEK, ERK aktive olur ve hücre nükleusuna girer ve tümör üreten genleri (VEGFA, MET, HIF1A, VPAR, TGFB1, ISP1) artırır, tümör supresör genleri ve tiroid genlerini (TIMP3, SLC5A8, DAPK1, NIS, TSHR, TPO) baskılar. Bu şekilde tiroid hücre büyümesi, proliferasyonu ile tiroid kanseri tümörögenез ve proliferasyonu gelişir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Tiroid Kanserinde MAPK ve İlişkili Sinyal Yolları (33)

Tiroid kanserinde MAPK yolundaki genetik değişiklikler oldukça sıktır. PTK'ların %83'ünde MAPK yolunda değişiklik saptanmıştır. En sık görülen genetik değişiklikler *BRAF* mutasyonu (baskın olarak *V600E*) %62, *RAS* mutasyonu %13, *RET/PTC* kromozomal düzenlenmesi %6, *NTRK3* füzyon %1.5, *NTRK1* füzyon %1.3 ve *ALK* füzyonu %0.8 bulunmaktadır (37).

TCGA çalışması göstermiştir ki; histolojik fenotip ile altta yatan genotip arasında güçlü bir ilişki vardır. Bu çalışmada *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu *tall cell* varyant ve klasik tip PTK'da sırasıyla %89 ve %67 şeklinde daha sık bulunmaktadır. Öte yandan *RAS* mutasyonu klasik tip PTK'da %6 bulunurken *tall cell* varyantta hiç rastlanmamıştır (44). İki temel grup vardır. *BRAF*<sup>V600E</sup> benzeri ve *RAS* benzeri gruplar. *BRAF*<sup>V600E</sup> benzeri grup MAPK aktivasyonu ile karakterize *tall cell* ve klasik varyanttan zengin, azalmış radyoaktif iyot cevabı ile ilişkili grup, *RAS* benzeri grup



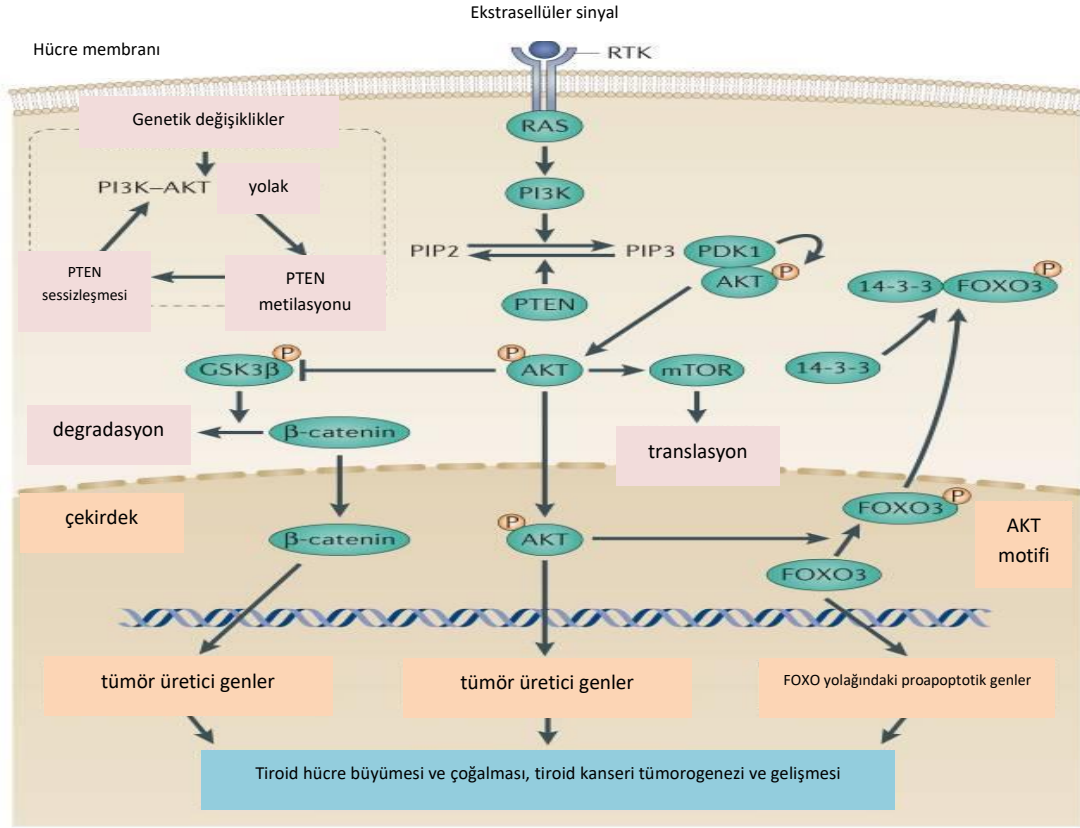
ise hem MAPK hem PI3K/AKT yolu aktivasyonu ile karakterize yüksek farklılaşma gösteren ve FVPTC açısından zengin tiptir (45).

### ***PI3K-AKT Sinyal Yolağı (Şekil 2.5)***

*PI3K-AKT* sinyal yolağı hücrelerin glukoz alımı, hücre büyümesi, proliferasyonu, motilitesi gibi hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde temel rol oynamaktadır. *PI3K-AKT* sinyal yolağı tiroid tümörigenezinde özellikle folliküler tiroid kanseri ve anaplastik tiroid kanseri gibi agresif tiplerin gelişiminde rol oynamaktadır.

*PI3K* çeşitli sınıflardan oluşmakla birlikte, en çok görülen ve insan tümörlerinde en çok tanımlanmış olan sınıfı'dır. *P85* ve *p110* gibi katalitik subünitlerden oluşmaktadır. *P110* subünitleri arasında alfa tip (*PIK3CA*) ve beta tip (*PIK3CB*) gibi farklı doku gruplarından eksprese edilip insan tümörlerinde çeşitli rol üstlenmektedir. Alfa ve beta tip sınıf 1'e aittir ve reseptör tirozin kinaz tarafından aktive edilmektedir. *P110* katalitik subünit membran reseptörleriyle etkileşime geçen ve katalitik subüniti aktive eden bağlanma noktasına sahiptir. *RAS*, *MAPK* yolunda temel oyuncu olması ile birlikte *PI3K/AKT* yolunda da rol oynar. *RAS* geni, *RAS* bağlayıcı bölgesiyle *PI3K*'nin katalitik subüniti olan *p110* ile etkileşir. *RAS* geni hem *MAPK* hem *PI3K/AKT* sinyal yolağını uyarır. *PI3K/AKT* yolunun başlangıç noktası vasküler endotel büyüme faktörü (*VEGFR*), platelet kökenli büyüme faktörü (*PDGFR*), epidermal büyüme faktörü (*EGFR*), ckit, cmet gibi tirozin kinaz reseptörleri içeren büyüme faktör reseptörleridir. Reseptör tirozin kinazın ekstrasellüler sinyal ile aktivasyonu *PI3K* aktivasyonuna ve *p110* katalitik subünitinin aktivasyonuna sebep olur. Bununla birlikte fosfotidilinozitol 4-5 bifosfat fosforillenecek fosfotidilinozitol 3-4-5-trifosfat'a (*PIP3*) dönüşür. *PIP3* hücre membranında Akt ile etkileşime girer, Akt fosforillenir ve fosfoinositid bağımlı kinaz (*PDK*) ile aktive olur. Akt bir serin/treonin kinazdır. İnsan dokularında Akt1, Akt2, Akt3 olmak üzere 3 formu vardır (46). Akt benign tiroid hücre büyümesini düzenleyen *PI3K* sinyali ile uyarılan bir büyüme faktörüdür (47). Aktive olmuş kaskadın devamındaki insan kanserlerinde iyi tanımlanmış *mTOR*'u(*mammalian target of rapamycin*) fosforile eder (48). Bu güçlenmiş sinyal kaskadı birçok moleküler ve hücre fonksiyonu düzenler, hücre proliferasyonunu destekler ve hücre apoptozisini inhibe eder. *PI3K/Akt* yolunun temel negatif düzenleyicisi *PTEN*

genidir (49). Akt aktivasyonu kalıtsal ve sporadik tiroid kanseri gelişimiyle ilişkilidir. Çalışmalar göstermiştir ki; folliküler tiroid kanserinde invazivlik ve metastaz *PI3K-Akt* yolu tarafından desteklenmektedir. Folliküler tiroid kanseri hücrelerinde kapsül ve damar invazyonu Akt aktivasyonu ile ilişkilidir (50).



Şekil 2.5. PI3K/AKT Sinyal Yolağı (33)

### NF-κB Sinyal Yolağı

*NF-κB* sinyal yolağının inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde ve tümörigenezinde önemli bir rolü vardır. *NF-κB* aktivasyonunun tiroid kanser hücrelerinde ve dokularında arttığı gösterilmiştir (51). *RET/PTC*, *RAS* ve *BRAF<sup>V600E</sup>* gibi *MAPK* yolu üyelerinin tiroid kanserinde *NF-κB* yolunu aktive edebileceği gösterilmiştir (45). *NF-κB* sinyali, *BRAF<sup>V600E</sup>* ile güçlendirilmektedir (52).

### WNT-β-catenin Sinyal Yolağı

*WNT-β-catenin* yolu, hücre büyümesinin ve çoğalmasının düzenlenmesinde, kök hücre farklılaşmasında görevlidir ve aşırı aktivasyonu insan kanserleriyle ilişkili

bulunmuştur (53). WNT- $\beta$ -catenin yolu anormal aktivasyonu *PI3K/AKT* yolunun aktivasyonu sonucu olmaktadır (54).  $\beta$ -catenin WNT sinyaliyle uyarılır ve çoğunlukla *CTNNB1* mutasyonu aktivasyonu ile gerçekleşir ve sıklıkla az differansiye tiroid kanseri ile anaplastik tiroid kanserinde görülür (55).

### **Tiroid Kanseri Patogenezinde Diğer Sinyal Yolakları**

*RASSF1-MST1-FOXO3* sinyal yolu apoptozisi destekleyerek önemli bir tümör supresör rol üstlenmektedir. *RASSF1A* geni hipermetilasyonu siktir ve tiroid kanserlerinde rastlanmıştır. *RASSF1-MST1-FOXO3* sinyal yolunun aktivasyonu tiroid kanser hücrelerinin apoptozisini desteklemektedir (56). HIF1 $\alpha$ , hipoksi cevabında önemli olan, çeşitli kanser hücrelerinin metabolizma ve anjiogenezinde rolü olan bir mediyatördür (57). HIF1 $\alpha$ 'nın özellikle agresif tiroid kanserlerinde (ATK gibi) bulunduğu gösterilmiştir (58).

### **2.2.2. Tiroid Kanseri Patogenezinde Onkogenler ve Kromozomal Yeniden Düzenlenmeler**

*RET* geni yeniden düzenlenmesi, *RAS* veya *BRAF* nokta mutasyonları PTK vakalarının %70'inde bulunmaktadır. Bu genetik mutasyonlar MAPK ve PI3K sinyal yolları üzerinden etki göstermektedir (59).

#### ***RET* Proto-Onkogen**

1993 yılında *RET* proto-onkogeni MTK vakaları için sebep gösterilmiş, sonrasında *MEN 2* vakalarında tanımlanmaya başlamıştır (60).

#### **a) Somatik *RET* Mutasyonları:**

*RET*(*Rearranged During Transfection*) geni glial kökenli nörotrofik faktör ailesi üyeleriyle etkileşen tek bir transmembran reseptör (tirozin kinaz reseptör) kodlar (61). PTK'de *RET* yeniden düzenlenmesi (*RET/PTC*) karsinogenezin erken evrelerinde görülür ve PTK hastalarının %10-20'sinde *RET/PTC* füzyonu görülür. *RET/PTC* füzyonu sporadik ve radyasyon ilişkili PTK ile ilişkilidir (62). PTK'de ilk saptanan onkogen *RET/PTC'* dir. *RET*, tirozin kinaz hücre membran reseptörü kodlayan bir proto-onkogendir, *RET* proteini ligand bağlayıcı ekstrasellüler bağlanma noktası ve sisteinden zengin transmembran bölgesinden oluşmaktadır (63). *RET* aktivasyonu MAPK ve PI3K sinyal yollarını uyarır (64). PTK'de *RET* proto-onkogeni tirozin kinaz bölgesinin, diğer genin 5' bölgesi ile birleşmesi ve kimerik

ürün oluşturmasıyla aktiveleşir ve *RET/PTC* oluşur. Bu şekilde 12 kimerik onkogen oluşmaktadır. *RET/PTC1* ve *RET/PTC3* en sık görülen varyantlardır. *RET/PTC 3* geninin yeniden düzenlenmesi yüksek TSH seviyesi ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur (65). PTK de *RET* geni yeniden düzenlenmesi iyonize radyasyon ile ilişkilidir ve özellikle Çernobil kazası sonrası sıklığı artmıştır (%2.5-73) (66). Bazı çalışmalar *RET/PTC1*'in daha iyi prognozla ilişkili olduğunu, *RET/PTC3*'ün daha agresif ve malign fenotip ile ilişkili olduğunu göstermiştir (65).

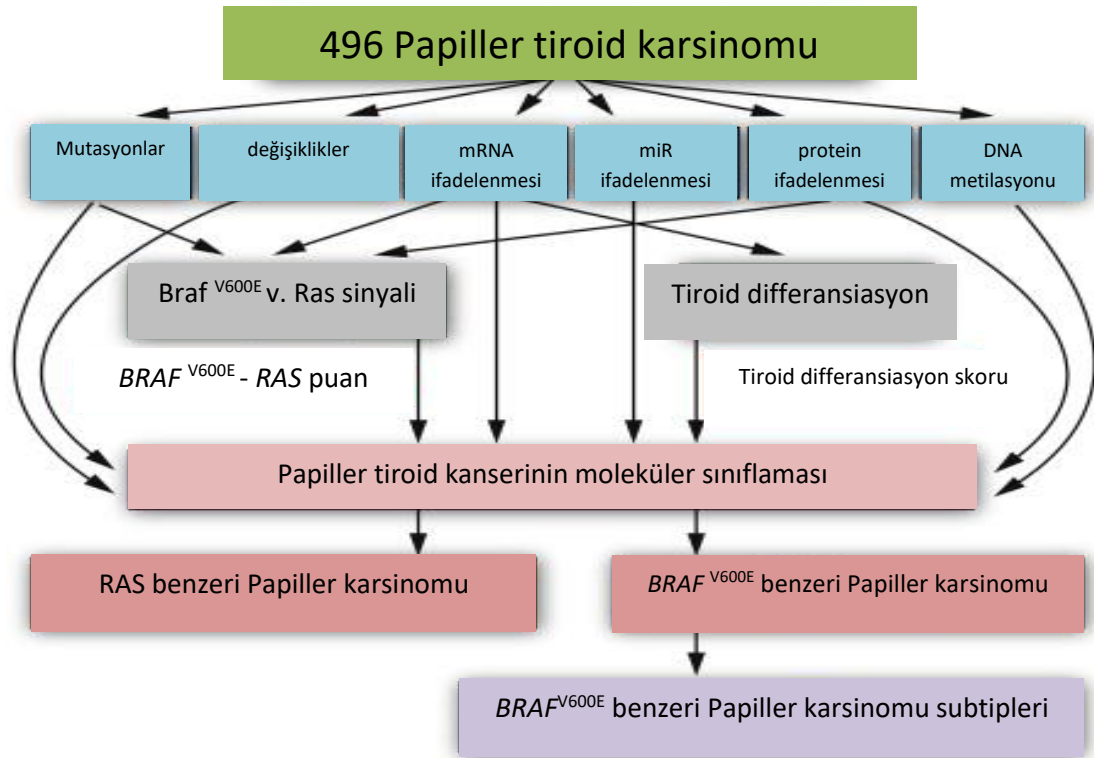
Somatik *RET* mutasyonları, sporadik MTK vakalarının %40-50'sinde görülmektedir ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Somatik *RET* mutasyonu varlığı tanı anında lenf nodu metastazıyla ilişkilidir (67). *RET* geni kodon 664 mutasyonu genin protein kinaz bağlanma noktasını treonin-metiyonin dönüşümüne neden olacak şekilde etkiler. Bu mutasyon özellikle MEN2B vakalarında saptanmaktadır (68).

#### **b) Germline *RET* Mutasyonları:**

Bu tip *RET* mutasyonları MEN2 vakalarında saptanmaktadır. MEN2 hastalarının *RET* mutasyonu açısından taranması önerilmektedir. %95 MEN 2 vakası *RET* proto-onkogeni taşır (69).

#### **BRAF Mutasyonları**

496 tane PTK vakasıyla PTK'nin genetik analizinin yapıldığı bir çalışma mevcuttur (TCGA Çalışması) (şekil 2.6) (70). Bu çalışmada PTK vakaları RAS mutasyonu içerenler ve BRAF mutasyonu içerenler şeklinde iki ana gruba ayrılmıştır.



Şekil 2.6. Papiller Tiroid Kanseri Moleküler Sınıflandırılması (TCGA Çalışması)  
(70)

*RAF*, 766 aminoasitlik, sinyal transdüksiyonunu düzenleyen bir protein kinazdır. Üç kısımdan oluşmaktadır; bölge 1 (CR1), *RAS-GTP* bağlayan bölge 2 (CR2) ve serinden zengin bölge3 (CR3) (71). Üç tip *RAF* vardır. *ARAF*, *BRAF* ve *CRAF*. *BRAF* S446 rezidü fosforilasyonu sebebiyle diğerlerine göre daha üstün tirozin kinaz aktivitesi göstermektedir. *RAF*; *RAS-RAF-MEK-ERK* sinyal yolu olarak da bilinen MAPK yolunun merkez komponentidir. MAPK yolu ile ekstrasellüler matriksten nükleus reseptör tirozin kinaz aracılığıyla sinyal taşınmaktadır. Bu şekilde hücresel proliferasyon, farklılaşma, apoptozis ve hücresel döngü sağlanmaktadır (72). *RAF* genleri arasında MAPK sinyal yolunun en güçlü uyarımı *BRAF*'tir (36). İki adet önemli mutasyon bölgesi bulunmaktadır, bunlar ekzon11 ve ekzon15'tir. *BRAF* gen mutasyonu, artmış kinaz aktivitesi ile sonuçlanır. Bu da kanser hücrelerinin aşırı çoğalmasına sebep olur (73). *BRAF* mutasyonları; tiroid kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri, over kanseri, malign melanom gibi çok farklı insan kanserlerinde tanımlanmıştır (36). Tüm kanserlerin %7'sinde gösterilmiştir. *BRAF* mutasyonu tiroid kanserinde en sık rastlanan genetik

değişiklidir. *BRAF* mutasyonu PTK prevalansı çeşitli serilerde farklılık göstermekle birlikte %29-83 arasında bulunmuştur. *BRAF* geninde 40 farklı mutasyon tanımlanmıştır. *BRAF*<sup>V600E</sup> (*Val600Glu, V600E* olarak da bilinir) tüm mutasyonların %90'ını oluşturmaktadır (40). T1799A nükleotid transversiyonu baskın mutasyondur. *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu PTK'de görülen en sık onkojenik olaydır (74). Tüm PTK vakalarının %45'inde görülür(71). Bu mutasyon, *BRAF* proteinin 600. kodonunda valin ile glutamik asitin yer değiştirmesine sebep olur ve *BRAF*<sup>V600E</sup> oluşumu ile sonuçlanır. Serin/treonin protein kinaz aktivitesi artar, MAPK yolu aktive olur (75). Güncel olarak TCGA PTK'de *BRAF* sıklığını %74.6 olarak yayınlamış ve bunun %61.7'sinin *V600E* varyantı olduğunu belirtmiştir (76). Başka bir çalışmada sporadik PTK vakalarında *BRAF* mutasyonu sıklığı %45 olarak bildirilmiştir ve sıklıkla *tall cell varyant* gibi agresif alt tiplerle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Pre-operatif ince iğne aspirasyonu ile *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu analizinin hastaların prognozunu tahmininde değerli olacağı belirtilmiştir (71). PTK agresif varyantları klasik PTK 'ye göre farklı sitolojik ve histolojik özelliğin dışında farklı moleküler profil göstermektedir. *Tall cell varyant* PTK vakalarında %90 *BRAF*<sup>V600E</sup> %31 *TERT promoter* mutasyon izlenmektedir. Bu oran klasik tipte daha azdır (77). *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonunun agresif tümör davranışı ile ilişkisini açıklayan çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür. *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu tiroid bezinin iyot konsantrasyonuna yeteneği ile ilişkili gende ekspresyon kaybı ile radyoaktif iyot tedavisine direnç ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (78). *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu çeşitli anjiojenik tümör uyarıcı molekülleri (örneğin; VEGF, matrix metalloproteinazlar, nükleer transkripsiyon faktör  $\kappa$ B) artmış ekspresyonu, hipermetilasyon, tümör supresör genlerde inaktivasyon ile kötü klinik sonuçlar arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (79). PTK'de *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonunun tümör progresyonu ve rekürrensi ile ve ileri yaş, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı, ileri tümör evresi gibi kötü klinikopatolojik özellikler ile ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak literatürde konuyla ilgili tutarsızlıklar vardır, net görüş birliği yoktur. Yapılan bazı çalışmalarda PTK'de *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonun kötü klinik sonuçlar ile ilişkili olduğu, rekürrens tahmininde bağımsız bir prediktör olduğu ve PTK için risk değerlendirmesinde belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (80). Bir çok çalışma *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonun ileri yaş, cinsiyet ekstratiroidal invazyon,

multifokalite, lenf nodu metastazı, ileri tümör evresi gibi klinik özellikler ile ilişkisi gösterirken (81), bazı çalışmalarda ise yaş, cinsiyet, histolojik varyant, tümör fokalitesi, perinöral invazyon ile arasında ilişki bulunamamıştır (11). Bir çok çalışma  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile bölgesel invazyon (ekstratiroidal yayılım, servikal lenf nodu metastazı) ve ileri evre ile ilişkili olduğunu göstermiştir (6, 82, 83).  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ve PTK mortalitesi ile ilişkili çalışmalar mevcut olmakla birlikte literatürde bu konuyla ilgili çelişkili sonuçlar vardır ve bu konu net açıklanmamıştır.  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun klinik progresyon, rekürrens, tedavi başarısızlığı ile ilişkili olduğunu gösteren çokça çalışma mevcuttur.  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile mortalite arasında ilişkiyi inceleyen çalışmalar mevcut olup yeteli değildir ve literatürde bununla ilgili çelişkili veriler mevcuttur. Yapılan bir çalışmada PTK tüm tiplerinde  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile hastalık-ilişkili mortalite arasında ilişki bulunmuştur. Bu mutasyon ilişkili mortalite oranı %80.4 olarak saptanmıştır. Ayrıca aynı çalışmada çeşitli klinik faktörler (ileri yaş, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, ileri evre) ile hastalık- ilişkili mortalite arasında ilişki bulunmuştur. Bu faktörler tek başına orta risk oluştururken,  $BRAF^{V600E}$  ile birlikte olduğunda yüksek risk oluşturmaktadır görüşü ileri sürülmüştür (80). Yapılan başka bir çalışmada da  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile artmış kanser ilişkili ölüm arasında ilişki bulunmuştur. Çalışmada ayrıca ileri yaş, büyük tümör boyutu, servikal lenf nodu metastazı, ekstratiroidal invazyon, uzak metastaz, evre gibi klinikopatolojik risk faktörleri kullanılmıştır (84). Başka bir çalışmada ise  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun agresif klinikopatolojik özellikler ile ilişkili olduğunu, PTK için potansiyel bir prognostik belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüş ancak mortalite ile ilişkisinin net olmadığı belirtilmiştir (83). Uzak metastaz tiroid kanseri için iyi bilinen bir prognostik faktördür ve mortalite artışı ile ilişkili bulunmuştur. Tiroid kanserinde uzak metastaz ile ilişkili klinik özellikler araştırılmış ancak tam bir görüş birliği elde edilememiştir. Son zamanlarda PTK'de  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile uzak organ metastaz arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar popülerdir. Bu konuyla ilgili araştırmalar sürmekle birlikte literatürde bir görüş birliği yoktur. Yapılan bir çalışmada PTK'de uzak metastaz için  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun prediktif değeri araştırılmış ancak mutasyon varlığı uzak metastaz için artmış risk ile ilişkili bulunmamıştır (6). Başka bir çalışmada uzak metastaz olan PTK hastalarında  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu daha sık bulunmuş olup (85), buna karşıt

çalışmalar da mevcuttur. Örneğin yapılan bir çalışmada PTK de *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu ile uzak metastaz arasında negatif korelasyon bulunmuştur (86). Literatürde *BRAF*<sup>V600E</sup> ile uzak metastaz arasında ilişkiyi inceleyen yeterince çalışma ve net bir fikir birliği olmamakla birlikte genel görüş *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu ile uzak metastaz gelişme riski arasında ilişki olmadığı yönündedir ancak bu çelişkilerden dolayı daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

### **Ras Mutasyonları**

*RAS*, GTP-bağlayıcı protein ailesinden *MAPK* ve *PI3K-AKT* sinyal yolu üzerinden etki eden bir mutasyondur. *RAS* mutasyonun üç formu vardır. Bunlar *H-RAS*, *K-RAS* ve *N-RAS*'tir. *H-RAS*, *K-RAS* ve *N-RAS* dört farklı protein (*H-Ras*, *N-Ras*, *K-Ras4A* ve *K-Ras4B*) kodlar. Bu proteinler hücre büyümesi, farklılaşması, yaşamında rol oynar (87). *RAS* mutasyonu *MAPK* ve *PI3K-AKT* yolunun klasik dual aktivatörüdür (88). *NRAS* tiroid nodüllerinde baskın olarak saptanan formdur (özellikle kodon 12 ve 61). İntrinsik GTPaz GTP'yi hidroliz ederek *RAS* sinyalini sonlandırır ve *RAS* inaktif GDP parçalarına ayrılır. *RAS* mutasyonu, GTPaz aktivitesinde kayba yol açar (89). *RAS* mutasyonlarının onkojenik aktivasyonu missense mutasyona bağlıdır ve çeşitli kanserlerde görülmektedir. 12,13,61 kodonlarındaki mutasyonlar *RAS* sinyal aktivasyonunun çoğundan sorumludur. Tüm benign ve malign tiroid tümörlerinin %30'undan fazlasında bulunur (87). Tiroid kanserinde *RAS* mutasyonları, *BRAF* mutasyonlarından sonra en sık görülen ikinci mutasyondur (88). *RAS* ailesinden en sık görülen ve tiroid kanserlerinde baskın olan form *NRAS* kodon 61 dir (30, 41). PTK de en sık rastlanan mutasyon *BRAF* mutasyonudur, bunu *RAS* mutasyonu izler (90). Çalışmalar *RAS* mutasyonlarının tümörigenezin erken aşamalarında gerçekleştiğini göstermiştir (91). Yapılan çalışmalarda *RAS* mutasyon sıklığı; folliküler adenomlarda ve FTK'de (%40-53), PTK'de %0-20) FVPTK'de (%17-25), az differansiye ve anaplastik tiroid kanserinde %20-60 sıklıkta bildirilmiştir (39, 92-94). Başka bir çalışmada *RAS* mutasyonları sıklığı FTK'de %28-68, FVPTK'de %43(74), NIFTK'de %47(95), folliküler adenomlarda %20-25 olarak bildirilmiştir (96). Yapılan bir çalışmada, kodon61 N-*RAS* mutasyonun en sık mutasyon olduğu ve tüm *RAS* mutasyonlarının %67'sini oluşturduğu bildirilmiştir (97). Başka bir çalışmada *NRAS* kodon 61 mutasyonun tüm *RAS* mutasyonlarının %88'ini oluşturduğu gösterilmiştir (39). Yapılan bir çalışmada



RAS mutasyonu saptanan PTK vakalarının daha çok folliküler büyüme patterni olan ve folliküler tümör tipinde olan folliküler varyant subtipde olduğu görülmüştür (2, 98, 99). Yapılan bir çalışmada folliküler varyant PTK'de az differansiye fokal alanlarda %67 RAS mutasyonu saptanmıştır (2). NRAS kodon 61 mutasyonu folliküler tiroid kanserlerinde PTK'ne göre dört kat daha sık bulunmuştur. RAS mutasyonlarının differansiye tiroid kanserinde klinik önemi tam olarak açıklanmamıştır. Literatürde PTK'de RAS mutasyonları ile ilgili kısıtlı çalışma vardır. RAS mutasyonlarının prognostik ve klinik önemini araştıran çalışmalar olsa da yeterli değildir. RAS ekspresyonunun tiroid kanserinde agresiflik ve kötü prognoz ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Bazı çalışmalarda mutasyon ile agresif klinikopatolojik özellikler arasında ilişki bulunmamıştır (100). Yapılan bir çalışmada RAS mutasyonu ile cinsiyet, tümör boyutu, histolojik subtip, multifokalite, nodüler guatr/Hashimoto Hastalığı, yaş gibi klinik özellikler ve lenf nodu metastazı, uzak metastaz, TNM evresi arasında ilişki bulunamamıştır (101). RAS mutasyonlarının prognostik rolü tam olarak açıklanamamış olsa da uzak metastaz ile ilişkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur (102). Yapılan bir çalışmada RAS mutasyonu bazı vakalarda daha agresif fenotip ve rekürrens, uzak metastaz ve ölüm için artmış risk ile ilişkili olduğu görülmüştür (14, 100, 103-105). Başka bir çalışmada RAS mutasyonları tiroid kanser tiplerinde agresif kanser davranışı ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (103). Diğer çalışmada NRAS kodon 61 mutasyonu PTK için tümör agresifliği için bağımsız bir prognostik faktör olarak bildirmiştir. Yine aynı çalışmada . PTK vakalarında NRAS mutasyonu %14 olarak saptanmış ve uzak metastaz ve rekürrens riskinin bu vakalarda artmış olduğu görülmüştür (14). RAS mutasyonlarının özellikle TERT promoter mutasyonları ile (C228T ve C250T) birlikte olduğunda daha agresif ve rekürren olma eğiliminde olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (106).

### **TERT Mutasyonları**

Yaşlanma ve proliferasyonun sınırlandırılmasından kaçma, ölümsüzlük olarak da betimlenir ve somatik hücrelerde telomeraz reaktivasyonu aracılığıyla gerçekleşen, kanser patogenezinde temel olaylardan biridir (107). Telomerler, temel

fonksiyonu kromozomal bütünlük ve genom stabilitesinin sağlanması olan nükleoproteinlerdir. Telomerler, 5'-TTAGGG-3' heksomerlerinin 3' uca eklenmesinden oluşur. Bu, genomik DNA'yı hücre bölünmesi sırasında telomerlerin erozyonun devamından korumaktadır. Telomerlerin devamlılığı hücrelerin çoğalması için önemlidir, yaşlanma ve kanser progresyonunda kritik bir basamak oluşturmaktadır. Telomer korunması ve /veya uzaması, kanser primer mekanizması ve agresifliği üzerinde etkilidir. Telomerler her mitoz sırasında, somatik hücre yaşlanmasında kısalmakta ve kritik kısalığa ulaştığında hücre ölümü gerçekleşmektedir. Kontrolsüz hücre çoğalmasında telomer kısalması hız kısıtlayıcı basamaktır. Telomeraz, reverse transkriptaz aktivitesi de olan, kromozom uçlarına 5'-TTAGGG-3' tekrarlarının eklenmesiyle, telomerlerin erozyonun devamını tersine çeviren bir ribonükleoprotein polimerazdır. Telomeraz, telomer devamlılığından sorumlu bir enzimdir. İnsan telomerazı iki ana alt birimden oluşur. *Telomeraz Reverse Transkriptaz(TERT)*, katalitik kısımdır. RNA komponenti TERC, telomer uzaması için şablon oluşturmaktadır (108). TERT mRNA ekspresyonu ile telomeraz aktivitesi arasındaki pozitif korelasyon, primer olarak *TERT* gen ekspresyonu ile sağlanmaktadır. İnsanlarda *TERT* geni 5p15.33 kromozomu üzerinde lokalizedir (109). Telomeraz aktivitesi, hücre ölümsüzlüğü için gereklidir. Telomeraz sınırsız çoğalma altındaki, örneğin kök hücre, embriyonik ve kanser hücrelerinde ifade edilmektedir. Telomeraz birçok tip tümörde bulunmaktadır ancak normal somatik hücrelerde bulunmaz (110). *TERT promoter* bölgesi, telomeraz aktivasyonu için en önemli regülatör element olarak düşünülmüştür. TERT promoter bölgesi bir translasyonel başlangıç bölgesi ve ekzon 2'den oluşmaktadır. Promoter bölge CpG dinükleotidleri ve SP1 bölgelerinden zengin, TATA ve CAAT kutularından eksiktir. 5' regülatör bölge olarak da bilinen bu bölge, transkripsiyonel bağlanma bölgelerinden zenginleştirilmiştir ve TERT'in negatif ve pozitif regülatörleriyle etkileşir(111).

Kanserlerin karakteristik özelliklerinden birisi replikatif yaşlanmanın ve proliferasyonun kısıtlanma olmaksızın ölümsüzlük kazanmasıdır. Bu özellik, telomerazın somatik hücrelerde reaktivasyonu aracılığıyla olmaktadır. Telomeraz aşırı aktivitesi malign tümörlerin %80-90'ında saptanmıştır(112). *TERT promoter* mutasyonları, -124(C228T) ve -146(C250T) rezidülerinde saptanmıştır(113).

Tiroid kanseri diğer kanser türlerine göre daha az sıklıkta telomeraz aktivitesi göstermektedir. Telomeraz aktivitesi PTK'de %48, FTK'de %71, az differansiye ve ATK'de %78 sıklıkta saptanmıştır (114). Yapılan çalışmalarda, tiroid kanserinde TERT promoter mutasyonun kötü prognostik özellikler (yaş, tümör boyutu, ileri evre, uzak metastaz), tedaviye kötü yanıt ve azalmış yaşam süresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (115-117).

Metastatik tiroid kanseri vakalarıyla yapılan geniş bir çalışmada *TERT promoter* mutasyonları, radyoiyot-rezistan uzak metastaz olan vakalarda daha sık saptanmıştır. Bu sonuçlar, *TERT promoter* mutasyonlarının tiroid kanserinde uzak metastaz patogenezinde rol oynadıklarını göstermiştir (118).

Literatürde *TERT promoter* mutasyonları ile diğer genetik değişiklikler örneğin; *BRAF* ve *RAS* mutasyonları arasında ilişki bildirilmiştir. *TERT promoter* mutasyonları, *BRAF* ve *RAS* mutasyonları ile eş zamanlı gerçekleşen en sık somatik değişikliklerdir (118).

Ancak literatürde bu mutasyonların birlikteliğinin prognostik değeri ile ilgili bir fikir birliği yoktur. Bazı gruplar *TERT promoter* mutasyonu ile *BRAF* mutasyonu birlikteliğinin tiroid kanserinde kötü prognoz ile ilişkili olduğunu bildirirken (119-121), diğer bazı çalışmalar ise ilişki olmadığını bildirmiştir (117, 122). Rusinek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, *TERT promoter* mutasyonları PTK'de yüksek agresiflikle ilişkili bulunmuş ancak PTK hastalarında risk değerlendirmede değerinin belirlenmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (123). Gandolfi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada iyi differansiye PTK'de *TERT promoter* mutasyonları metastatik davranış için belirteç olarak öne sürülmüştür. Çalışmada, metastatik olmayan lezyonlarda *TERT promoter* mutasyon sıklığı %10 olarak saptanırken, uzak metastaz olan vakaların %33'ünde saptanmıştır (124).

### **PAX8-PPAR $\gamma$**

PAX8-PPAR $\gamma$  füzyon proteini, t(2;3) (q13;p25) kromozomal translokasyon ürünüdür. FTK ile ilişkilidir(125). PAX8-PPAR $\gamma$  pozitif tümörler, *RAS* mutasyonu pozitif tümörlerde vasküler ve kapsüler invazyonda daha baskındır (126).

### **Diğer Genler**

*P53* geninin tiroid karsinogenezinde rol oynadığı iyi bilinmektedir. *P53* mutasyonu çeşitli tiroid kanser varyantlarının gelişmesine öncülük eder. Ayrıca tiroid kanser tedavisinde terapötik hedef olarak kullanılmaktadır (127).

*Anaplastik lenfoma kinaz(ALK)* geni, *STRN* geni ile birlikte farelerle yapılan bir çalışmada bildirilmiştir. Bu füzyon tiroid kanseri agresif formları için terapötik hedef oluşturmaktadır (128).

Tiroide spesifik bir transkripsiyon faktör olan *FOXE1* tiroid gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Tiroglobulin ve tiroperoksidaz bölgelerini tanıyarak erişkin tiroidinde hücrel farklılaşmanın devamını sağlar. *FOXE1* geni hipotiroidi ve PTK ile ilişkilidir (129).

### ***ncRNAs***

Epigenetik modülatörler, örneğin *non-coding RNAs(ncRNAs)*, FTK ve PTK tanı ve tedavisinde yardımcı faktörler olduğu gösterilmiştir. miRNAs gibi, *ncRNAs*, *circularRNAs(circRNAs)*, *long-non-coding RNAs (lncRNAs)* hücrel süreci düzenleyen, hücre farklılaşması, çoğalması, hücre siklusu, apoptozis, migrasyon, invazyonu düzenleyen moleküllerdir (130-133). *ncRNAs* özellikle MTK ve juvenil PTK'de saptanmıştır (134).

### ***miRNAs***

Son 20 yılda *miRNAs* disregülasyonu, tiroid disfonksiyon ve tiroid kanseri onkojenitesiyle ilişkilendirilmiştir (132). *miRNAs* posttranskripsiyonel regülasyonu sağlayan küçük regülatör RNA parçalarıdır(135). Spesifik miRNA'ların tiroid karsinogenezindeki rolü hala araştırma konusudur. TCGA analizi PTK'de 6 tane *miRNA* kümesi göstermiştir (136).

### ***lncRNAs***

Birçok lncRNA (long non-codon RNA) molekülünün tiroid kanseri dokularında ekspresyonunun arttığı ya da azaldığı gösterilmiştir. Transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel süreçte epigenetik modifikasyonlarda etki ettiği düşünülmektedir. Hücre siklusu, hücre farklılaşması, çoğalması, apoptozisi,

migrasyonu ve invazyonunda görev aldıkları bilinmektedir (130). Ancak tiroid kanseri patogenezindeki rolü ve moleküler mekanizması hala net değildir.

### **CircRNAs**

İnsan PTK'de bildirilmiştir(137). Ekzonik, ekzon-intronik, intronik ve intergenik şeklinde dört tipi vardır(138).

### **2.3. Tanı**

Tiroid kanserinin klinik başvuru bulgusu, genellikle palpe edilen veya rastlantısal olarak saptanan tiroid nodülü şeklinde olur (139). Epidemiyolojik çalışmalar, iyot eksikliği olan bölgelerde tiroid nodülü prevalansını kadınlarda %5, erkeklerde %1 olarak belirlemiştir. Yüksek rezolüsyonlu ultrason görüntüleme (USG) tiroid nodüllerinin %19-68'ini saptayabilir (140, 141). Yaşa, cinsiyete, radyasyon maruziyetine, aile öyküsüne göre tiroid nodülünde tiroid kanseri saptanma sıklığı %7-15 arasındadır (142). Tiroid nodülü saptanan her hastaya başlangıç değerlendirmesinde tiroid stimulan hormon (TSH) ölçümü yapılmalıdır. Tiroid nodülü saptanan hastada hikayede çocukluk çağında baş-boyun bölgesine radyasyon maruziyeti, tam vücut ışınlama, ailesel tiroid kanseri ya da tiroid kanser sendromları, ses kısıklığı yer almalıdır. Malignansi düşündürülen fizik muayene bulguları; vokal kord paralizisi, servikal lenfadenopati ve nodülün çevre dokulara fiksasyonudur. Hiperfonksiyone nodüllerde malignansi nadirdir ve sitolojik değerlendirme gerekmez. Yüksek serum TSH seviyesi tiroid nodülünde artmış malignansi riski ile ilişkilidir. Tiroid nodülü şüphesi olan tüm hastalara ya da insidental olarak diğer görüntüleme yöntemlerinde (CT/MRI/FDG-PET) saptanmış tüm nodüllere tiroid/boyun USG yapılmalıdır. Tiroid USG, tiroid nodülünde malignansi riskinin belirlenmesini sağlayarak, TİİAB kararı verilmesi için yol gösterir. USG tiroid parankimini, tiroid bez büyüklüğünü, nodül boyutunu, lokalizasyonunu, nodülün sonografik özelliklerini, şüpheli servikal lenfadenopati olup olmadığını gösterir (143). Çeşitli gri skala USG özellikleri, tiroid kanseri (özellikle PTK ) ile ilişkili gösterilmiştir. Bunlar, mikrokalsifikasyonlar, hipoekojenite, düzensiz sınırlar (infiltratif, mikrolobule, spiküle), uzunluğun genişlikten fazla olmasıdır. Bu özellikler tiroid kanseri için yüksek spesifitesi olan (>%90) özelliklerdir. Sonografik

özelliklere göre malignite riski değerlendirilmesi ve biyopsi endikasyonları gösterilmiştir (Tablo 2.2) (143).

Tablo 2.2. Tiroid Nodüllerinin Ultrasonografik Karakterlerine Göre Malignite Belirteçleri

<b>Malign Özellikler</b>	<b>Benign Özellikler</b>
Hipoekojenite	Hiperekojenite
Mikrokalsifikasyon veya kesintili kenar kalsifikasyonu	Kenar bütünlüğü korunmuş kesintisiz yumurta kabuğu kalsifikasyon
Düzensiz sınırlar	Süngerimsi (spongioform) nodül
Halo yokluğu veya inkomplet halo	Halo varlığı ya da pürüzsüz kenar
İntranodüler kanlanma artışı (Tip 3)	Vaskülarite yokluğu (Tip 1) veya periferik (Tip 2) vaskülarite
Yükseklik>genişlik (transvers kesitte)	Pür kistik nodül
Anterior boyun kaslarına invazyonu	Nodül boyutlarında zamanla azalma olması
Patolojik servikal LAP varlığı	Multipl koalesan nodüller (kaynaşmış nodüller)
	Reaktif özellikli servikal LAP

Tablo 2.3. Tiroid Nodüllerinde sonografik özellikler, malignite riski, TİİAB önerileri(143)

Sonografik Pattern	USG Özellik	Malignansi Riski(%)	TİİAB için boyut önerisi
<b>Benign</b>	Solid Komponenti olmayan saf kistik nodüller	<1	Biyopsi Gerekmez
<b>Çok Düşük Şüpheli</b>	Düşük/orta/yüksek şüpheli özelliği göstermeyen, spongioform ya da kısmi kistik nodüller	<3	>2 cm ise TİİAB düşünülebilir, TİİAB olmaksızın takip edilebilir.
<b>Düşük Şüpheli</b>	İzoekoik ve ya hiperekoik solid nodüller, ya da solid alanlar içeren kistik nodüller(mikrokalsifikasyon, ekstratiroidal yayılım, düzensiz sınır, uzunluk>genişlik olmamak şartıyla)	5-10	≥1,5 cm ise TİİAB önerilir.
<b>Orta Şüpheli</b>	Düzensiz sınırlı hipoekoik nodül(mikrokalsifikasyon, ekstratiroidal yayılım, uzunluk>genişlik olmamak şartıyla)	10-20	≥1 cm ise TİİAB önerilir.
<b>Yüksek Şüpheli</b>	Solid hipoekoik nodül ya da solid hipoekoik komponenti olan kistik nodül;bir veya daha fazlasını içermek koşuluyla: düzensiz sınırlar(infiltrate, mikrolobule), mikrokalsifikasyonlar, uzunluk>genişlik, ekstratiroidal yayılım	>70-90	≥1 cm ise TİİAB önerilir.

USG'de yüksek şüpheli sonografik özellik gösteren nodüller yüksek olasılıkla PTK'dir. Orta şüpheli sonografik özelliklerin PTK için sensitivitesi %60-80'dir. Tiroid kanserlerinin sadece%15-20'si izo/hiperekoiktir ve bunlar çoğunlukla FVPTK ya da folliküler tiroid kanseridir.

Tiroid nodülü saptandığı zaman ön servikal lenf nodu kompartmanına ( santral ve lateral) yönelik USG mutlaka yapılmalıdır. USG bulguları servikal lenf nodunun tiroid kanseri açısından şüpheli olduğunu gösteriyorsa lenf noduna yönelik

biyopsi ya da Tg ile yıkama yapılmalıdır. Tiroid kanseri için şüphe uyandıran klinik bulgular vardır. Bunlar; yutkunma ile immobilité, ağrı, öksürme, ses değişikliği, büyüme, lenfadenopati, çocukluk çağında radyasyon maruziyeti (benign durumlar için yahut çocukluk çağı lösemileri için kraniyal ışınlama gibi) ve ailesel tiroid kanseridir. Tiroid kanseri ile ilişkili klinik risk faktörleri varlığında daha küçük nodül boyutlarında biyopsi düşünülebilir.

Tiroid nodülü saptandığında benign/malign ayrımının yapılması hayati önem taşır. TİİAB tiroid nodüllerinin benign/malign ayrımında altın standart testtir. Tiroid nodülleri USG'de sonografik özelliklerine göre değerlendirilerek malignansi açısından riskli nodüller ve TİİAB endikasyonu belirlenir (Tablo 2.3). Tiroid nodül sitolojisi, Bethesda Sistemi'ne göre raporlanmalıdır. Bethesda tiroid sitopatoloji raporlama sistemi ilk kez 2007 yılında yayınlanmıştır. Bethesda sistemi 6 farklı kategori için farklı kanser riski belirlemektedir. Bunlar; tanısal olmayan/yetersiz, benign, önemi belirlenememiş atipi/foliküler lezyon, folliküler neoplazm/foliküler neoplazm açısından şüpheli, malignite açısından şüpheli ve maligndir. (Tablo2.4)(143).

Tablo 2.4. Bethesda Sistemi (Tiroid Sitopatoloji Raporlama Sistemi)(143)

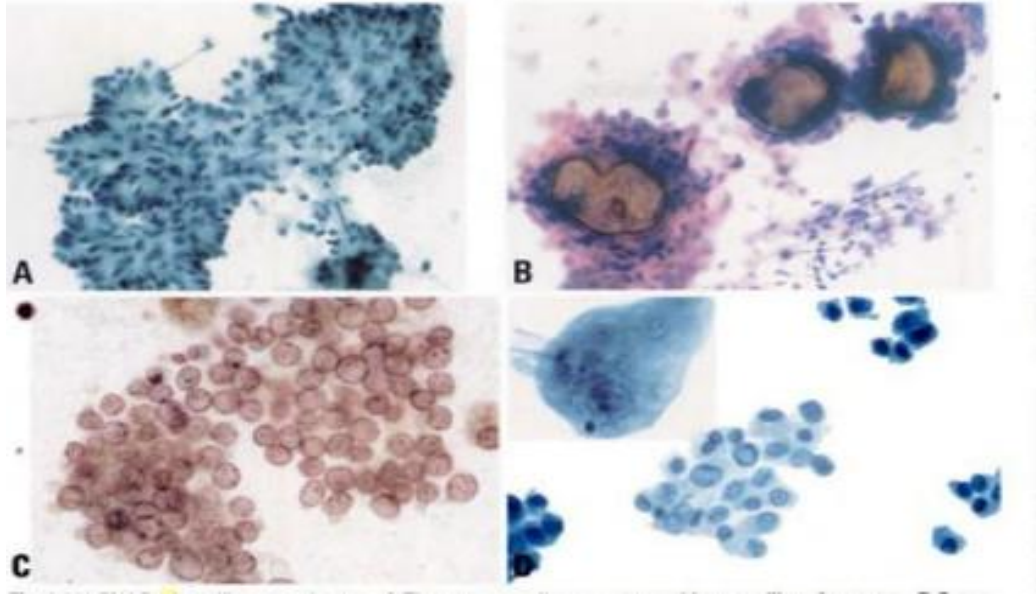
<b>Tanı Kategorisi</b>	<b>Bethesda Sistemine Göre Tahmini Malignansi Riski(%)</b>	<b>Cerrahi Sonrası Gerçek Malignansi Riski (%)</b>
Tanısal olmayan/yetersiz materyal	1-4	20(9-32)
Benign	0-3	2.5(1-10)
Önemi Belirsiz	5-15	14(6-48)
Atipi/Foliküler Lezyon		
Foliküler, Hurthle Hücreli	15-30	25(14-34)
Neoplazi veya şüphesi		
Malignansi açısından şüpheli	60-75	70(53-97)
Malign	97-99	99(94-100)

Tanısal olmayan/yetersiz şeklindeki sitoloji sonuçlarında üç ay sonra USG kılavuzluğunda TİİAB tekrarı önerilir. Biyopsi tekrarı üç aydan kısa süre aralıkla önerilmez. İkinci kez tanısal olmayan sitoloji sonucu elde edilmesi durumunda yüksek şüpheli sonografik özellikleri olmayan nodüllere yakın takip yahut histolojik tanı için cerrahi eksizyon düşünülebilir. Eğer sonografik ya da klinik olarak



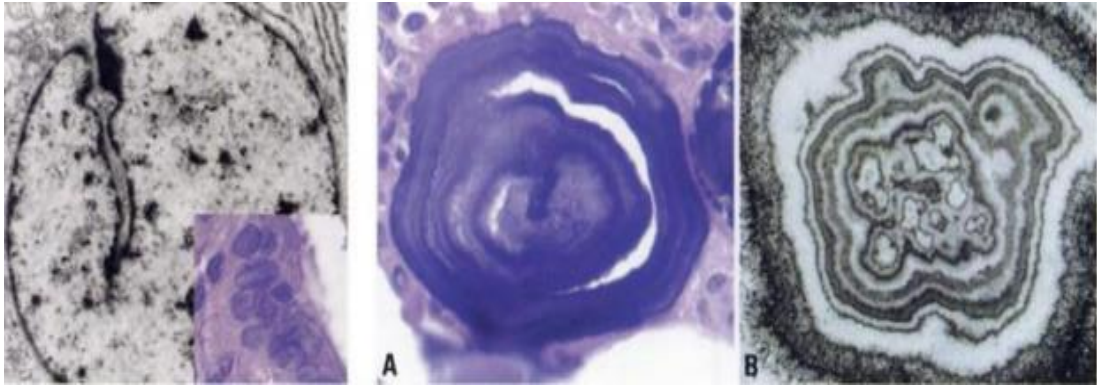
malignite açısından şüpheli özellikler varsa üç aydan kısa sürede TİİAB önerilir. Benign sitoloji şeklinde sonuç alınan nodüllerde acil tanısal çalışma ya da tedavi gerekmez. Sitoloji sonucu primer tiroid malignansı ile uyumlu olan tüm nodüllere cerrahi önerilir. Önemi belirlenemeyen atipi/foliküler lezyon sitoloji sonucu gelen tiroid nodüllerinde klinik ve sonografik açıdan risk değerlendirmesi yapıldıktan sonra TİİAB tekrarlanabilir ya da moleküler testler düşünülebilir. Eğer moleküler çalışmalar ya da TİİAB tekrarından sonuç alınamadıysa tanısal amaçlı cerrahi düşünülebilir. Foliküler neoplazi/foliküler neoplazi şüphesi kategorisi, papiller karsinom nükleer özelliklerinden yoksun, çoğunlukla onkositik (Hurthle) hücreleri içeren foliküler hücreleri içermektedir. Malignansi açısından %15-30 risk taşımaktadır. Eğer moleküler analiz yapılamayacaksa cerrahi düşünülebilir (143).

Papiller tiroid kanseri sıklıkla radyoaktif görüntüleme tipik olarak soğuk tiroid kitlesi ya da servikal lenfadenopati şeklinde bulgu verir. İyot eksikliği olan bölgelerde PTK genellikle multinodüler guatr alanlarına yerleşik, iyot yeterli alanlarda ise normal tiroid bezinde palpe edilebilen nodül şeklinde kendini gösterir. PTK tanısında en etkili yöntem TİİAB'dir. TİİAB sitolojisinde PTK için tanı koydurucu özellikler vardır. Tümör hücreleri papilla yapıları oluşturur(A). Aspiratta Psammom cisimleri bulunmaktadır(B). Çekirdek pudramsı kromatin , kalın bir membran ve çentiklenme özelliğine sahiptir(C). Tümör hücreleri psödoinklüzyon içermektedir(D) (Şekil 2.7) (24).

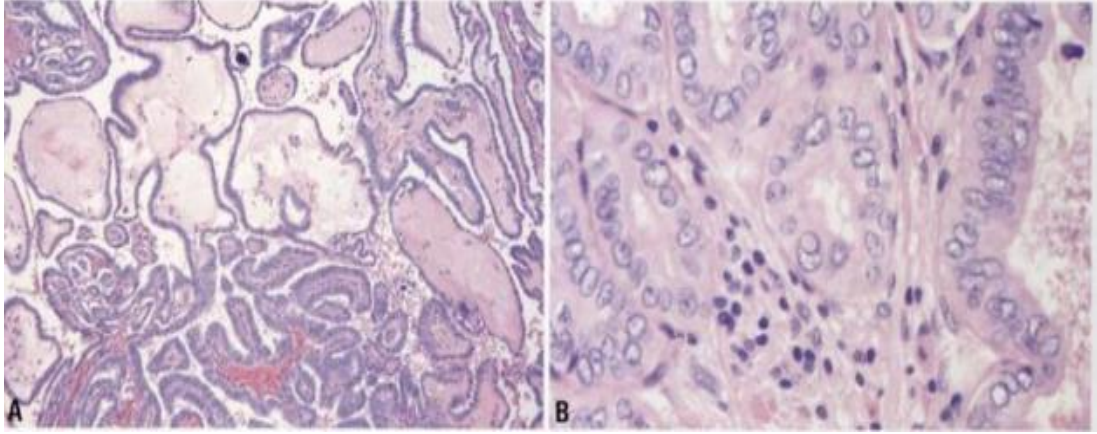


Şekil 2.7. PTK TİİAB/Sitoloji özellikleri (24)

PTK; sitokeratin, tiroglobulin, tiroid transkripsiyon faktör(TTF-1) açısından reaktif, sinaptofizin ve kromagranin açısından negatiftir. PTK tanısını doğrulamak için bazı immünokimyasal belirteçler öne sürülmüştür. Bunlar; S-100 proteini, HLA-DR, östrojen reseptörü, yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin(CK), CK-19 ve RET'tir. Ayrıca galectin-3 ve HBME PTK'de yüksek oranda ifade edilmektedir. (24)



Şekil 2.8. PTK Işık mikroskobunda Psammom cismi görünümü(A), elektron mikroskobunda psammom cismi görünümü (B)(24)



Şekil 2.9. PTK (A)Papilla yapıları (B)üst üste binmiş, çentikli ,cam nükleus ve inklüzyon cisimleri (24)

Tiroid cerrahisi sonrasında , histopatolojik değerlendirme sonucu PTK ‘nin farklı histolojik özellik ve büyüme patterni gösteren varyantları; klasik, mikrokarsinom, enkapsüle, folliküler, diffüz sklerozan, tall cell, kolumnar cell, kribriiform-morular, hobnail, fibromatozis, solid/trabeküler, onkositik, clear cell, warthin benzeri, iğsi hücreli olarak tanımlanmıştır. PTK varyantları arasında; *tall cell*, kolumnar hücreli, hobnail varyantları agresif klinikopatolojik özelliklerle ve kötü prognoz ile ilişkili gösterilen agresif varyantlardır. Klasik ve enkapsüle varyant ise daha iyi prognozlu varyantlardır. Folliküler ve Whartin benzeri varyantların klasik varyant ile benzer prognoza sahip olduğu gösterilmiştir. *Kolumnar cell*‘in prognozunun klasik varyanta göre çeşitli farklılıklar sergilediği saptanmıştır. Diğer varyantlar hakkında ise kesinleşmiş net bir görüşün olmadığı belirtilmiştir (144).

#### **2.4. DTK’de Risk Değerlendirmesi, Skorlama Sistemleri, Preoperatif Değerlendirme**

DTK hastalarında tedavi yönteminin belirlenmesi, kimlerin daha agresif tedavi alması gerektiği, boyun disseksiyonu gerekliliği, radyoaktif iyot tedavi gerekliliği belirlenmesi için çeşitli sınıflama sistemleri geliştirilmiştir. Bunlar TNM, EORTC, AMES, MACIS, NTCTCSR sistemleridir(145). PTK’de düşük riskli hastaların daha az agresif tedavi alması önerildiğinden bu yana, düşük riskli hastaları belirlemek üzere skorlama sistemleri kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada TNM sisteminin MACIS ve AMES sistemlerine göre üstün olduğu gösterilmiştir(146).

Tiroid kanser tanısı TİİAB ve sitolojisi aracılığıyla histolojik olarak konmaktadır. Tiroid kanseri tanısı konduktan sonra preoperatif görüntüleme ve evreleme yapmak hastanın prognoz ve tedavi şeklini değiştirmesi hastalık yönetimi ve izlem stratejileri için önemlidir (147). Preoperatif servikal lenf nodlarına (santral ve boyun kompartmanları) yönelik boyun USG sitolojik olarak malign ya da malignite şüpheli gelen tüm hastalara önerilir. Sonografik olarak şüpheli  $\geq 8-10$  mm lenf nodlarına USG kılavuzluğunda biyopsi ile malignite değerlendirme yapılması tedaviyi değiştirir. Şüpheli servikal lenf nodlarına ince iğne aspirasyonunda Tg yıkama yapılması seçilmiş hastalarda yapılabilir. DTK (özellikle PTK), %20-50 servikal lenf nodu metastazı içerir. Preoperatif USG ile şüpheli servikal adenopati tespit edilerek cerrahi yaklaşım değiştirilir. Metastatik lenf nodlarının doğrulanması USG eşliğindeki ince iğne aspirasyon sitolojisi ve veya Tg yıkama ile Tg ölçülmesiyle yapılabilir. Pre-op MRI, CT gibi yöntemler kullanılması; ileri evre hastalık, invaziv primer tümör, multiple lenf nodu invazyonu düşünülen hastalara önerilir (143).

## **2.5. TNM Sınıflaması ve Evreleme**

Tiroid kanseri için post-op evreleme terapötik stratejilerin geliştirilmesi ve prognostik bilgi elde edilmesi için önerilir. ATA kılavuzlarında en çok önerilen sistem AJCC/UICC (Amerikan Ortak Kanser Komitesi, Uluslararası Kansere Savaş Birliği) TNM (Tümör, Lenf Nodu, Metastaz) evreleme sistemi Tablo 2.5'te gösterilmiştir (143).

Tablo 2.5. AJCC UICC 8. Baskı Diferansiye ve Anaplastik Tiroid Karsinomlarının Sınıflaması ve Evrelemesi

<b>Primer Tümör (T)</b>	<b>Bölgesel Lenf Nodu (N)</b>	
<p><b>TX</b> Primer tümör değerlendirilememiş T0 Primer tümöre ait bulgu yok</p> <p><b>T1</b> Tümörün en büyük boyutu <math>\leq 2</math> cm ve tiroide sınırlı <b>T1a</b> Tümörün en büyük boyutu <math>\leq 1</math> cm ve tiroide sınırlı <b>T1b</b> Tümörün en büyük boyutu <math>&gt;1</math> cm <math>\leq 2</math> cm ve tiroide sınırlı</p> <p><b>T2</b> Tümörün en büyük boyutu <math>&gt;2</math> cm <math>\leq 4</math> cm ve tiroide sınırlı</p> <p><b>T3</b> Tümörün en büyük boyutu <math>&gt;4</math> cm ve tiroide sınırlı veya tiroid dışı olarak yalnızca strap kaslara yayılım var</p> <p><b>T3a</b> Tümör <math>&gt;4</math> cm ve tiroide sınırlı</p> <p><b>T3b</b> Tümör herhangi bir boyutta strap kaslara invazyon</p> <p><b>T4</b> Strap kaslarını aşarak ekstratiroidal invazyon</p> <p><b>T4a</b> Tümör herhangi bir çapta ve tiroid kapsülünü aşarak subkutan yumuşak dokuyu, larinks, trakea, özafagus ya da rekürren laringeal siniri invaze etmiş <b>T4b</b> Tümör herhangi bir çapta prevertebral fasya veya karotik arter veya mediastinal damarları invaze etmiş</p>	<p><b>NX</b> Bölgesel lenf nodu metastazı değerlendirilememiş</p> <p><b>N0</b> Bölgesel lenf nodu metastazı yok</p> <p><b>N1</b> Bölgesel lenf nodu metastazı var</p> <p><b>N1a</b> Level VI veya VII (Pretrakeal, paratrakeal, prelaringeal/Delphian lenf nodu ) lenf nodlarına metastaz</p> <p><b>N1b</b> Unilateral veya bilateral servikal ya da kontralateral boyun lenf nodu (level I, II, III, IV, or V) ya da retrofaringeal lenf nodu metastazı</p>	
	<b>Uzak Metastaz(M)</b>	
	<b>M0</b> Uzak metastaz yok	
	<b>M1</b> Uzak metastaz var	
<b>55 Yaş Altı</b>	<b>55 Yaş Üstü</b>	
<p><b>Evre 1:</b> Herhangi bir T ve N, M0</p> <p><b>Evre 2:</b> Herhangi bir T ve N, M1</p>	<p><b>Evre 1:</b></p> <p>T1a, N0, M0</p> <p>T1b, N0, M0</p> <p>T2, N0, M0</p>	<p><b>Evre2:</b></p> <p>T1, N1, M0</p> <p>T3, N0, M0</p> <p>T2, N1, M0</p> <p>T3, N1, M0</p>
	<p><b>Evre 3:</b></p> <p>T4a, Herhangi bir N, M0</p>	<p><b>Evre 4A:</b></p> <p>T4b, Herhangi bir N, M0</p> <p><b>Evre 4B:</b></p> <p>Herhangi bir T ve N, M1</p>

## 2.6. Papiller Tiroid Kanseri Risk Sınıflandırması

Amerikan Tiroid Cemiyeti (ATA) 2015 yılında PTK'lı hastaları klinikopatolojik prognostik özelliklerine göre risk gruplarına sınıflandırmıştır (Tablo 2.6) (143).

Tablo 2.6. PTK ATA Risk Sınıflaması (143)

Düşük Risk	Orta Risk	Yüksek Risk
Lokal veya uzak metastaz yok	Peritiroidal yumuşak dokulara mikroskopik tümör invazyonu	Peritiroidal yumuşak dokulara makroskopik tümör invazyonu
Makroskobik tümörün tamamı çıkarılmış	Vasküler invazyon olan PTK	İnkomplet tümör rezeksiyonu
Çevre doku ve yapılara tümör invazyonu yok	I131 tedavisi sonrası ilk tüm vücut RAI taramasında tiroid yatağı dışında boyunda tutulum	Uzak metastaz
Agresif tümör histolojisi yok	Agresif tümör histolojisi	Uzak metastaz düşündürülen postoperatif serum Tg yüksekliği
I131 verilmiş ise tedavi sonrası taramada tiroid yatağı dışında tutulum yok	Klinik olarak N1 veya en büyük çapı 5 patolojik N1	Herhangi birinde en büyük çapı $\geq 3$ cm olan patolojik N1 metastatik lenf nodu
Vasküler invazyon yok	Multifokal papiller mikrokarsinom, tiroid dışına yayılım, <i>BRAF V600E</i>	Yaygın vasküler invazyonu olan (>4 odak) FTK
Klinik olarak N0 veya $\leq 5$ patolojik N1 mikrometastazlar (en büyük çapı)		
İntratiroidal, enkapsüle folliküler varyant PTK		
Kapsüler invazyonu olan <4 vasküler invazyon odağı olan İyi differansiye FTK		
İntratiroidal, tek veya multifokal papiller mikrokarsinom, <i>BRAF V600E</i> mutasyonlular dahil		

## **2.7. Papiller Tiroid Kanserinde Prognostik Faktörler**

### **2.7.1. Yaş**

Yaş; PTK için önemli bir prognostik faktördür. Hasta yaşı AMES(Age, Metastases, Extend and Size), MACIS(Metastasis, Age, Completeness, Invasion, Size) ve TNM sınıflama ve evreleme sistemlerinde kabul edilmiştir. Çalışmalar yaşlı hastalarda rekürrens ve kanser sebebiyle ölüm oranının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Yapılan bir çalışmada persistan hastalık (tiroidektomi sonrası tiroglobulin düzeyinin düşmemesi), <40 yaş ve >60 yaş hastalarda daha sık görülmektedir (148).

Ayrıca >60 yaş ve <30 yaş hastalar rekürrens ve bölgesel/uzak metastaz için bağımsız bir prediktör olarak gösterilmiştir(149).

### **2.7.2. Cinsiyet**

Erkek cinsiyetin PTK'deki prognostik değeriyle ilgili literatürde net olmamakla birlikte, ileri yaş ile birlikte erkek cinsiyet hastalığa bağlı ölüm için artmış risk oluşturmaktadır. Erkek cinsiyetin PTK için orta değerinde prognostik değeri olduğunu gösteren çalışmalar vardır (150). Bunun yanı sıra bazı çalışmalarda mortalite rekürrens, ekstratiroidal invazyon, bölgesel ve uzak metastaz oranının erkek cinsiyette daha fazla olduğu gösterilmiştir (151).

### **2.7.3. Tümör Boyutu**

AMES (Age, Metastasis, Extend, Size) sınıflama sistemi >5cm tümörleri yüksek riskli olarak belirlerken, IUCC TNM evreleme sistemi 2ve 4 cm olarak 2 adet ayırıcı tümör boyutu belirlemektedir. Yapılan bir çalışmada >4cm tümör boyutu kanserden ölüm için risk olarak belirlenmiştir. Bir çok çalışma prognostik tümör boyutu sınırı olarak 3-4 cm belirlemiştir(152).

### **2.7.4. Ekstratiroidal Yayılım**

PTK için önemli bir prognostik faktördür. UICC TNM evrelemesine göre T4'e karşılık gelen ve intraoperatif olarak tespit edilen bir durumdur. Ekstratiroidal yayılım tedavi başarısızlığı ve ölüm riskinde artış ile birlikte. TNM evrelemesinde T3 olarak bilinen çevre yumuşak doku ve sternotiroid kasa invazyon mortaliteyi arttırmaktadır. T4 olarak bilinen subkutan yumuşak doku, larinks, trakea, özofagus,

rekürren laringeal sinire yayılım ise özellikle >50 yaş hastalarda yüksek mortalite ve rekürrens ile ilişkili bulunmuştur(153).

### **2.7.5. Lenf Nodu Metastazı**

PTK'da sentinel lenf nodu metastazı görülme oranı %20-90'dır. PTK'de tanı anında lenf nodu metastazı olmasının yaşam beklentisini değiştirmedeği, ancak rekürrens olasılığını arttırdığı öne sürülmüştür (154). 909 adet PTK vakasıyla yapılan bir çalışmada ise, lenf nodu metastazı olan vakaların daha büyük boyutlu, daha ileri evre, daha yüksek postoperatif tiroglobulin seviyesi, daha yüksek rekürrens ve hastalığa bağlı mortalite oranı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (155). Metastatik lenf nodunun sayısı ve büyüklüğü, ektranodal yayılımı hastalık prognozunu belirlemede önemlidir. Metastatik lenf nodu boyutunun 3 cm'den büyük olması rekürrens ve uzak organ metastaz riskini artırmaktadır (156).

### **2.7.6. Uzak Metastaz**

PTK'de uzak metastaz sıklığı <%5'tir. En sık uzak metastaz bölgeleri kemik ve akciğerdir (157). Uzak metastaz varlığı kanser ilişkili ölüm için güçlü bir prediktördür. Bir çalışmada akciğer metastazı olanlarda 10 yıllık sağkalım %30-50 olarak saptanmıştır (158). Durante ve ark. DTK'da kemik metastazı olanların akciğer metastazına sahip olanlara göre daha kötü prognoz sahip olduğunu göstermişlerdir (159). En kötü prognoz ise beyin metastazı olanlarda olup ortalama sağkalım süresi 1 yıl olarak saptanmıştır (160).

### **2.7.7. Histolojik Alt Tip**

PTK'nin ondan fazla mikroskopik varyantı bildirilmiştir. Bunlardan bazıları agresif davranış ve kötü sonuçlarla ilişkilidir. Bunlar tall cell, hobnail, ve kolumnar varyantlarıdır (143). Bu tümörlerin daha ileri yaş ve ileri evrede oldukları, daha yüksek tümör rekürrens oranı olduğu ve lenf nodu metastaz oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (161). Tall cell varyant PTK 'nin en agresif varyantıdır. Yüksek rekürrens oranı ve azalmış yaşam süresi ile ilişkilidir. Çalışmalar bu tip tümörlerde lenf nodu ve uzak metastaz sıklığının fazla olduğunu bildirmiştir. Bunlarda, *BRAF* mutasyon sıklığı %80 civarındadır (161). Kolumnar hücreli varyant uzak metastaz ve kanser ilişkili mortalite açısından yüksek risk taşımaktadır. Bu tümörlerin üçte birinde *BRAF* mutasyonu saptanmaktadır (162). Hobnail varyant uzak metastaz ve



tümör ilişkili ölümle ilişkilidir. BRAF mutasyonu bu tür tümörlerde sıklıkla bulunmaktadır (163).

### 2.7.8. Multifokalite

Yapılan çalışmalarda tiroid kanserinde multifokalite, kötü prognoz ile ilişkili bışınmıştır. Yapılan bir çalışmada multifokalitenin tiroid kanserinde rekürrens, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu gösterilmiş; bu tümörlerin daha agresif tedavi edilmesi gerektiği belirtilmiştir (164). PTK'de multifokalite oranı %18 ile 87,5 arasındadır. Ivan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PTK' de multifokalite oranının yüksek olması sebebiyle nüksü önlemek amacıyla tüm hastalara total tiroidektomi önerilmesi gerekliliği vurgulanmıştır (165). Yossi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PTK multifokalitenin daha ileri yaş, ileri evre hastalık, yüksek rekürrens oranı, yüksek lenf nodu metastaz oranı ile ilişkili olduğunu; ancak bağımsız bir prognostik faktör olmadığı ileri sürülmüştür (166). Multifokalitenin kötü prognozla ilişkili olduğu ve agresif tedavi alması gerektiğini öne süren çalışmalar da vardır.

### 2.7.9. Moleküler Özellikler

PTK prognozunu öngörmeye çeşitli moleküler belirteçlerin rolü araştırılmıştır. Çeşitli çalışmalarda  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun artmış mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun çeşitli klinikopatolojik özellikleri ile; örneğin lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre 4 hastalık, ileri yaş, yüksek rekürrens oranı, agresif histolojik tip, ekstratiroidal yayılım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (167). Bazı çalışmalarda  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun rekürrens için bağımsız bir prediktör olduğu savunulmuştur.  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun agresif klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi gösterilmiştir(168). ATA kılavuzlarında PTK risk değerlendirmesinde  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu varlığına yer verilmiştir. Bir çok çalışmada agresif tiroid kanseri vakalarında  $BRAF$  ile  $TERT$  promotor,  $PIK3CA$ ,  $TP53$ ,  $AKT1$  mutasyonu ile birlikte olduğu gösterilmiştir(120). Yapılan bazı çalışmalarda  $TERT$  promotor mutasyonlarının  $BRAF^{V600E}$  olan hastalarda daha sık olduğu gözlenmiştir, bu iki mutasyonun birlikte bulunması tümör rekürrensi ile ilişkili bulunmuştur (120).

*RET/PTK* kromozomal yeniden düzenlenmesi tiroid kanserinde sık görülen genetik değişikliktir. *RET/PTK3* Çernobil faciası sonrası meydana gelen PTK olgularında daha sık görülmüş ve solid varyant ile ilişkilendirilmiştir. Öte yandan 1970-1985 yılları arasında takip edilen 127 PTK'lı hastada *RET/PTK* kromozomal yeniden düzenlenmesinin klinikopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisi olmadığı gösterilmiştir (169).

*MiRNA* ekspresyonun PTK hastalarında ise tümör dokusunda mir-221, mir-222, mir-146b'nin ekspresyon artışının ekstratiroidal invazyon ile pozitif ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (170).

Membran ilişkili müsinler (Müsin 15, MUC 15), epitel hücrelerinde enfeksiyonlara ve dehidratasyona karşı koruma sağlar. Hücre yüzeyinde reseptör olarak apoptoz, hücre farklılaşması gibi olaylarda rol oynar. Kanser hücrelerinde de buna benzer yolaklarla invazyon ve metastazdan korunma sağlar (171). Nam ve ark. yaptığı bir çalışmada, 45 yaş ve üzerindeki PTK olgularında ve kötü prognozlu PTK'da artmış MUC15 ekspresyonu gösterilmiştir. Aşırı ekspresyonun PTK'da uzak metastaz, multifokalite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (172).

## 2.8. Tedavi

### 2.8.1. Cerrahi Tedavi

>4 cm tümör ya da ekstratiroidal yayılım(Klinik T4) ya da klinik olarak doğrulanmış nodal /metastatik hastalık(N1/M1) olan tiroid kanseri vakaları için başlangıç cerrahi prosedürü total ya da totale yakın tiroidektomidir. Kontrendike bir durum olmadıkça tümör bütünüyle çıkarılmalıdır (143).

1-4 cm arasındaki tümörlerde, ekstratiroidal yayılım veya lenf nodu metastazı için klinik bir kanıt yoksa (N0) başlangıç prosedür (total/totaleyakın tiroidektomi) ya da unilateral prosedür(lobektomidir). Lobektomi, düşük riskli PTK ve FTK için yeterlidir. İleri yaş(>45), kontralateral tiroid nodülü, baş-boyun bölgesine radyoterapi öyküsü olan kişilerde bilateral prosedür önerilir (143).

Boyutu <1cm tümörlerdeki ekstratiroidal yayılımı olmayan ve N0 tümörlerde tercih edilecek yöntem lobektomi olmalıdır. Tiroid lobektomi küçük, unifokal, intratiroidal karsinom için yeterlidir (143).

Total tiroidektomi ile lobektomiyi karşılaştıran çalışmalar mevcuttur. Barney ve arkadaşlarının 23.605 DTK vakasıyla yaptığı bir çalışmada total tiroidektomi ve lobektomi arasında 10 yıllık yaşam süresi açısından belirgin bir fark bulunamamıştır (173). Keza Mendelson ve arkadaşlarının 22.724 PTK vakasıyla yaptığı çalışmada, total tiroidektomi ve lobektomi arasında on yıllık yaşam süresi açısından belirgin bir fark bulunamamıştır (174).

Terapötik santral kompartman (seviye 6) boyun disseksiyonu, klinik olarak santral nod tutulumu kanıtı olan hastalarda düşünülmelidir. Proflaktik santral kompartman boyun disseksiyonu PTK'de santral lenf nodu tutulumu ile birlikte T3 ya da T4 tümör veya lateral lenf nodu tutulumu olanlarda düşünülmelidir (143).

Proflaktik santral boyun disseksiyonu olmaksızın tiroidektomi, T1/T2, non-invaziv, klinik olarak nodal tutulum olmayan (N0) PTK veya bir çok FTK'de düşünülmelidir.

Terapötik lateral boyun kompartmanı lenf nodu disseksiyonu, biyopsi ile kanıtlanmış metastatik lateral servikal lenfadenopati olan vakalarda düşünülmelidir (143).

Hastaların postoperatif tedavi sonrası risk değerlendirmesi Tablo 2.7'de gösterilmiştir.

Tablo 2.7. ATA 2009 Tedavi Sonrası Risk Değerlendirmesi (143)

ATA Düşük Risk	<p>Papiller Tiroid Kanseri (ve aşağıdakilerden herhangi biri)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lokal ya da uzak metastaz yok</li> <li>• Makroskopik tümörün tamamı çıkarılmış</li> <li>• Bölgesel doku ya da yapılara tümör invazyonu yok</li> <li>• Agresif histolojide olmayan tümör(örneğin; <i>tall cell, hobnail varyant, kolumnar hücreli varyant</i>)</li> <li>• RAİ ablasyon sonrası tiroid yatağı dışında hiç metastatik odak olmaması</li> <li>• Vasküler invazyon olmaması</li> <li>• Klinik olarak N0 ya da 5den az N1 mikrometastaz(&lt;0.2 cm)</li> </ul> <p>İntratiroidal, enkapsüle folliküler varyant PTK İntratiroidal , vasküler invazyon olmayan ya da &lt;4 odak olan FTK İntratiroidal , papiller mikrokarsinom, unifokal ya da multifokal , <i>BRAF<sup>V600E</sup></i> mutasyonu pozitif</p>
ATA Orta Risk	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peritiroidal yumuşak dokulara mikroinvazyon</li> <li>• İlk RAİ ablasyon tedavisi sonrası boyunda metastatik odak olması</li> <li>• Agresif histoloji (<i>tall cell, kolumnar hücreli, hobnail varyant</i>)</li> <li>• PTK , vasküler invazyon içeren</li> <li>• Klinik olarak N1 ya da &gt;5 patolojik N1 lenf nodu (&lt;3cm)</li> <li>• Multifokal papiller tiroid kanseri (ekstratiroidal yayılım ve <i>BRAF<sup>V600E</sup></i> mutasyonu pozitif olan</li> </ul>
ATA Yüksek Risk	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peritiroidal dokulara makroskopik invazyon</li> <li>• Tamamlanamamış tümör rezeksiyonu</li> <li>• Uzak Metastaz</li> <li>• Postoperatif serum tiroglobulin düzeyi uzak metastazı destekliyorsa</li> <li>• Patolojik N1 ya da herhangi bir metastatik lenf nodu <math>\geq 3</math>cm ise</li> <li>• &gt;4 vasküler invazyon odağı olan FTK</li> </ul>

### 2.8.2. Radyoaktif İyot (RAİ) Tedavisi

Cerrahi sonrasında, kalan dokunun ablasyonu, adjuvan (nüksü/mortaliteyi azaltmak için) ya da persistan hastalığı olanlarda tedavi amacıyla RAİ uygulanabilir. Bakiye doku ablasyonu amacıyla düşük riskli ve az sayıda risk faktörü taşıyan orta riskli hastalarda önerilen RAİ dozu 30 mCi'dir. Rezidüel tümör varlığında ise önerilen dozlar 100-200 mCi'dir. Genellikle lenf nodu metastazı varlığında 150 mCi, uzak organ metastazı varlığında 200 mCi dozlar seçilmektedir. Daha kötü prognoza sahip histopatolojik alt tiplerin varlığında ya da tiroid dışına invazyon/vasküler invazyon varlığında da >100 mCi dozlar seçilebilir (139).

ATA kılavuzlarına göre, düşük riskli DTK vakalarında tiroidektomi sonrası rutin RAİ tedavisi önerilmez (143). Unifokal papiller mikrokarsinomda lobektomi ya da total tiroidektomi sonrası rutin RAİ tedavisi önerilmez (143). Orta riskli DTK vakalarında tiroidektomi sonrası RAİ tedavisi önerilir (143). Yüksek riskli DTK vakalarında tiroidektomi sonrasında RAİ tedavisi rutin olarak önerilmektedir (143).

RAİ tedavisi gebelik ve emzirme durumlarında kontraendikedir. Klinik duruma bağlı olarak, RAİ tedavisi emziren kadınlar için en az 3 ay süreyle emzirmeyi bırakana kadar ertelenebilir ve RAİ aldıktan sonra 6-12 ay boyunca da gebelikten kaçınılmalıdır (143).

### 2.8.3. Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi

Tedavi yanıtının erken dönem değerlendirmesinde fizik muayene, LT4 tedavisi altında TSH ölçümü, serum Tg ve antiTg ölçümleri ve boyun US kullanılır. Takiplerde lokal nüks ya da uzak metastaza işaret edecek değişikliklerin varlığında, uyarılmış Tg ve/veya TVİT ve gerekirse ileri görüntüleme yöntemlerine (BT, MRG, FDG-PET/BT) başvurulur. Takip zamanı olarak RAİ sonrası 3. ayda TSH, Tg, antiTg ölçümleri, 3-6. aylarda boyun US değerlendirmesi önerilmektedir. Orta, yüksek riskli hastalarda ek olarak 3-6. aylarda boyun US, Tg, anti-Tg ölçümlerine 9-12. aylarda rhTSH uyarısı ile veya endojen hipotiroidi oluşturularak yapılan Tg stimülasyonunun da eklenmesi önerilir. Takiplerde yeni saptanan anti-Tg yükselmesi ya da başlangıçtaki anti-Tg'nin düşmemesi durumunda nüks düşünülmelidir(139, 143). Anti-Tg antikorları negatif olanlarda stimüle Tg düzeyinin <1 ng/ml olması tam ablasyondur (139, 143).

PTK hastalarının uzun dönem takiplerinde de erken dönemdeki parametreler kullanılır. Düşük ve orta riskli grup tam remisyonda ise TSH düzeyinin 0,5-2 mU/L arasında olması önerilir. Yüksek riskli hastalar remisyonda ise TSH düzeylerinin en az beş yıl 0,1-0,5 mU/L düzeylerinde olması önerilmektedir. Boyun US'de şüpheli lenf nodlarından biyopsi almak ve aspirattan Tg yıkaması yapmak lenf nodu metastazını saptamada en değerli yöntemdir. Orta ve yüksek riskli hastalarda; tedaviye cevabın biyokimyasal, yapısal yetersiz veya indetermine olması durumunda Tg düzeylerinin en az 6-12 ayda bir ölçülmesi önerilmektedir. Yapısal yetersiz cevabı olan hastalarda TSH 0,5-2 mU/L olması önerilmektedir (143).

Total tiroidektomi sonrası RAI almış DTK'li hastalarda tedavi yanıtının değerlendirilmesi Tablo 2.8'de gösterilmiştir (143).

Tablo 2.8. TTx Yapılmış ve RAI Almış DTK'li Hastalarda Tedavi Yanıtı (139)  
Değerlendirmesi

<b>Kategori</b>	<b>Tanımlama</b>
Mükemmel cevap	Klinik, biyokimyasal, yapısal olarak hastalık olmaması. Negatif görüntüleme ve suprese Tg
Biyokimyasal yetersiz cevap	Lokelize edilemeyen hastalığa rağmen anormal Tg veya yükselen anti-Tg düzeylerinin olması Negatif görüntüleme ve suprese Tg $\geq 1$ ng/mL veya stimüle Tg $\geq 10$ ng/mL veya yükselen anti-Tg antikoları
Yapısal yetersiz cevap	Tg ve anti-Tg pozitifliğinden bağımsız olarak yapısal ya da fonksiyonel hastalık olması
İndetermine cevap	Benign veya malign olarak sınıflanamayan ve spesifik olmayan biyokimyasal veya yapısal bulguların olması. Yapısal hastalık bulgusu olmamakla birlikte, stabil veya azalan anti-Tg antikor düzeyleri olan hastalar bu gruba girerler. Fonksiyonel ya da kesitsel görüntüleme tetkiklerinde spesifik olmayan bulgular (bir santimetreden küçük avasküler tiroid yatağı nodülleri, atipik görünümlü biyopsi yapılmamış servikal lenf nodları) TVT'de tiroid yatağında zayıf tutulum Bazal Tg ölçülebilir ama $<10$ ng/ml Veya Yapısal yada fonksiyonel hastalık yokluğunda stabil veya azalan anti-Tg antikoları

Tablo 2.9. TTx Yapılmış ve RAI Ablasyon Tedavisi Yapılmamış ya da Lobektomi Yapılmış DTK'li Hastalarda Tedavi Cevabı Değerlendirmesi(139)

<b>Kategori</b>	<b>TTx yapılmış, RAI ablasyon yapılmamış</b>	<b>Lobektomi</b>
Mükemmel cevap	Negatif görüntüleme ve anti-Tg negatif ve bazal Tg	Stabil, bazal Tg
Biyokimyasal yetersiz cevap	Negatif görüntüleme ve bazal Tg >5 ng/mL veya stimüle Tg >10 ng/mL veya Tg düzeyleri benzer TSH düzeylerine rağmen artıyor veya artan anti-Tg antikor düzeyleri	Negatif görüntüleme ve bazal Tg >30 ng/mL veya Tg düzeyleri benzer TSH düzeylerinde giderek artıyor veya artan anti-Tg antikor düzeyleri
Yapısal yetersiz cevap	Tg ve anti-Tg pozitifliğinden bağımsız olarak yapısal ya da fonksiyonel hastalık varlığı	Tg ve anti-Tg pozitifliğinden bağımsız olarak yapısal ya da fonksiyonel hastalık varlığı
İndetermine cevap	Görüntüleme tetkiklerinde spesifik olmayan bulgular veya RAI taramada tiroid yatağında zayıf tutulum veya stimüle olmayan Tg 0,2-5 ng/mL veya stimüle Tg 2-10 ng/mL veya anti-Tg antikorları stabil veya yapısal ya da fonksiyonel hastalık yokluğunda azalıyor	Görüntüleme tetkiklerinde spesifik olmayan bulgular veya anti-Tg antikorları stabil veya yapısal ya da fonksiyonel hastalık yokluğunda azalıyor



### 3. BİREYLER VE YÖNTEM

#### 3.1. Hastaların Belirlenmesi ve Hastalara ait Doku Örnekleri

Çalışmaya 18 yaş ve üzerinde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ya da başka bir merkezde total tiroidektomi yapılmış, 2004-2021 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi patoloji Anabilim Dalında tiroidektomi sonrası patolojik olarak papiller tiroid kanseri tanısı doğrulanan ve arşivlenmiş; metastaz durumu USG, BT ve/veya tüm vücut I<sup>131</sup> taraması yöntemleriyle belirlenmiş 16 adet uzak metastaz olan 26 adet uzak metastaz olmayan toplam 42 PTK vakası dahil edildi. Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde takiplerine devam eden hastaların demografik (yaş, cinsiyet, ek malignite) verileri, histopatolojik (tümör boyutu, tümör varyantı, multifokalite, ekstratiroidal yayılım, lenfovasküler invazyon, kapsül invazyonu, evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz) verileri, preoperatif boyun USG/BT görüntüleri, postoperatif RAİ dozları, uygulanan cerrahi yöntemi (total tiroidektomi ve/veya lenf nodu disseksiyonu), postoperatif tiroglobulin seviyeleri, nüks durumu, izlem süresi ve sağkalım durumlarına Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Nucleus Sistemi aracıyla ve hasta dosyalarından elde edildi. Tüm hastaların total tiroidektomi sonrası deneyimli patologlar tarafından Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre PTK tanısı belirlendi. Hastaların tümör boyutu, histolojik alt tip, kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon, multifokalite, cerrahi sınır bilgileri patoloji raporundan elde edildi. Tüm hastaların evrelemesi AJCC/UICC TNM evreleme sistemine uygun yapıldı.

#### 3.2. Çalışma Protokolü

Toplam 42 hastanın DNA/RNA Ekstraksiyonu 33 hastada primer tiroid dokusundan, 6 hastada lenf nodu metastazından, 3 hastada uzak metastaz dokusundan (1'i akciğer, 2'si kemik) dokusundan elde edildi. Tümör dokuları ve metastatik dokulardaki genetik analiz yapılabilecek en iyi bölgeler deneyimli patologlar tarafından belirlendi.

##### 3.2.1. Paraffin Bloktan DNA Ekstraksiyonu

Paraffin bloklardan DNA ayrıştırılması için Genom Firması'na ait 106-101 Exgene Cell SV FFPE DNA İzolasyon Kit'i kullanıldı. Kılavuzda yazan basamaklar

sırasıyla uygulandı. Paraffin bloktan 5  $\mu$  olacak şekilde 8 adet kesit alındı. Preparatlardaki parafinlerin erimesi için 75 °C'deki etüvde 60 dakika tutuldu. 2 dakika temiz ksilene konuldu ve bu işlem iki kez tekrarlandı. Temiz ayrı bir ksilende 10 dakika bekletildi. Ksilenden çıkan preparatlar %100'lük alkolden iki defa geçirildi. Alkolün buharlaşması ve camların kuruması beklendi. Preparatlar üzerinden çalışılacak alan kazınarak 2 ml'lik eppendorf tüplere yerleştirildi. Tüplere 180  $\mu$ l CL buffer ve 20  $\mu$ l proteinaz K eklenerek 15 sn karıştırıldı. 56°C'de overnight erimeye bırakıldı. Santrifüj ile kapakta biriken damlacıklar alındı, 200  $\mu$ l BL buffer eklendi ve 72°C'de 10 dakika inkübe edildi. 200  $\mu$ l %100'lük etanol eklendi, iyice karıştırılarak kısa santrifüj yapıldı. Karışım Column Type G tüplerine transfer edildi, 15000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi. 600  $\mu$ l buffer BW eklenerek yıkama yapıldı ve 15000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtrenin kuruması için boş tüpler maksimum hızda santrifüj edildi. Filtreli tüpler temiz bir eppendorfa yerleştirildi. DNA'yı bağlandığı fitreden ayırmak için 60  $\mu$ l AE eklendi. 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi. DNA miktarını arttırmak için 30  $\mu$ l buffer AE ile işlem tekrarlandı. Eppendorf tüpte toplanan kısım testler için gerekli olan DNA içeren kısımdır.

### **3.2.2. Paraffin Bloktan RNA Ekstraksiyonu**

Parafin bloklardan RNA ayrıştırılması için, Qiagen FFPE RNA İzolasyon Kitler'i kullanıldı. Kılavuzda yazan basamaklar sırasıyla uygulandı. Dokunun büyüklüğüne göre her biri 5 $\mu$  kalınlığında 4-5 adet kesit alınarak bir eppendorf tüpe yerleştirildi. Tüplere 1ml ksilen eklendi ve 10 saniye kadar vortekslendi. En yüksek hızda 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilip supernatant atıldı. Tüplerin ağzı açık bir şekilde oda sıcaklığında kuruması beklendi. 150  $\mu$ l buffer PKD ile pellet karıştırıldı , içine 10  $\mu$ l proteinaz K eklendi. 55°C'de 15 dakika ardından 80°C'de 15 dakika inkübe edildi. Bağlanma ortamının sağlanması için 320  $\mu$ l Buffer RBC eklendi. Karışımın tamamı gDNA Eliminator Spin tüplerine transfer edildi. 8.000g(10.000rpm)'den yüksek hızda 30 saniye santrifüj edildi. Aşağıda kalan sıvı döküldü. Son işlem tüpte kalan örnek için tekrarlandı. 500  $\mu$ l Buffer RPE tüpe eklendi ve 8.000g (10.000rpm)'den yüksek hızda yıkama amaçlı olarak santrifüj edildi ve aşağısında kalan sıvı döküldü. RNeasy MinElute Spin kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. Tam filtrenin üstüne 35  $\mu$ l RNase-free water eklenerek

en yüksek hızda 1 dakika santrifüj edildi. Eppendorf tüpte toplanan kısım RNA içeren kısımdır.

### 3.2.3. Mutasyon Analizi

DNA ve RNA ayrıştırılması işlemi sonrası ekzon 15’de yer alan *BRAF* (Tüm mutasyonlar *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu idi) kodon 61 *NRAS* mutasyon analizi Genom Firması’na ait THDNA-RT64 Thyroid Cancer Mutation Det. Kit ve kromozom 5 üzerindeki Tert Promoter mutasyonu TERT C250T ve C228T Mutation Det. Kit aracılığıyla hot spot noktalar belirlendikten sonra PCR ve sanger sekanslama yöntemi aracılığıyla yapıldı.

### 3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, IBM SPSS software versiyon 25.0 programı ile yapılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki ‘Pearson ki kare’ veya ‘Fisher kesin olasılık testi’ ile incelenmiştir. Sayısal değişkenler iki grup açısından normal dağılım gösterdiğinde ‘iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi’ normal dağılımında ‘Mann Whitney U testi’ ile incelenmiştir. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler ortalama +/- standart sapma veya ortanca (minimum-maximum) olarak belirlenmiştir. P değeri <0.05 altında olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 3.4. Araştırmanın Etik Yönü

“Papiller tiroid kanseri hastalarında BRAF, NRAS, TERT Promoter mutasyon sıklığının klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz ile ilişkisinin incelenmesi” başlıklı proje önerisi Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nda değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucu GO 21/569 proje numarası ile 20.04.2021 tarih ve 2021/09-08 karar numaralı etik kurul onayı alınmıştır.

#### 4. BULGULAR

Çalışma toplam 42 PTK vakasının klinik, histopatolojik, genetik açıdan değerlendirildiği kesitsel bir kohort çalışmasıdır. Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma ve Nükleer Onkoloji bölümlerinde takip edilen toplam 42 PTK vakası dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen vakaların %38.1'i (n=16) uzak metastaz olan ve %61.9'u (n=26) uzak metastaz olmayan vakalardan oluşmaktaydı. Hastaların tanı anındaki ortalama yaşı 52(21-80), ortalama tümör boyutu  $2.25 \pm 1.25$ (SD) cm idi. Vakaların ortalama izlem süresi 41.38 (1-168) ay idi. Vakaların tamamının başlangıç tedavi yöntemi, total tiroidektomi idi. Vakaların hepsi en az bir kez RAİ tedavisi almıştı. Vakaların aldıkları RAİ dozu  $150 \pm 62.5$  mCi (150-450) mCi idi. Vakaların postoperatif tiroglobulin değeri  $8.3 \pm 1616,6$  ng/ml (0.2-8947) idi. İzlemede hastaların %16.7'sinde (n=7) nüks görüldü. Toplam 42 vakanın klinikopatolojik özellikleri Tablo4.1'de gösterilmiştir.

Uzak metastaz olan 16 hastanın metastaz durumları bilgisayarlı tomografi, FDG-PET, Tüm Vücut I131 ile tarama aracılığıyla doğrulanmıştı. Uzak metastaz olan 16 hastanın 8 tanesinde (%50) akciğer metastazı, 5 tanesinde kemik metastazı (%31,2), 3 tanesinde (%18.8) akciğer ve kemik metastazı birlikte bulunmaktaydı. Uzak metastaz olan vakaların tanı anındaki ortalama yaşı  $58.19 \pm 15.51$ , ortalama tümör boyutu  $2.55 \pm 0,09$  cm idi. Uzak metastaz olan vakalar ile uzak metastaz olmayan vakaların klinikopatolojik özellikleri Tablo4.2'de verilmiştir. Çalışmada PTK vakalarında uzak metastaz ile cinsiyet, tanı anındaki yaş ve tümör boyutu, multifokalite ve lenf nodu metastazı arasında ilişki saptanmadı. Agresif histolojik varyant (p=0,008), kapsül invazyonu (p=0,001), lenfovasküler invazyon (p=0,001), ekstratiroidal invazyon (p=0,002), ileri evre (p=0,002) ve nüks( p=0,008) uzak metastaz grubunda, olmayan gruba göre daha sık olarak saptandı. Uzak metastaz olan ve olmayan gruplar arasında mortalite açısından anlamlı fark bulundu (uzak metastaz olan grupta mortalitenin daha yüksek olduğu şeklinde)(p=0,002).

Tablo 4.1. Tüm PTK Vakalarının Demografik ve Klinikopatolojik Özellikleri (n=42)

Özellikler	%(n)
<b>Cinsiyet</b>	
Kadın	%50(21)
Erkek	%50(21)
<b>Yaş</b>	
≤45	%33,3(14)
>45	%66,7(28)
<b>Ek Malignite</b>	
var	%11,9(5)
yok	%88,1(38)
<b>Tümör Boyutu(cm)</b>	
>1-≤2	%42,9(18)
>2-≤4	%42,9(18)
>4	%14,3(6)
<b>Histopatolojik Alt Tip</b>	
Agresif Varyant	%16,7(7)
Agresif Olmayan Varyant	%83,3(35)
<b>Kapsül İnvazyonu</b>	
var	%38,1(16)
yok	%61,9(26)
<b>Lenfovasküler İnvazyon</b>	
var	%42,9(18)
yok	%57,1(24)
<b>Multifokalite</b>	
var	%61,9(27)
yok	%38,1(16)
<b>Ekstratiroidal İnvazyon</b>	
var	%57,1(24)
yok	%42,9(18)
<b>Lenf Nodu Metastazı</b>	
var	%90,5(38)
yok	%9,5(4)
<b>Uzak Metastaz</b>	
var	%38,1(16)
yok	%61,9(26)
<b>Evre(TNM,AJCC7/AJCC8)</b>	
Evre1-2	%28,5(12)
Evre3-4	%72,5(30)
<b>Nüks</b>	
var	%16,7 (7)
yok	%83,3 (35)
Total Tiroidektomi	%100(42)
RAİ Dozu(mci)	150(150-450)
İzlem Süresi(ay)	34 (1-168)
Postoperatif Tiroglobulin(ng/ml)	8,3 (0,2-8947)
Mortalite	6(%14,3)

Tablo 4.2. Uzak Metastaz Olan ve Olmayan PTK Vakalarının Klinikopatolojik Özellikleri

Özellik	Uzak Metastaz(% ,n)		P Değeri
	Var(n=16)	Yok(n=26)	
Cinsiyet			0,525
Kadın	%33,7(5)	59,4(10)	
Erkek	%67,3(11)	40,6(6)	
Yaş(yıl)			0,822
<45	%25(4)	34,6 (9)	
≥45	%75(10)	65,4(17)	
Tümör Boyutu(cm)			0,259
mean±SD(tanı anı)	3,26±1,76	2,44±1,34	0,096
>1-≤2	% 25(4)	%30,8(8)	
>2-≤4	%37,5(6)	% 57,7(15)	
>4	%37,5(6)	%11,5(3)	
Histopatolojik Alt Tip			<b>0,008</b>
Agresif varyant	%37,5(6/16)	% 3,8(1)	
Agresif olmayan varyant	%62,5(10/16)	%96,2(25)	
Kapsül İnvazyonu			<b>0,001</b>
var	%68,8(11/16)	%19,2(5)	
yok	% 31,3(5/16)	% 80,8(21)	
Lenfovasküler İnvazyon			<b>0,001</b>
var	%81,3(13/16)	%19,2(5)	
yok	%18,8(3/16)	%61,9(21)	
Multifokalite			0,317
var	%73,3(11/16)	%57,7(15)	
yok	%26,7(15/26)	%42,3(11)	
Ekstratiroidal İnvazyon			<b>0,002</b>
var	%87,5(14/16)	%38,5(10)	
yok	%12,5(2/16)	%61,5(16)	
Lenf Nodu Metastazı			0,146
var	%81,3(13/16)	%96,2(25/26)	
yok	%75(3/16)	%3,8(1/26)	
TNM			<b>0,002</b>
Evre(AJCC7/AJCC8)			
Evre1-2	%43,7(5/16)	%89,1(23/26)	
Evre3-4	% 57,3(11/16)	% 11,9(3/16)	
Nüks			<b>0,008</b>
var	%37,5(6/16)	%3,8(1/26)	
yok	%62,5(10/16)	% 96,2(25/26)	
Mortalite	%37,5(6)	%0(0)	<b>0,002</b>

SD:Standart Deviasyon

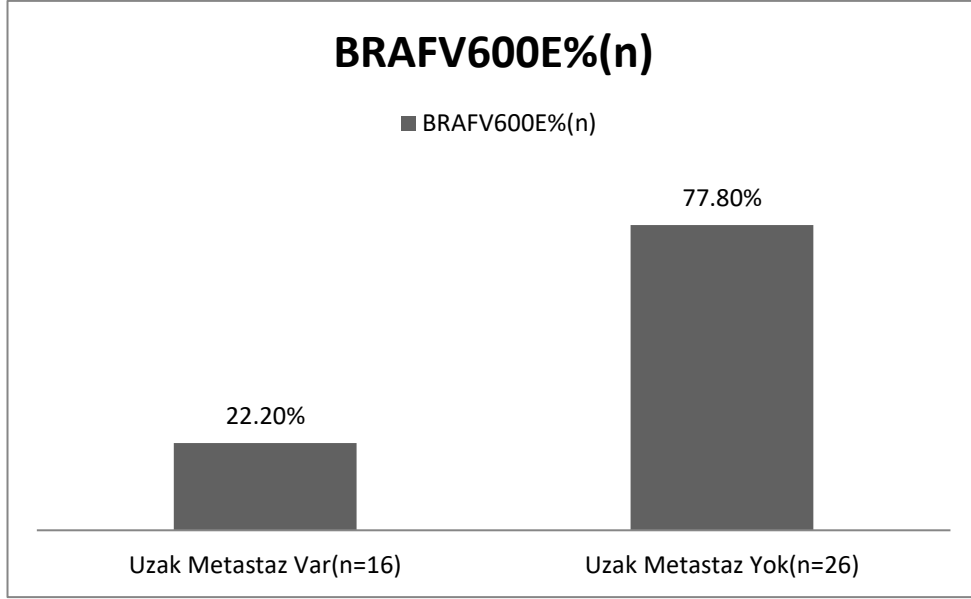
Mutasyon analizi için seçilen parafin bloklar 33 hastada primer tümör dokusundan, 6 tanesi metastatik lenf nodundan, 3 tanesi (1 tanesi akciğer, 2 tanesi kemik) metastaz dokusundan oluşmaktaydı.

Vakaların %64.3'ünde(27/42) *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu, %9.5'inde(4/42) *TERT Promoter* mutasyonu saptandı. Bu mutasyonların hepsi C228T pozisyonundaki mutasyonlar idi. Vakaların hiçbirinde(0/42) *NRAS* mutasyonu saptanmadı.

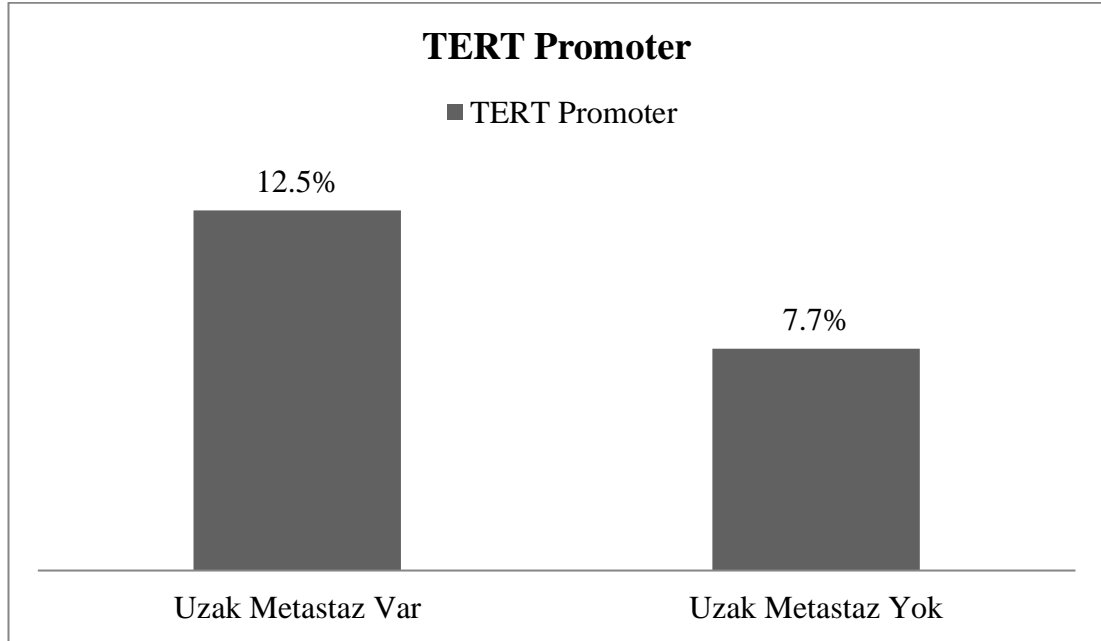
Uzak metastaz olan ve olmayan gruplarda *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT promoter* sıklıkları Tablo 4.3'te gösterilmiştir. Uzak metastaz olan vakaların %22.2'sinde (6/15), uzak metastaz olmayan vakaların %77.8'inde *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu mevcuttu (21/25)(p=0,006) (Şekil4.1). Uzak metastaz olan vakaların %12.5'inde(2/16) *TERT Promoter* mutasyonu saptanmış olup, uzak metastaz olmayan vakaların %7.7' sinde (2/26) *TERT Promoter* mutasyonu saptandı. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p=0,628) (Şekil4.2).

Tablo 4.3. *BRAF*<sup>V600E</sup> ve *TERT Promoter* Mutasyon Ve Uzak Metastaz ile ilişkisi

Mutasyon Pozitifliği	Uzak Metastaz Olan Grup	Uzak metastaz Olmayan Grup	P değeri
<i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> n=27	%22,2 (n=6)	%77,8(n=21)	<b>0,006</b>
<i>TERT Promoter</i> (C228T) n=4	%12,5(n=2)	%7,7(n=2)	0,628
<i>BRAF</i> <sup>V600E</sup> ve <i>TERT Promoter</i> (C228T) birlikteliği n=3	%33,3(n=1)	%66,6(n=2)	1.000
<i>NRAS</i>	%0(n=0)	%0 (n=0)	



Şekil 4.1. BRAF<sup>V600E</sup> Mutasyonu Sıklığı ve Uzak Metastaz İlişkisi



Şekil 4.2. TERT Promoter Mutasyonu Sıklığı ve Uzak Metastaz İlişkisi

Tablo 4.4'te belirtildiği gibi, *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu pozitif grup, negatif grupla karşılaştırıldığında, cinsiyet, yaş dağılımı (<45, ≥45), tümör boyutu, histolojik agresif alt tip dağılımı, kapsül ve lenfovasküler invazyon varlığı, multifokalite, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı varlığı, tümör evresi, nüksü açısından arada anlamlı fark yoktu. Mortalite açısından *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu pozitif grup ile



negatif grup arasında istatistiksel açıdan fark saptandı ( $BRAF^{V600E}$  negatif grupta mortalitenin daha yüksek olduğu şeklinde)( $p=0,03$ ).

Tablo 4.4.  $BRAF^{V600E}$  Mutasyonu ile Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki

Özellik	$BRAF^{V600E}$		P Değeri
	Pozitif	Negatif	
Cinsiyet			0,500
Kadın	%44,4(12)	%61,5(8)	
Erkek	%55,6(15)	%38,5(5)	
Yaş			0,822
<45	%25,9(7/27)	%40,1(3)	
≥45	%74,1(20/27)	%59,9(10)	
Tümör Boyutu(cm)			0,733
>1-≤2	%44,4(12)	%38,5(5)	
>2-≤4	%44,4(12)	%38,5(5)	
>4	%11,1(3)	%23,1(3)	
Histopatolojik Alt Tip			1,000
Agresif varyant	%18,5(5/27)	%15,4(2)	
Agresif Olmayan Varyant	%81,5(22/27)	%84,6(11)	
Kapsül İnvazyonu			0,155
var	%25,9(7/27)	%53,8(7)	
yok	%74,1(20/27)	%46,2(6)	
Lenfovasküler İnvazyon			0,171
var	%33,3(9/27)	%61,5(8)	
yok	%66,7(18/27)	%38,5(5)	
Multifokalite			0,287
var	%70,4(19/27)	%48,7(6)	
yok	%29,6(8/27)	%51,2(13)	
Ekstratiroidal İnvazyon			0,720
var	%55,6(15)	%61,5(8)	
yok	%44,4(12)	%38,5(5)	
Lenf Nodu Metastazı			0,156
var	%25,3(7)	%53,6(7)	
yok	%74,7(20)	%46,4(6)	
Evre(AJCC/IUU)			0,096
Evre1-2	%25,9(7)	%38,5(5)	
Evre3-4	%74(20)	%61,5(8)	
Nüks			0,662
var	%14,8(4)	%23,1(3)	
yok	%85,2(23)	%76,9(10)	
Mortalite			<b>0,03</b>
	%3,7(1/27)	%30,8(4)	

Tablo 4.4'te belirtildiği gibi, *TERT Promoter* mutasyonu pozitif grup, negatif grupla karşılaştırıldığında cinsiyet, yaş dağılımı(<45, ≥45), tümör boyutu, histolojik agresif alt tip dağılımı, kapsül ve lenfovasküler invazyon varlığı, multifokalite, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı varlığı, tümör evresi ve nüksü açısından arada anlamlı fark yoktu.

Tablo 4.5. TERT Promoter Mutasyonu ile Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki

Özellik	TERT Promoter(C228T)		P Değeri
	Pozitif	Negatif	
Cinsiyet			0,125
Kadın	%75(3)	%52,6(20/38)	
Erkek	%25(1)	%47,4(18/38)	
Yaş			0,283
<45	%0(0)	%36,8(14/38)	
≥45	%100(4)	%63,2(24/38)	
Tümör Boyutu(cm)			0,230
>1-≤2	%0(0)	%47,4(18/38)	
>2-≤4	%75(3)	%39,5(15/38)	
>4	%25(1)	%13,2(5/38)	
Histopatolojik Alt Tip			0,123
Agresif Varyant	%50(2)	%13,2(5/38)	
Agresif Olmayan Varyant	%50(2)	%86,8(33/38)	
Kapsül İnvazyonu			0,146
var	%75(3)	%34,2(13/38)	
yok	%25(1)	%65,8(25/38)	
Lenfovasküler İnvazyon			0,297
var	%75(3)	%39,5(15/38)	
yok	%25,4(1)	%60,5(23/38)	
Multifokalite			0,615
var	%50(2)	%64,9(24/38)	
yok	%50(2)	%35,1(14/38)	
Ekstratiroidal İnvazyon			0,623
var	%75(3)	%55,3(21/38)	
yok	%25(1)	%44,7(17/38)	
Lenf Nodu Metastazı			0,170
var	%100(4)	%89,4(34)	
yok	%0(0)	%10,6(4)	
Evre(AJCC/IUU)			0,728
Evre1-2	%0(0)	%31,6(12)	
Evre3-4	%100(4)	%68,4(26)	
Nüks			0,532
var	%25(1)	%15,8(6)	
yok	%75(3)	%84,2(32)	
Mortalite	%0(0)	%15,8(6)	1,000

Tablo 4.5'te belirtildiği gibi; *BRAF*<sup>V600E</sup> ve *TERT Promoter* pozitif grup her ikisinden yalnızca biri pozitif olan grupla karşılaştırıldığında cinsiyet, yaş dağılımı(<45, ≥45), tümör boyutu, histolojik agresif alt tip dağılımı, kapsül ve

lenfovasküler invazyon varlığı, multifokalite, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı varlığı, tümör evresi, nüksü açısından arada anlamlı fark yoktu.

Tablo 4.6. BRAF<sup>V600E</sup> ve TERT Promoter mutasyonları birlikte bulunan ;BRAF<sup>V600E</sup> veya TERT Promoter mutasyonlarından biri bulunan vakaların klinikopatolojik özellikleri

Özellik	BRAF <sup>V600E</sup> ve TERT Promoter birlikte	BRAF <sup>V600E</sup> veya TERT Promoter tek başına	P Değeri
Cinsiyet			0,126
Kadın	%66,6(2)	%51,3(20)	
Erkek	%33,3(1)	%48,7 (19)	
Yaş			0,210
<45	%0(0)	%23,07(9)	
≥45	%100(3)	%76,93(30)	
Tümör Boyutu(cm)			0,191
>1-≤2	%0(0)	%46,2(18)	
>2-≤4	%100(3)	%38,5(15)	
>4	%9(0)	%15,4(6)	
Histopatolojik Alt Tip			0,430
Agresif Varyant	%33,3(1)	%15,4(6)	
Agresif Olmayan Varyant	%66,6(2)	%84,6(33)	
Kapsül İnvazyonu			0,547
var	%66,6(2)	%35,9(14)	
yok	%33,3(1)	%64,1(25)	
Lenfovasküler İnvazyon	%66,6(2/3)		0,567
var	%66,6(2)	%41(16)	
yok	%33,3(1)	%59(23)	
Multifokalite			0,543
var	%33,3(1)	%56,4(22)	
yok	%66,6(2)	%43,6(17)	
Ekstratiroidal İnvazyon			1,000
var	%66,7(2))	%56,4(22)	
yok	%33,3(1)	%43,6(17)	
Lenf Nodu Metastazı			0,156
var	%100(3)	%89,7(35/39)	
yok	%0 (0)	%10,3(4)	
Evre(AJCC/IUU)			0,819
Evre1-2	%0(0)	%30,8(12)	
Evre3-4	%100(3)	%69,2(27)	
Nüks			0,430
var	%33,3(1)	%15,4(6)	
yok	%66,7(2)	%84,6(33)	
Mortalite	15,4(6)	0(0)	1,000

## 5. TARTIŞMA

Çalışmada 16 ‘sı uzak metastaz olan ve 26 ‘sı uzak metastaz olmayan toplam 42 adet PTK vakasında; klinikopatolojik özellikler ile *BRAF*<sup>V600E</sup>, *TERT Promoter* ve *NRAS* mutasyonlarının sıklığı açısından fark olup olmadığı ve bu mutasyonların diğer bazı klinikopatolojik özellikler (yaş, tümör boyutu, cinsiyet, histolojik varyant, ekstratiroidal yayılım, kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon, multifokalite, lenf nodu metastazı, nüks) ile arasında ilişki olup olmaması incelenmiştir.

Çalışmada uzak metastaz olan vakalarda agresif histolojik varyant, kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon, ekstratiroidal invazyon, ileri evre, nüks oranı uzak metastaz olmayanlara göre daha yüksek sıklıkta saptandı. Uzak metastaz ile cinsiyet, tanı anındaki yaş ve tümör boyutu, multifokalite ve lenf nodu metastazı arasında ilişki saptanmadı. Uzak metastaz PTK’de nadir görülen fakat, bulunması durumunda yaşam süresini oldukça azaltan bir durumdur. Çalışmamızda uzak metastaz olan grup ile olmayan grup arasında uzak metastaz olan grupta mortalitenin daha yüksek olduğu şeklinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur. Lin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bir çalışmada uzak metastaz gelişmesi durumunda PTK’de 10 yıllık yaşam beklentisi %70 olarak bildirilmiştir. Tanı anındaki uzak metastaz PTK hastalarında kanser ilişkili ölüm için en güçlü prediktördür. PTK vakalarında uzak metastaz ile klinikopatolojik özelliklerin araştırıldığı ve sonuçları bizim bulgularımız ile kısmen örtüşen çalışmalar mevcuttur. Hoie ve arkadaşlarının 91’inde uzak metastaz saptanan 731 PTK vakasıyla yaptığı bir çalışmada, uzak metastaz ile cinsiyet (erkeklerde daha sık), yaş ( $\geq 45$ ), lenf nodu metastazı arasında ilişki saptanmıştır (144). Lin ve arkadaşlarının Tayvan’da yaptığı bir çalışmada ileri yaş, tümör boyutu, vasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım PTK’de uzak metastaz için risk faktörleri olarak gösterilmiştir(145). Jing ve arkadaşlarının Çinli popülasyonda 43’ünde uzak metastaz olan 107 PTK vakasıyla yaptıkları bir çalışmada cinsiyet (erkek), multifokalite, bilateral hastalık, ekstratiroidal yayılım, tümör boyutu, lenf nodu metastazı, başlangıç tedavisi olarak total tiroidektomi seçilmemesi ile uzak metastaz arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (86).

Çeşitli çalışmalarda  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun PTK'de sıklığı farklılık göstermiştir. Bu farklılık histolojik tiplerin değişkenliğine, epidemiyolojik faktörlere, yaşa bağlı olarak farklılık gösterebilir. Çalışmamızda  $BRAF^{V600E}$  mutasyon sıklığı %64.3 olarak saptandı. Bu oran Pereira ve arkadaşlarının 43 PTK ile yaptıkları Brezilya çalışması (%65.1) ve Lu ve arkadaşlarının 292 PTK hastası ile Çin'de yaptıkları çalışma (%65.1) ile benzerlik göstermekte idi (146,147). Yang ve arkadaşlarının 326 PTK vakasıyla Çin'de yaptıkları bir çalışmada,  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu sıklığı %82.5 bulunmuş olup çalışmamıza göre daha yüksektir (148). Literatürde daha önce ülkemizde PTK'de  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile ilgili yapılmış tek bir çalışma mevcut olup,  $BRAF^{V600E}$  sıklığı %25.4 olarak bulunmuştur (11). Literatüre bakıldığında Kore ve Çin toplumlarında  $BRAF^{V600E}$  mutasyon sıklığının diğer popülasyonlara göre daha yüksek saptandığı söylenebilir. Yunan toplumunda yapılan bir çalışmada %17 olarak beklenenden daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu içeren vakaların folliküler ve klasik varyant oldukları belirtilmiştir (149).  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu sıklığı ile etnik köken arasında ilişki olabileceği düşünülebilir. Ayrıca çalışmalarda histolojik alt tiplerin farklı oranlarda olması, bu sıklığı etkiliyor gibi görünmektedir.

$BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile çeşitli klinikopatolojik özelliklerin ilişkisini araştıran çalışmalar son yıllarda popülerdir ve güncelliğini korumaktadır. Literatürde cinsiyet, yaş, tümör boyutu, histolojik varyant, multifokalite, ekstratiroidal ve lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı, nüks, evre gibi klinikopatolojik özellikler ile  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu arasındaki ilişki çelişkilidir.  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile agresif klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişkiyi incelediğimizde; cinsiyet, yaş, tümör boyutu, histolojik alt tip, kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon, multifokalite, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı ile  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu arasında yukarıdaki iki çalışmada olduğu gibi (184,185), benzer şekilde ilişki saptamadık. Yapılan bazı çalışmalar agresif klinikopatolojik özellikler ile  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu arasında ilişki olduğunu göstermiş (147,148,150); bazıları ise karşıt görüş öne sürmüştür (151,152). Kim ve arkadaşlarının 547 PTK vakasıyla yaptığı bir çalışmada,  $BRAF^{V600E}$  mutasyon sıklığı %69.7 oranı ile çalışmamıza yakın oranda bulunmuştur. Bu çalışmada  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu erkek cinsiyet, yaş ( $\geq 45$ ), tümör boyutu ( $>1$  cm), ekstratiroidal invazyon ve lenf nodu metastazı ile ilişkili

bulunmuş ve  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun PTK de prognostik belirteç olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür (150). Lu ve arkadaşlarının 292 PTK vakasıyla yaptığı başka bir çalışmada  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu tanı anındaki yaş ( $\geq 45$ ), tümör boyutu ( $>1\text{cm}$ ), ekstratiroidal yayılım, tall cell/klasik varyant, ileri evre ile ilişkili bulunmuş, cinsiyet, multifokalite, lenf nodu metastazı ile ise ilişki bulunamamıştır. Çalışmada  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun PTK'de agresif klinikopatolojik özellikler ile ilişkili olduğu ve PTK için potansiyel prognostik faktör olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür(147). Liu ve arkadaşlarının 105 PTK vakasıyla yaptığı bir çalışmada,  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik varyant, multifokalite, servikal lenf nodu metastazı, ekstratiroidal yayılım, evre ve uzak metastaz arasında ilişki bulunmamıştır (151). Ito ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada,  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu yüksek riskli klinikopatolojik özellikler; büyük tümör boyutu, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı, ileri evre ve uzak metastaz ile ilişkili bulunamamıştır (152).

$BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile uzak metastaz arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda çelişkili sonuçlar ortaya konmuştur. Bazı çalışmalar  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile uzak metastaz arasında ilişki olduğunu, uzak metastaz olan PTK hastalarında  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun daha sık olduğunu göstermişken (153, 154), diğer bazı çalışmalarda ise  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun PTK'de uzak metastaz için belirleyici olmadığı ileri sürülmüştür (155,156). Çalışmamızda  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun sıklığı uzak metastaz olan grupta %22.2, olmayan grupta %77.8 olarak saptandı ve iki grup arasında mutasyon sıklığı açısından istatistiksel fark bulundu. Fakat bu fark, beklenenin aksine, uzak metastaz olmayan vakalarda  $BRAF^{V600E}$  sıklığının uzak metastaz olan vakalara göre beklenin aksine daha fazla olduğu yönündeydi. Ülkemizde PTK ile  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu arasındaki inceleyen tek bir çalışma olup, bu çalışmada  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile uzak metastaz arasında ilişki bulunmamıştır(11). Bizim sonuçlarımız  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun PTK'de prognostik belirteç ve uzak metastaz tahmininde tek başına kullanılamayacağı yönündedir. Ancak bu bulgunun verifiye edilebilmesi için, toplumumuzda, özellikle uzak metastazlı daha fazla olguyu içeren vakalarda mutasyon analizi yapılması gerekmektedir. Xing ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PTK tüm tiplerinde  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile hastalık-ilişkili mortalite arasında ilişki bulunmuştur. Bu

mutasyon ilişkili mortalite oranı %80.4 olarak saptanmıştır (80). Yapılan başka bir çalışmada da *BRAF*<sup>V600E</sup> mutasyonu ile artmış kanser ilişkili ölüm arasında ilişki bulunmuştur (84).

PTK ile ilişkisi araştırılan yeni ve popüler bir başka genetik olay *TERT promoter* mutasyonudur. *TERT promoter* mutasyonları ilk olarak melanom, CNS, mesane tümörlerinde bildirilmiştir. *TERT promoter* mutasyonu ile PTK'de agresif klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz ilişkisini araştıran çalışmalar mevcut olup, literatürde bu konuyla ilgili fikir birliği yoktur. Yapılan çeşitli çalışmalarda *TERT promoter* mutasyon sıklığı tiroid kanserinde %10, PTK'de %11 olarak bildirilmiştir(157). Biz çalışmamızda PTK'de *TERT promoter* mutasyon sıklığını %9.5 olarak literatüre yakın oranda saptadık. Bu mutasyonların hepsi *C228T* şeklinde idi. Literatürde PTK'de *TERT promoter* mutasyonu ile klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişkiyi toplu halde inceleyen önceden yapılmış bir çalışma bildiğimiz kadarıyla yoktur. Çalışmamızda *TERT promoter* mutasyonu ile yaş, cinsiyet, tümör boyutu, histolojik varyant, kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastazı, ileri evre gibi agresif klinikopatolojik özellikler, nüks ve sağkalım arasında ilişki saptamadık. *TERT Promoter* mutasyonlarının az differansiye ve anaplastik tiroid kanserlerinde ve differansiye tiroid kanserlerinde agresif klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi bildirilmiştir (120,122,158,159). Qasem ve arkadaşlarının toplam 265 PTK vakasıyla yapılan bir çalışmada, yaş, tümör boyutu, vasküler invazyon, rekürrens ile *TERT Promoter* mutasyonu arasında yüksek ilişki bulunmuş, ekstratiroidal invazyon, tümör multifokalitesi, lenf nodu ve uzak metastaz arasında ilişki bulunmamıştır(160). Literatürdeki verilerin çoğu *TERT Promoter* mutasyonun agresif klinikopatolojik özellikler ile ilişkili olduğu yönündedir. Literatüre göre farklı sonuçlar elde edişimizin az sayıda mutasyon saptamış olmamız ve küçük bir populasyonda çalışmamız ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz. Uzak metastaz ile *TERT promoter* mutasyon ilişkisini araştıran ve mutasyonun prognostik ve prediktif değeri olduğunu öne süren çalışmalar olmakla birlikte (120,122,124) , karşıt görüş sunan çalışmalar da mevcuttur (161). Gandolfi ve arkadaşlarının yaptığı, PTK'de uzak metastaz ile *TERT promoter* ilişkisini saptayan ilk çalışma olmakla birlikte, çalışmada *TERT promoter* mutasyonu; ileri yaş, tall-cell histolojik varyant ve uzak metastaz ile



ilişkili bulunmuştur (162). Biz çalışmamızda *TERT Promoter* mutasyon sıklığını uzak metastaz olan vakalarda(%12.5), uzak metastaz olmayan vakalara göre (%7.7) daha sık bulduk, ancak muhtemelen sayı yetersizliği sebebiyle anlamlı fark elde edemedik. Liang ve arkadaşlarının Çin popülasyonunda 355 PTK vakası ile yaptığı bir çalışmada, *TERT promoter* mutasyonu, erkek cinsiyet, büyük tümör boyutu, yüksek invazivlik ile ilişkili bulunmuş, ancak bizim çalışmamıza benzer şekilde uzak metastaz ile ilişki saptanmamıştır (161).

Çalışmamızda ayrıca *BRAF<sup>V600E</sup>* mutasyonu ile *TERT Promoter* mutasyonun birlikte bulunmasının PTK'de tümör agresifliğini artırıp arttırmadığı da incelendi. Her iki mutasyonun birlikteliğinin uzak metastaz olmayanlarda (%66) olanlara göre (%33) daha sık olduğunu saptadık ancak, istatistiksel açıdan fark bulunmadı. Her iki mutasyonun birlikteliğinin ileri yaş, büyük tümör boyutu, agresif varyant, kapsüller, lenfovasküler ve ekstratiroidal invazyon, multifokalite, evre ve lenf nodu metastazı gibi agresif klinikopatolojik özellikler ile arasında istatistiksel açıdan ilişki saptanmadı. Bu iki mutasyonun birlikte bulunmasının tümör agresifliği ve hastanın prognozunu kötüleştirdiği yönünde fikir bildiren çalışmalar vardır (119,120 ). Xing ve arkadaşlarının yaptığı 507 PTK vakasını içeren bir çalışmada, iki mutasyonun birlikteliğinin tümör agresifliğini arttırdığı ve yüksek rekürrens riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (120). Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, her iki mutasyonun PTK'de birlikteliğinin tek başına bulunmalarına göre uzak metastaz riskini arttırdıkları ileri sürülmüştür (162). Literatürde iki mutasyonun birlikteliğinin PTK' de agresif tümör özellikleri ve uzak metastaz ilişkisini inceleyen yeterli sayıda çalışma yoktur. Dolayısıyla bu konu, daha ileri çalışmalarla aydınlatılmayı beklemektedir.

*RAS* mutasyonları PTK'de ikinci sıklıkta bildirilen mutasyonlardır. PTK'de *NRAS* mutasyonu ile ilgili çalışma azdır. Yapılan çalışmalarda *RAS* mutasyon sıklığı; folliküler adenomlarda ve FTK'de (%40-53), PTK'de (%0-20), FVPTK'de (%17-25), az differansiye ve anaplastik tiroid kanserinde %20-60 sıklıkta bildirilmiştir (39, 92-94). *NRAS* mutasyonu genellikle folliküler ve klasik varyant ile ilişkilidir. Literatürde daha önce Türk popülasyonunda PTK'de *NRAS* mutasyonu ile klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz ilişkisi ve mutasyonun uzak metastaz için prediktif olup olmadığını araştıran bir çalışma yoktur. Biz çalışmamızda uzak

metastaz olsun olmasın hiçbir PTK vakamızda NRAS mutasyonu saptamadık, dolayısıyla uzak metastaz ve diğer klinikopatolojik özellikler ile ilişkisini araştıramadık. Literatürde PTK’de RAS mutasyonları ile ilgili kısıtlı çalışma vardır. RAS mutasyonlarının prognostik ve klinik önemini araştıran çalışmalar olsa da yeterli değildir. RAS ekspresyonunun tiroid kanserinde agresiflik ve kötü prognoz ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Bazı çalışmalarda mutasyon ile agresif klinikopatolojik özellikler arasında ilişki bulunmamıştır (100). Yapılan bir çalışmada RAS mutasyonu ile cinsiyet, tümör boyutu, histolojik subtip, multifokalite, nodüler guatr/Hashimoto Hastalığı, yaş gibi klinik özellikler ve lenf nodu metastazı, uzak metastaz, TNM evresi arasında ilişki bulunamamıştır (101). RAS mutasyonlarının prognostik rolü tam olarak açıklanamamış olsa da uzak metastaz ile ilişkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur (102). Örneğin; RAS mutasyonu bazı vakalarda daha agresif fenotip ve rekürrens, uzak metastaz ve ölüm için artmış risk ile ilişkili olarak görülmüştür (14, 100, 103-105). Başka bir çalışmada RAS mutasyonları tiroid kanser tiplerinde agresif kanser davranışı ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (103). Diğer çalışmada NRAS kodon 61 mutasyonu PTK için tümör agresifliği için bağımsız bir prognostik faktör olarak bildirilmiştir. Ayrıca ,PTK vakalarında NRAS mutasyonu %14 olarak saptanmış ve uzak metastaz ve rekürrens riskinin bu vakalarda artmış olduğu görülmüştür (14). Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada PTK’de NRAS mutasyon sıklığı %3 olarak saptanmıştır (163). Çalışmamızda bulduğumuz sonuçların literatüre göre farklı olması çalışılan popülasyonun kısıtlılığı ve varyantlardaki sayısal değişkenliğe bağlı olabilir.

Çalışmanın kısıtlılıkları arasında ilk sırada PTK vakalarında uzak metastaz oranının düşük olması sebebiyle uzak metastaz olan vaka sayının kısıtlı olması yer almaktadır. Ayrıca TERT promoter mutasyonunun sadece 4 vakada saptanmış olması klinikopatolojik özellikler ile ilişkisinin incelenmesini güçleştirmiştir. Ayrıca, çalışmamızın başvurmuş olduğumuz Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) tarafından desteklenmemesi sebebiyle bütçe tarafımızca karşılanmış olup, kısıtlı sayıda vaka ile çalışma yapılmak durumunda kalınmıştır. Bir başka kısıtlılık ise kullanılan parafin örneklerin büyük kısmının uzak metastazdan alınan örnek olmamasıdır. Bunun sebebi de , metastatik kemik dokusundan mutasyon analizinin yapılamaması (teknik

güçlük) ve uzak metastazın esas olarak görüntüleme yöntemleriyle saptanmış olması ve dolayısıyla bu organlardan örnek elde edilmemiş olmasıdır.

Bütün bu kısıtlılıklara rağmen, Türk toplumunda bu mutasyonların birlikte değerlendirildiği ilk çalışma olması sebebiyle çalışmamız kanımızca özgün değer taşımaktadır. Özellikle *BRAF<sup>V600E</sup>* mutasyonu ile uzak metastazın doğrudan predikte edilemeyeceğini göstermesi açısından önem taşıdığı, diğer risk faktörlerinin uzak metastaz açısından önemine işaret etmesi bakımından sonuçlarımızın önemli olduğuna inanmaktayız. Bu açıdan özellikle ülkemizde daha kapsamlı benzer çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızda tüm PTK vakalarında  $BRAF^{V600E}$  mutasyon sıklığı %64.3 olarak saptanmış olup, literatürdeki diğer çalışmalara benzer ve bilgileri destekler niteliktedir.  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu ile cinsiyet, tanı anındaki ileri yaş, büyük tümör boyutu, agresif tümör varyantı, kapsül invazyonu, lenfovasküler yayılım, ekstratiroidal yayılım, ileri evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve nüks ile arasında ilişki saptanmadı. Ayrıca mortalite oranının  $BRAF^{V600E}$  mutasyonu pozitif grupta negatif gruba göre daha düşük bulundu. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar  $BRAF^{V600E}$  mutasyonunun PTK hastalarında prognostik ve uzak metastazı belirlemede prediktif değeri olmadığı yönündeydi. Çalışmamız Türk popülasyonunda  $BRAF^{V600E}$  mutasyonun prognostik olmadığı yönünde sonuçlar veren ilk çalışma olması sebebiyle kanımızca önem taşımaktadır. Türk toplumunda daha önce PTK 'de TERT Promoter mutasyon sıklığını ve klinikopatolojik özellikler ve uzak metastaz arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmamızda *TERT Promoter* mutasyonu sıklığı %9.5 olmakla birlikte literatür ile benzerdir. Çalışmamızda *TERT Promoter* mutasyonu ile cinsiyet, tanı anındaki ileri yaş, büyük tümör boyutu, agresif tümör varyantı, kapsül invazyonu, lenfovasküler yayılım, ekstratiroidal yayılım, ileri evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve nüks arasında ilişki saptanmadı. Elde ettiğimiz sonuçlar *TERT Promoter* mutasyonunun PTK hastalarında prognostik ve uzak metastazı belirlemede prediktif değeri olmadığı yönündeydi. Literatürün geneline göre karşıt yönde sonuç alınmış olması küçük bir popülasyonda çalışılmış olması ile açıklanabileceğini düşünmekle birlikte toplumumuzda daha geniş hasta gruplarıyla benzer çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmamıza ayrıca Türk toplumunda  $BRAF^{V600E}$  ve *TERT promoter* mutasyonlarının birlikteliğinin PTK'de prognostik ve prediktif değerini araştıran ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz sonuçlar her iki mutasyonun birarada oluşunun prognostik ve uzak metastazı belirlemede prediktif değeri olmadığı yönünde olmakla birlikte, daha geniş gruplarla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Literatürde PTK ile NRAS mutasyonu arasındaki ilişkiyi açıklayan yeterince çalışma yoktur. Çalışmamızda hiçbir PTK vakasında NRAS mutasyonu saptanmamıştır. Literatürde bu mutasyonun daha çok folliküler varyant ile birlikteliği vurgulanmış

olup literatüre göre prevalans açısından fark bulmamız çalışmamızda folliküler varyant azlığı ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Daha geniş gruplar ve çeşitli histolojik varyantlar ile daha çok çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKÇA

1. Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis, treatment and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008;8(1):83-95.
2. Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations. *Am J Clin Pathol.* 2003;120(1):71-7.
3. Roman BR, Morris LG, Davies L. The thyroid cancer epidemic, 2017 perspective. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2017;24(5):332-6.
4. LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod Pathol.* 2011;24 Suppl 2:S1-9.
5. Ito Y, Miyauchi A, Kihara M, Fukushima M, Higashiyama T, Miya A. Overall survival of papillary thyroid carcinoma patients: a single-institution long-term follow-up of 5897 patients. *World journal of surgery.* 2018;42(3):615-22.
6. Vuong HG, Altibi AM, Duong UN, Ngo HT, Pham TQ, Tran HM, et al. Role of molecular markers to predict distant metastasis in papillary thyroid carcinoma: Promising value of TERT promoter mutations and insignificant role of BRAF mutations-a meta-analysis. *Tumour Biol.* 2017;39(10):1010428317713913.
7. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nature Reviews Endocrinology.* 2011;7(10):569-80.
8. Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, Jayapalan JJ, Karikalan B, Hashim OH. Papillary thyroid cancer: genetic alterations and molecular biomarker investigations. *International journal of medical sciences.* 2019;16(3):450.
9. Sugg SL, Ezzat S, Zheng L, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Oncogene profile of papillary thyroid carcinoma. *Surgery.* 1999;125(1):46-52.
10. Kure S, Ishino K, Kudo M, Wada R, Saito M, Nagaoka R, et al. Incidence of BRAF V600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma: a single-institution experience. *J Int Med Res.* 2019;47(11):5560-72.
11. Celik M, Bulbul BY, Ayturk S, Durmus Y, Gurkan H, Can N, et al. The relation between BRAFV600E mutation and clinicopathological characteristics of papillary thyroid cancer. *Med Glas (Zenica).* 2020;17(1):30-4.
12. Tabriz N, Grone J, Uslar V, Tannapfel A, Weyhe D. BRAF V600E mutation correlates with aggressive clinico-pathological features but does not influence tumor recurrence in papillary thyroid carcinoma-10-year single-center results. *Gland Surg.* 2020;9(6):1902-13.

13. Lan X, Bao H, Ge X, Cao J, Fan X, Zhang Q, et al. Genomic landscape of metastatic papillary thyroid carcinoma and novel biomarkers for predicting distant metastasis. *Cancer Sci.* 2020;111(6):2163-73.
14. Hara H, Fulton N, Yashiro T, Ito K, DeGroot LJ, Kaplan EL. N-ras mutation: an independent prognostic factor for aggressiveness of papillary thyroid carcinoma. *Surgery.* 1994;116(6):1010-6.
15. Melo M, Gaspar da Rocha A, Batista R, Vinagre J, Martins MJ, Costa G, et al. TERT, BRAF, and NRAS in Primary Thyroid Cancer and Metastatic Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(6):1898-907.
16. Xing M, Haugen BR, Schlumberger M. Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer. *Lancet.* 2013;381(9871):1058-69.
17. Gimm O. Thyroid cancer. *Cancer Lett.* 2001;163(2):143-56.
18. Olson E, Wintheiser G, Wolfe KM, Droessler J, Silberstein PT. Epidemiology of Thyroid Cancer: A Review of the National Cancer Database, 2000-2013. *Cureus.* 2019;11(2):e4127.
19. Limaïem F, Rehman A, Mazzoni T. Papillary Thyroid Carcinoma. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.

20. Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *Jama.* 2006;295(18):2164-7.
21. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol.* 2013;2013:965212.
22. Iglesias ML, Schmidt A, Ghuzlan AA, Lacroix L, Vathaire F, Chevillard S, et al. Radiation exposure and thyroid cancer: a review. *Arch Endocrinol Metab.* 2017;61(2):180-7.
23. Tronko MD, Howe GR, Bogdanova TI, Bouville AC, Epstein OV, Brill AB, et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the chornobyl accident: thyroid cancer in Ukraine detected during first screening. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(13):897-903.
24. DeLellis RA. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs: IARC; 2004.
25. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs. In: RV L, RY O, G K, J R, editors. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs. 10. 4 ed: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2017.

26. Dennis L.Kasper M, Stephen L.Hauser M, J.Larry Jameson M, Anthony S.Fauci M, Dan L.Longo M, Joseph Loscalzo M. HARRISON'S PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE. 19 ed2015. 2303 p.
27. Chmielik E, Rusinek D, Oczko-Wojciechowska M, Jarzab M, Krajewska J, Czarniecka A, et al. Heterogeneity of Thyroid Cancer. *Pathobiology*. 2018;85(1-2):117-29.
28. Prete A, Borges de Souza P, Censi S, Muzza M, Nucci N, Sponziello M. Update on Fundamental Mechanisms of Thyroid Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:102.
29. Luzón-Toro B, Fernández RM, Villalba-Benito L, Torroglosa A, Antiñolo G, Borrego S. Influencers on Thyroid Cancer Onset: Molecular Genetic Basis. *Genes (Basel)*. 2019;10(11).
30. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(10):569-80.
31. Liebner DA, Shah MH. Thyroid cancer: pathogenesis and targeted therapy. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2011;2(5):173-95.
32. Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. Molecular biology of thyroid cancer initiation. *Clin Transl Oncol*. 2007;9(11):686-93.
33. Rebaï M, Rebaï A. Molecular genetics of thyroid cancer. *Genet Res (Camb)*. 2016;98:e7.
34. Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, Diorio D, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1600-8.
35. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *The American journal of surgical pathology*. 2006;30(2):216-22.
36. Mercer KE, Pritchard CA. Raf proteins and cancer: B-Raf is identified as a mutational target. *Biochim Biophys Acta*. 2003;1653(1):25-40.
37. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159(3):676-90.
38. Santoro M, Melillo RM, Fusco A. RET/PTC activation in papillary thyroid carcinoma: European Journal of Endocrinology Prize Lecture. *Eur J Endocrinol*. 2006;155(5):645-53.
39. Vasko V, Ferrand M, Di Cristofaro J, Carayon P, Henry JF, de Micco C. Specific pattern of RAS oncogene mutations in follicular thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(6):2745-52.



40. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell*. 2004;6(4):313-9.
41. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(3):184-99.
42. Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*. 2001;410(6824):37-40.
43. Nucera C, Lawler J, Parangi S. BRAF(V600E) and microenvironment in thyroid cancer: a functional link to drive cancer progression. *Cancer Res*. 2011;71(7):2417-22.
44. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal*. 2013;6(269):p11.
45. Yip L, Nikiforova MN, Yoo JY, McCoy KL, Stang MT, Armstrong MJ, et al. Tumor genotype determines phenotype and disease-related outcomes in thyroid cancer: a study of 1510 patients. *Ann Surg*. 2015;262(3):519-25; discussion 24-5.
46. Dummler B, Hemmings BA. Physiological roles of PKB/Akt isoforms in development and disease. *Biochem Soc Trans*. 2007;35(Pt 2):231-5.
47. De Vita G, Berlingieri MT, Visconti R, Castellone MD, Viglietto G, Baldassarre G, et al. Akt/protein kinase B promotes survival and hormone-independent proliferation of thyroid cells in the absence of dedifferentiating and transforming effects. *Cancer Res*. 2000;60(14):3916-20.
48. Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the mTOR signaling network for cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27(13):2278-87.
49. Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(8):4240-5.
50. Vasko V, Saji M, Hardy E, Kruhlak M, Larin A, Savchenko V, et al. Akt activation and localisation correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer. *J Med Genet*. 2004;41(3):161-70.
51. Pacifico F, Mauro C, Barone C, Crescenzi E, Mellone S, Monaco M, et al. Oncogenic and anti-apoptotic activity of NF-kappa B in human thyroid carcinomas. *J Biol Chem*. 2004;279(52):54610-9.
52. Ikenoue T, Hikiba Y, Kanai F, Aragaki J, Tanaka Y, Imamura J, et al. Different effects of point mutations within the B-Raf glycine-rich loop in colorectal tumors on mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase/extracellular signal-regulated kinase and nuclear factor kappaB pathway and cellular transformation. *Cancer Res*. 2004;64(10):3428-35.

53. Clevers H, Nusse R. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and disease. *Cell*. 2012;149(6):1192-205.
54. Sastre-Perona A, Santisteban P. Role of the wnt pathway in thyroid cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:31.
55. Wiseman SM, Griffith OL, Gown A, Walker B, Jones SJ. Immunophenotyping of thyroid tumors identifies molecular markers altered during transformation of differentiated into anaplastic carcinoma. *Am J Surg*. 2011;201(5):580-6.
56. Lee SJ, Lee MH, Kim DW, Lee S, Huang S, Ryu MJ, et al. Cross-regulation between oncogenic BRAF(V600E) kinase and the MST1 pathway in papillary thyroid carcinoma. *PLoS One*. 2011;6(1):e16180.
57. Choi KS, Bae MK, Jeong JW, Moon HE, Kim KW. Hypoxia-induced angiogenesis during carcinogenesis. *J Biochem Mol Biol*. 2003;36(1):120-7.
58. Burrows N, Resch J, Cowen RL, von Wasielewski R, Hoang-Vu C, West CM, et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in thyroid carcinomas. *Endocr Relat Cancer*. 2010;17(1):61-72.
59. Zou M, Baitei EY, Alzahrani AS, BinHumaid FS, Alkhafaji D, Al-Rijjal RA, et al. Concomitant RAS, RET/PTC, or BRAF mutations in advanced stage of papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2014;24(8):1256-66.
60. Mulligan LM, Gardner E, Smith BA, Mathew CG, Ponder BA. Genetic events in tumour initiation and progression in multiple endocrine neoplasia type 2. *Genes Chromosomes Cancer*. 1993;6(3):166-77.
61. Mulligan LM. RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(3):173-86.
62. Cordioli MI, Moraes L, Alves MT, Delcelo R, Monte O, Longui CA, et al. Thyroid-Specific Genes Expression Uncovered Age-Related Differences in Pediatric Thyroid Carcinomas. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:1956740.
63. Santoro M, Carlomagno F. Central role of RET in thyroid cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(12):a009233.
64. Kurokawa K, Kawai K, Hashimoto M, Ito Y, Takahashi M. Cell signalling and gene expression mediated by RET tyrosine kinase. *J Intern Med*. 2003;253(6):627-33.
65. Khan MS, Qadri Q, Makhdoomi MJ, Wani MA, Malik AA, Niyaz M, et al. RET/PTC Gene Rearrangements in Thyroid Carcinogenesis: Assessment and Clinico-Pathological Correlations. *Pathol Oncol Res*. 2020;26(1):507-13.
66. Chua EL, Wu WM, Tran KT, McCarthy SW, Lauer CS, Dubourdiou D, et al. Prevalence and distribution of ret/ptc 1, 2, and 3 in papillary thyroid carcinoma in New Caledonia and Australia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(8):2733-9.

67. Elisei R, Cosci B, Romei C, Bottici V, Renzini G, Molinaro E, et al. Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: a 10-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(3):682-7.
68. Hofstra RM, Landsvater RM, Ceccherini I, Stulp RP, Stelwagen T, Luo Y, et al. A mutation in the RET proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma. *Nature.* 1994;367(6461):375-6.
69. Hansford JR, Mulligan LM. Multiple endocrine neoplasia type 2 and RET: from neoplasia to neurogenesis. *J Med Genet.* 2000;37(11):817-27.
70. Agrawal N, Akbani R, Aksoy BA, Ally A, Arachchi H, Asa SL, et al. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell.* 2014;159(3):676-90.
71. Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2005;12(2):245-62.
72. MacCorkle RA, Tan TH. Mitogen-activated protein kinases in cell-cycle control. *Cell Biochem Biophys.* 2005;43(3):451-61.
73. Wojciechowska K, Lewinski A. BRAF mutations in papillary thyroid carcinoma. *Endocr Regul.* 2006;40(4):129-38.
74. 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(7):1454-7.
75. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002;417(6892):949-54.
76. Trovisco V, Vieira de Castro I, Soares P, Máximo V, Silva P, Magalhaes J, et al. BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland.* 2004;202(2):247-51.
77. Wang X, Cheng W, Liu C, Li J. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: current evidence on clinicopathologic features and molecular biology. *Oncotarget.* 2016;7(26):40792.
78. Xing M. BRAF Mutation in Papillary Thyroid Cancer: Pathogenic Role, Molecular Bases, and Clinical Implications. *Endocrine Reviews.* 2007;28(7):742-62.
79. Cohen Y, Xing M, Mambo E, Guo Z, Wu G, Trink B, et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute.* 2003;95(8):625-7.

80. 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. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(12):6373-9.
81. Fukushima T, Suzuki S, Mashiko M, Ohtake T, Endo Y, Takebayashi Y, et al. BRAF mutations in papillary carcinomas of the thyroid. *Oncogene*. 2003;22(41):6455-7.
82. Knauf JA, Ma X, Smith EP, Zhang L, Mitsutake N, Liao XH, et al. Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancers that undergo dedifferentiation. *Cancer Res*. 2005;65(10):4238-45.
83. Kim TH, Park YJ, Lim JA, Ahn HY, Lee EK, Lee YJ, et al. The association of the BRAF(V600E) mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *Cancer*. 2012;118(7):1764-73.
84. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, Viola D, Elisei R, Bendlova B, et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. *Jama*. 2013;309(14):1493-501.
85. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, Shong YK, Kim TY, Viola D, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(1):42-50.
86. Jing FJ, Liang J, Liang ZY, Meng C, Long W, Li XY, et al. BRAF(V600E) mutation is not a positive predictor for distant metastasis in sporadic papillary thyroid carcinoma. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126(16):3013-8.
87. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(11):761-74.
88. Abubaker J, Jehan Z, Bavi P, Sultana M, Al-Harbi S, Ibrahim M, et al. Clinicopathological analysis of papillary thyroid cancer with PIK3CA alterations in a Middle Eastern population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(2):611-8.
89. Frattini M, Ferrario C, Bressan P, Balestra D, De Cecco L, Mondellini P, et al. Alternative mutations of BRAF, RET and NTRK1 are associated with similar but distinct gene expression patterns in papillary thyroid cancer. *Oncogene*. 2004;23(44):7436-40.
90. Howell GM, Hodak SP, Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist*. 2013;18(8):926-32.
91. 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(2):159-64.

92. Kunstman JW, Juhlin CC, Goh G, Brown TC, Stenman A, Healy JM, et al. Characterization of the mutational landscape of anaplastic thyroid cancer via whole-exome sequencing. *Hum Mol Genet.* 2015;24(8):2318-29.
93. Di Cristofaro J, Marcy M, Vasko V, Sebag F, Fakhry N, Wynford-Thomas D, et al. Molecular genetic study comparing follicular variant versus classic papillary thyroid carcinomas: association of N-ras mutation in codon 61 with follicular variant. *Hum Pathol.* 2006;37(7):824-30.
94. Kondo T, Ezzat S, Asa SL. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. *Nat Rev Cancer.* 2006;6(4):292-306.
95. Kim M, Jeon MJ, Oh HS, Park S, Kim TY, Shong YK, et al. BRAF and RAS Mutational Status in Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features and Invasive Subtype of Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma in Korea. *Thyroid.* 2018;28(4):504-10.
96. Bae JS, Kim Y, Jeon S, Kim SH, Kim TJ, Lee S, et al. Clinical utility of TERT promoter mutations and ALK rearrangement in thyroid cancer patients with a high prevalence of the BRAF V600E mutation. *Diagnostic pathology.* 2016;11(1):1-10.
97. Liu RT, Hou CY, You HL, Huang CC, Hock L, Chou FF, et al. Selective occurrence of ras mutations in benign and malignant thyroid follicular neoplasms in Taiwan. *Thyroid.* 2004;14(8):616-21.
98. Esapa CT, Johnson SJ, Kendall-Taylor P, Lennard TW, Harris PE. Prevalence of Ras mutations in thyroid neoplasia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;50(4):529-35.
99. Rosai J, Zampi G, Carcangiu ML. Papillary carcinoma of the thyroid. A discussion of its several morphologic expressions, with particular emphasis on the follicular variant. *Am J Surg Pathol.* 1983;7(8):809-17.
100. Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, et al. ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21(17):3226-35.
101. Ming J, Liu Z, Zeng W, Maimaiti Y, Guo Y, Nie X, et al. Association between BRAF and RAS mutations, and RET rearrangements and the clinical features of papillary thyroid cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(11):15155-62.
102. Jang EK, Song DE, Sim SY, Kwon H, Choi YM, Jeon MJ, et al. NRAS codon 61 mutation is associated with distant metastasis in patients with follicular thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2014;24(8):1275-81.
103. Basolo F, Pisaturo F, Pollina LE, Fontanini G, Elisei R, Molinaro E, et al. N-ras mutation in poorly differentiated thyroid carcinomas: correlation with bone metastases and inverse correlation to thyroglobulin expression. *Thyroid.* 2000;10(1):19-23.

104. Volante M, Rapa I, Gandhi M, Bussolati G, Giachino D, Papotti M, et al. RAS mutations are the predominant molecular alteration in poorly differentiated thyroid carcinomas and bear prognostic impact. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(12):4735-41.
105. Karga H, Lee JK, Vickery AL, Jr., Thor A, Gaz RD, Jameson JL. Ras oncogene mutations in benign and malignant thyroid neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73(4):832-6.
106. Alzahrani AS, Alsaadi R, Murugan AK, Sadiq BB. TERT Promoter Mutations in Thyroid Cancer. *Horm Cancer.* 2016;7(3):165-77.
107. Pestana A, Vinagre J, Sobrinho-Simões M, Soares P. TERT biology and function in cancer: beyond immortalisation. *J Mol Endocrinol.* 2017;58(2):R129-r46.
108. Greider CW, Blackburn EH. A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature.* 1989;337(6205):331-7.
109. Cong YS, Wright WE, Shay JW. Human telomerase and its regulation. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2002;66(3):407-25, table of contents.
110. Shay JW, Zou Y, Hiyama E, Wright WE. Telomerase and cancer. *Human molecular genetics.* 2001;10(7):677-85.
111. Cukusić A, Skrobot Vidacek N, Sopta M, Rubelj I. Telomerase regulation at the crossroads of cell fate. *Cytogenet Genome Res.* 2008;122(3-4):263-72.
112. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science.* 1994;266(5193):2011-5.
113. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, Fischer C, Sucker A, Gast A, et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science.* 2013;339(6122):959-61.
114. Aogi K, Kitahara K, Urquidi V, Tarin D, Goodison S. Comparison of telomerase and CD44 expression as diagnostic tumor markers in lesions of the thyroid. *Clinical cancer research.* 1999;5(10):2790-7.
115. Landa I, Ganly I, Chan TA, Mitsutake N, Matsuse M, Ibrahimasic T, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(9):E1562-6.
116. Liu R, Xing M. Diagnostic and prognostic TERT promoter mutations in thyroid fine-needle aspiration biopsy. *Endocr Relat Cancer.* 2014;21(5):825-30.

117. George JR, Henderson YC, Williams MD, Roberts DB, Hei H, Lai SY, et al. Association of TERT Promoter Mutation, But Not BRAF Mutation, With Increased Mortality in PTC. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(12):E1550-9.
118. Muzza M, Colombo C, Rossi S, Tosi D, Cirello V, Perrino M, et al. Telomerase in differentiated thyroid cancer: promoter mutations, expression and localization. *Mol Cell Endocrinol.* 2015;399:288-95.
119. Liu X, Qu S, Liu R, Sheng C, Shi X, Zhu G, et al. TERT promoter mutations and their association with BRAF V600E mutation and aggressive clinicopathological characteristics of thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(6):E1130-6.
120. Xing M, Liu R, Liu X, Murugan AK, Zhu G, Zeiger MA, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J Clin Oncol.* 2014;32(25):2718-26.
121. Lee Y, Koh J, Kim SI, Won JK, Park CK, Choi SH, et al. The frequency and prognostic effect of TERT promoter mutation in diffuse gliomas. *Acta Neuropathol Commun.* 2017;5(1):62.
122. Melo M, da Rocha AG, Vinagre J, Batista R, Peixoto J, Tavares C, et al. TERT promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(5):E754-65.
123. Rusinek D, Pfeifer A, Cieslicka M, Kowalska M, Pawlaczek A, Krajewska J, et al. TERT Promoter Mutations and Their Impact on Gene Expression Profile in Papillary Thyroid Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2020;12(6).
124. Gandolfi G, Ragazzi M, Frasoldati A, Piana S, Ciarrocchi A, Sancisi V. TERT promoter mutations are associated with distant metastases in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(4):403-13.
125. Zhang Y, Yu J, Grachtchouk V, Qin T, Lumeng CN, Sartor MA, et al. Genomic binding of PAX8-PPARG fusion protein regulates cancer-related pathways and alters the immune landscape of thyroid cancer. *Oncotarget.* 2017;8(4):5761-73.
126. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW, 2nd, Tallini G, et al. RAS point mutations and PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(5):2318-26.
127. Manzella L, Stella S, Pennisi MS, Tirrò E, Massimino M, Romano C, et al. New Insights in Thyroid Cancer and p53 Family Proteins. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6).
128. Ji JH, Oh YL, Hong M, Yun JW, Lee HW, Kim D, et al. Identification of Driving ALK Fusion Genes and Genomic Landscape of Medullary Thyroid Cancer. *PLoS Genet.* 2015;11(8):e1005467.

129. Mendieta-Zerón H, Jiménez-Rosales A, Pérez-Amado CJ, Jiménez-Morales S. FOXE1 Mutation Screening in a Case with Cleft Lip, Hypothyroidism, and Thyroid Carcinoma: A New Syndrome? *Case Rep Genet.* 2017;2017:6390545.
130. Sui F, Ji M, Hou P. Long non-coding RNAs in thyroid cancer: Biological functions and clinical significance. *Mol Cell Endocrinol.* 2018;469:11-22.
131. Nixon AM, Provatopoulou X, Kalogera E, Zografos GN, Gounaris A. Circulating thyroid cancer biomarkers: Current limitations and future prospects. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017;87(2):117-26.
132. Zembska A, Jawiarczyk-Przybyłowska A, Wojtczak B, Bolanowski M. MicroRNA Expression in the Progression and Aggressiveness of Papillary Thyroid Carcinoma. *Anticancer Res.* 2019;39(1):33-40.
133. Zhang R, Hardin H, Chen J, Guo Z, Lloyd RV. Non-Coding RNAs in Thyroid Cancer. *Endocr Pathol.* 2016;27(1):12-20.
134. Luzón-Toro B, Bleda M, Navarro E, García-Alonso L, Ruiz-Ferrer M, Medina I, et al. Identification of epistatic interactions through genome-wide association studies in sporadic medullary and juvenile papillary thyroid carcinomas. *BMC Med Genomics.* 2015;8:83.
135. Hutvágner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science.* 2001;293(5531):834-8.
136. Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. ENDOCRINE TUMOURS: Advances in the molecular pathogenesis of thyroid cancer: lessons from the cancer genome. *Eur J Endocrinol.* 2016;175(5):R203-17.
137. Peng N, Shi L, Zhang Q, Hu Y, Wang N, Ye H. Microarray profiling of circular RNAs in human papillary thyroid carcinoma. *PLoS One.* 2017;12(3):e0170287.
138. Meng S, Zhou H, Feng Z, Xu Z, Tang Y, Li P, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer. *Mol Cancer.* 2017;16(1):94.
139. Grubu TTC. Tiroid Hastalıkları tanı ve tedavi kılavuzu Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği 2020.
140. Vander JB, Gaston EA, Dawber TR. The significance of nontoxic thyroid nodules. Final report of a 15-year study of the incidence of thyroid malignancy. *Ann Intern Med.* 1968;69(3):537-40.
141. Tunbridge WM, Evered DC, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, et al. The spectrum of thyroid disease in a community: the Wickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1977;7(6):481-93.



142. Hegedüs L. Clinical practice. The thyroid nodule. *N Engl J Med.* 2004;351(17):1764-71.
143. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2016;26(1):1-133.
144. Bai Y, Kakudo K, Jung CK. Updates in the Pathologic Classification of Thyroid Neoplasms: A Review of the World Health Organization Classification. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2020;35(4):696-715.
145. Hadjieva T. Scoring patients' risk in differentiated thyroid cancer. *Onkologie.* 2001;24(6):561-8.
146. Voutilainen PE, Siironen P, Franssila KO, Sivula A, Haapiainen RK, Haglund CH. AMES, MACIS and TNM prognostic classifications in papillary thyroid carcinoma. *Anticancer Res.* 2003;23(5b):4283-8.
147. Pelizzo MR, Merante Boschin I, Toniato A, Pagetta C, Casal Ide E, Mian C, et al. Diagnosis, treatment, prognostic factors and long-term outcome in papillary thyroid carcinoma. *Minerva Endocrinol.* 2008;33(4):359-79.
148. Miyauchi A, Kudo T, Kihara M, Higashiyama T, Ito Y, Kobayashi K, et al. Relationship of biochemically persistent disease and thyroglobulin-doubling time to age at surgery in patients with papillary thyroid carcinoma. *Endocr J.* 2013;60(4):415-21.
149. Lee SE, Hwang TS, Choi YL, Han HS, Kim WS, Jang MH, et al. Prognostic Significance of TERT Promoter Mutations in Papillary Thyroid Carcinomas in a BRAF(V600E) Mutation-Prevalent Population. *Thyroid.* 2016;26(7):901-10.
150. Toniato A, Boschin I, Casara D, Mazzarotto R, Rubello D, Pelizzo M. Papillary thyroid carcinoma: factors influencing recurrence and survival. *Annals of Surgical Oncology.* 2008;15(5):1518-22.
151. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med.* 1994;97(5):418-28.
152. Matsuzu K, Sugino K, Masudo K, Nagahama M, Kitagawa W, Shibuya H, et al. Thyroid lobectomy for papillary thyroid cancer: long-term follow-up study of 1,088 cases. *World J Surg.* 2014;38(1):68-79.
153. Ito Y, Miyauchi A, Kihara M, Kobayashi K, Miya A. Prognostic values of clinical lymph node metastasis and macroscopic extrathyroid extension in papillary thyroid carcinoma. *Endocr J.* 2014;61(8):745-50.

154. Grebe SK, Hay ID. Thyroid cancer nodal metastases: biologic significance and therapeutic considerations. *Surg Oncol Clin N Am.* 1996;5(1):43-63.
155. Liu FH, Kuo SF, Hsueh C, Chao TC, Lin JD. Postoperative recurrence of papillary thyroid carcinoma with lymph node metastasis. *J Surg Oncol.* 2015;112(2):149-54.
156. Ito Y, Kudo T, Kobayashi K, Miya A, Ichihara K, Miyauchi A. Prognostic factors for recurrence of papillary thyroid carcinoma in the lymph nodes, lung, and bone: analysis of 5,768 patients with average 10-year follow-up. *World J Surg.* 2012;36(6):1274-8.
157. Schmid KW. [Lymph node and distant metastases of thyroid gland cancer. Metastases in the thyroid glands]. *Pathologe.* 2015;36 Suppl 2:171-5.
158. Casara D, Rubello D, Saladini G, Masarotto G, Favero A, Girelli ME, et al. Different features of pulmonary metastases in differentiated thyroid cancer: natural history and multivariate statistical analysis of prognostic variables. *J Nucl Med.* 1993;34(10):1626-31.
159. Durante C, Haddy N, Baudin E, Leboulleux S, Hartl 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(8):2892-9.
160. Chiu AC, Delpassand ES, Sherman SI. Prognosis and treatment of brain metastases in thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(11):3637-42.
161. Leung AK, Chow SM, Law SC. Clinical features and outcome of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Laryngoscope.* 2008;118(1):32-8.
162. Chen JH, Faquin WC, Lloyd RV, Nosé V. Clinicopathological and molecular characterization of nine cases of columnar cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol.* 2011;24(5):739-49.
163. Asioli S, Erickson LA, Sebo TJ, Zhang J, Jin L, Thompson GB, et al. Papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features: a new aggressive variant of moderately differentiated papillary carcinoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of eight cases. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(1):44-52.
164. Joseph KR, Edirimanne S, Eslick GD. Multifocality as a prognostic factor in thyroid cancer: A meta-analysis. *Int J Surg.* 2018;50:121-5.
165. Markovic I, Goran M, Besic N, Buta M, Djuriscic I, Stojiljkovic D, et al. Multifocality as independent prognostic factor in papillary thyroid cancer - A multivariate analysis. *J buon.* 2018;23(4):1049-54.

166. Geron Y, Benbassat C, Shteinshneider M, Or K, Markus E, Hirsch D, et al. Multifocality Is not an Independent Prognostic Factor in Papillary Thyroid Cancer: A Propensity Score-Matching Analysis. *Thyroid*. 2019;29(4):513-22.
167. Tufano RP, Teixeira GV, Bishop J, Carson KA, Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer and its value in tailoring initial treatment: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2012;91(5):274-86.
168. 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(12):6373-9.
169. Basolo F, Molinaro E, Agate L, Pinchera A, Pollina L, Chiappetta G, et al. RET protein expression has no prognostic impact on the long-term outcome of papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol*. 2001;145(5):599-604.
170. Chou CK, Chen RF, Chou FF, Chang HW, Chen YJ, Lee YF, et al. miR-146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAF(V600E) mutation. *Thyroid*. 2010;20(5):489-94.
171. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(1):45-60.
172. Nam KH, Noh TW, Chung SH, Lee SH, Lee MK, Hong SW, et al. Expression of the membrane mucins MUC4 and MUC15, potential markers of malignancy and prognosis, in papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2011;21(7):745-50.
173. Barney BM, Hitchcock YJ, Sharma P, Shrieve DC, Tward JD. Overall and cause-specific survival for patients undergoing lobectomy, near-total, or total thyroidectomy for differentiated thyroid cancer. *Head Neck*. 2011;33(5):645-9.
174. Mendelsohn AH, Elashoff DA, Abemayor E, St John MA. Surgery for papillary thyroid carcinoma: is lobectomy enough? *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*. 2010;136(11):1055-61.