

Tiroid kanserinde moleküler etyolojik faktörler

The molecular etiological parameters in thyroid cancer

Semra Özdemir*, Öztürk Özdemir

Nükleer Tıp Anabilim Dalı (Yrd. Doç. Dr. S. Özdemir), Tıbbi Genetik Anabilim Dalı (Prof. Dr. Ö. Özdemir) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-17100 Çanakkale

Özet

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin kanserdir ve dünya çapında sıklığı giderek artmaktadır. Son zamanlardaki moleküler teknolojik çalışmalar, tiroid kanser tanı ve tedavisinin doğru yapılabilmesi için etyolojik parametrelere yoğunlaşmış durumdadır. Şimdiye kadar bu konuda üzerinde çalışılmış birçok moleküler ve immünohistokimyasal parametre bildirilmiştir. Son literatür bilgileri, tiroid kanseri ile genetik parametreler arasında güçlü bir ilişkinin olduğunu ortaya koymuştur. Normal tiroid dokusunda kanser tetiklenmesi ve ilerlemesi, nokta mutasyonlar, translokasyonlar, kromozomlararası yeniden düzenlemeler (rearrangements), aktif proto-onkogen ve inaktif tümör baskılayıcı gen şeklinde meydana gelen epigenetik alterasyonlar gibi çoklu genetik ve epigenetik değişikliklerle gerçekleşmektedir. Yine son rapor edilen literatür bilgileri, proto-onkogenlerin fonksiyon kazanarak ve tümör süpresör genlerin ise fonksiyon kaybederek tiroid kanserlerinin tetiklenmesinde ve/veya ilerlemesinde görev yapmaları bu gen ailelerinin karsinogenezisde antagonistik bir etkiye sahip olduklarını göstermektedir. Tiroid doku tümörleri ve nodüllerinin, moleküler genetik belirteçler açısından (somatik, germ-line) kimliklendirilmesinin malign-benign doku ayırt edilmesinde, kesin tanı ve etkin tedavi için hayati öneme sahiptir. Her bir kanser olgusunda özgün moleküler genetik değişikliklerin neler olduğu öncelikle tespit edilmelidir. Ancak bu durumda kanser subtiplemesi doğru yapılabilir ve bu doğrultuda hastanın doğru ve etkin tedavi alması sağlanabilir. İlgili nodül ve tümör dokusunun neden kanserleştiğinin ipuçlarını yine içinde barındırmaktadır, bu moleküler etyolojik sebeplerin doğru tespiti tiroid kanserlerinin tedavisi için yeni ve etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlar. Bu derleme makalesinde son literatür bilgileri ışığında tiroid kanserlerinde doğrudan ve/veya aracılık eden moleküler genetik parametreler ve etki mekanizmaları olabildiğince geniş bir spektrumda ele alınmıştır.

Anahtar sözcükler: Tiroid kanseri, tanı, prognoz, moleküler belirteçler

Abstract

Thyroid cancer is a common endocrine malignancy its prevalence is increasing worldwide. Currently, the application of molecular technologies has focused on etiological parameters for the accurate diagnosis and therapy of thyroid cancer. Until now in this issue many molecular and immunohistochemical parameters have been reported. Recent literature show that strong association between genetic parameters and thyroid cancer. Initiation and progression of thyroid cancers arise as the consequence of multiple genetic and epigenetic alterations such as; structural point mutations, chromosomal rearrangements and epigenetic events that activate proto-oncogenes and inactivate tumor suppressor genes. There are lots of various tumor-suppressor genes are epigenetically silenced in thyroid cancers. Gain-of-function for proto-oncogenes and loss-of-function for tumour suppressor genes have a crucial role in the initiation and/or progression of the thyroid carcinogenesis. The determining of somatic and/or germline molecular alterations have been recognized as helpful diagnostic and prognostic markers and valuable tools for the management of tumoural/nontumoural nodules in thyroid cancer patients. Known details about those molecular etiological parameters provide further research and clinical development targets, novel diagnostic and therapeutic strategies for thyroid cancers treatment. Current article reviews the molecular etiological alterations in thyroid cancer that help identify relevant biologic pathways to drive cancer development. Direct and indirect molecular etiological parameters and action mechanisms that play crucial role in the thyroid cancers widely reviewed in the current report.

Keywords: Thyroid cancer, diagnosis, prognosis, molecular markers

Geliş tarihi/Received: 18 Aralık 2013; **Kabul tarihi/Accepted:** 13 Ocak 2014

***İletişim adresi:**

Dr. Semra Özdemir, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-17100 Çanakkale. E-posta: semozdemir@yahoo.com

Giriş

Tiroid bezi insanda en büyük endokrin bez olup histolojik olarak folliküler ve parafolliküler C hücrelerini içerir. En sık görülen endokrin malignite tipi olan tiroid kanserleri de bu iki hücre tipinden köken alırlar. Tiroid kanserlerinin tüm kanser tipleri arasında görülme sıklığı %1 civarında olmakla birlikte çalışmalar, son yıllarda görülme sıklığında belirgin bir artış olduğunu göstermektedir. Kadın/erkek oranı 3/1 ve görülme yaşı 20-60 yaş arası iken özellikle kadınlarda ve gençlerde görülme sıklığının giderek arttığı bildirilmektedir [1-3]. Folliküler hücrelerden köken alan kanserler iyi diferansiye (papiller ve foliküler), zayıf diferansiye (insular) ve undiferansiye tip (anaplastik) olmak üzere üç ana grupta toplanır. Folliküler hücrelerden köken alan kanserlerin en sık görülen tipi, iyi diferansiye papiller ve folliküler karsinomlardır. Parafolliküler C hücrelerinden köken alan kanser tipi ise medüller karsinomadır. Yaygın tiroid doku kanserleri sırasıyla, %90'ı iyi diferansiye, %5-9'u medüller, %1-2 anaplastik, %1-3'u lenfoma ve diğer nadir tümörlerden oluşmaktadır. İyi diferansiye tiroid karsinomlarının dağılımı ise %80-85 papiller, %10-15 folliküler, %3-5 hürtle hücreli veya onkositik karsinomlar şeklindedir [4].

Tiroid follikül hücrelerinin büyüme ve çoğalma yetenekleri vardır. Tiroid hücrelerinin büyüme ve fonksiyonlarını uyaran en önemli faktör tiroid stimulan hormonudur (TSH). Vücuttaki diğer hücrelerde olduğu gibi tiroid hücrelerinin yaşam döngüsü de hücre bölünmesi, farklılaşması ve ölümü (apoptozis) olmak üzere 3 aşamalıdır [5]. Bu hücre yaşam döngüsünü yönlendiren bazı proteinler proto-onkogenler, tümör supresör genler ve mutator genler tarafından kodlanırlar. Bu nedenle bu genlerde oluşan çeşitli fonksiyon aksamaları hücre yaşam döngüsündeki aşamalarda oluşan problemler nedeniyle kanserleşme sürecine gidebilmektedir [6]. Tiroid kanserlerinin etyolojisinde radyasyona maruziyet dışında saptanabilmiş kesin çevresel faktörlerden bahsedilememektedir [7]. Endemik iyot eksikliği bölgelerinde folliküler kanserin, iyot profilaksisi uygulanan bölgelerde ise papiller kanserin daha sık görüldüğünü bildiren yayınlar bulunmakla birlikte iyot eksikliği ya da fazlalığı kesin etyolojik faktör olarak suçlanamamaktadır. Yine hashimato tiroiditi ve graves hastalığında tiroid kanser riskinin arttığına dair yayınlar mevcuttur [8]. Tiroid kanserlerinin moleküler etyolojik faktörleri ise son zamanlarda giderek aydınlatılmakta, bu konuda çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu konudaki gelişmeler tiroid kanserlerinin hem tanı, hem tedavi aşamasında yeni bakış açıları gelişmesine neden olmaktadır. Tiroid kanserlerinin tanı aşamasında güvenilirliği en yüksek yöntem olarak kabul edilen ince iğne aspirasyon biopsisinde (İİAB) bile %10-20 oranında kesin tanıya gidilememekte şüpheli sonuçlar rapor edilmektedir. Şüpheli (indeterminate) olarak tanımlanan nodüllere cerrahi uygulandığında da dörtte üçü benign nodül çıkmaktadır [9]. Bu nedenle patolojik tanıların moleküler belirteçlerle desteklenmesi artık kaçınılmaz olmaya başlamıştır. Doku tanılarının, genetik tanılarla güçlendirilmesi kanser tanısının güvenilirliğini artıracak ve doğru teşhis-tedavi süreci daha sağlıklı işleyecektir. Son literatür bilgileri göstermiştir ki aynı kanser tipi ve aynı histopatolojik doku tanısı almalarına rağmen her bireyde farklı genetik etyolojik nedenler söz konusu olabilmektedir. Dolayısıyla kanser dokularının histopatolojik tanımlanmaları dışında genetik kimliklendirmelerinin yapılması, daha doğru ve bireye özgü tedavi için artık zorunlu hal almıştır. Bu nedenle bu makalede tiroid kanserlerinde önemli moleküler etyolojik sebepler olabildiğince geniş bir perspektif içinde ele alındı ve son literatür bilgileriyle tartışıldı.

Tüm kanserlerde olduğu gibi tiroid kanser oluşumu da multifaktöriyel ve poligenetik bir süreçtir ve etyopatogenezi araştırılırken tek bir faktörden ya da genden bahsetmek mümkün değildir. Yapılan araştırmalar onkogenез için tek bir genetik değişimin yeterli olmadığını, tümör supresör genler, proto-onkogenler ve yapısal genlerde bir dizi mutasyonun oluşması gerektiğini göstermiştir. Yani kanser gelişimi, genetik açıdan çok aşamalı bir süreçtir. Bu süreç sırasında oluşan mutasyonlar kendiliğinden ya da mutajenik etkilere bağlı olarak gelişebilir [10].

Bu çok faktörlü ve çok aşamalı sürecin etyolojik parametre ve belirteçlerini üçe ayırarak inceleyecek olursak;

- A. İmmünohistokimyasal belirteçler,
- B. Moleküler genetik belirteçler,
- C. Hücre büyümesini indükleyen ya da inhibe eden belirteçler olarak sınıflandırabiliriz.

A. İmmünohistokimyasal belirteçler

A.1. Galektin-3 (Gal-3): Galektinler hücre büyümesi, aktivasyonu, neoplastik transformasyon, metastaz gelişimi, apoptozis, hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimlerinde rol oynayan bir protein ailesidir. Galektin-3 β galaktozidaz bağlayan spesifik bir proteindir. Kanser gelişimindeki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte Gal-3 ün artmış ekspresyonunun tümör hücrelerinin adhezyon ve motilitelerini değiştirerek metastaz potansiyelini artırdıkları bildirilmektedir [11]. Birçok araştırma sonuçlarına göre Gal-3 özellikle papiller tiroid kanserlerinde olmak üzere differensiye tiroid kanserlerinde pozitifdir. Tiroid malignitelerinde Gal-3 yüksek duyarlılığa düşük özgüllüğe sahip bir markır olup Gal-3 varlığı malignite olasılığını güçlendirmekle birlikte negatif olması maligniteyi ekarte ettirememektedir [12].

A.2. Hektor battifora mesothelial cell antibody (HBME1): Mezotelyal hücrelerin mikrovilluslarında saptanan, antijeni bilinmeyen bir monoklonal antikordur. Hücre adezyonunda ve sinyalizasyonunda rolü olduğu düşünülmektedir. Follikül hücrelerinden kaynaklanan malign neoplazmlarda spesifik bir markırdır. Özellikle papiller tiroid karsinomunda güvenli pozitif sonuç verdiği için tanıyı zor papiller karsinomaların, hiperplazilerden ayırt edilmesinde yararlıdır [13, 14].

A.3. Sitokeratin 19 (CK-19): Sitokeratinler epitel hücrelerinin intermediyal filamentlerinden şekil alan ara filamanlardır ve asıl görevleri hücrelerin mekanik strese karşı koyabilmelerini sağlamaktır. İnsanlarda sitokeratinin 20 farklı izotipi bulunmakla birlikte tiroid karsinomalarıyla ilişkili olan tipi sitokeratin-19 dur. Hem tümoral olmayan tiroid follikül epitelini, hem papiller ve folliküler karsinoma epitel hücrelerini boyamaktadır. Diğer immünohistokimyasal markırlarla birlikte kullanılması spesifiteyi arttırmaktadır [15, 16].

A.4. Kalsitonin: Medüller tiroid kanserlerinde yüksek oranda ekspresyonu söz konusudur. Yüksek kalsitonin düzeyleri, medüller tiroid kanserleri için sensitif bir markır olmakla birlikte, spesifik değildir. Çünkü hiperparatiroidizm, renal yetmezlik ve nöroendokrin tümörler gibi bazı tiroid dışı patalojilerinde ve bazı ilaçların kullanımında da (omeprazol, glukokortikoidler, beta-blokerler, glukagon gibi) kalsitonin düzeylerinin yüksekliği bilinmektedir [17, 18].

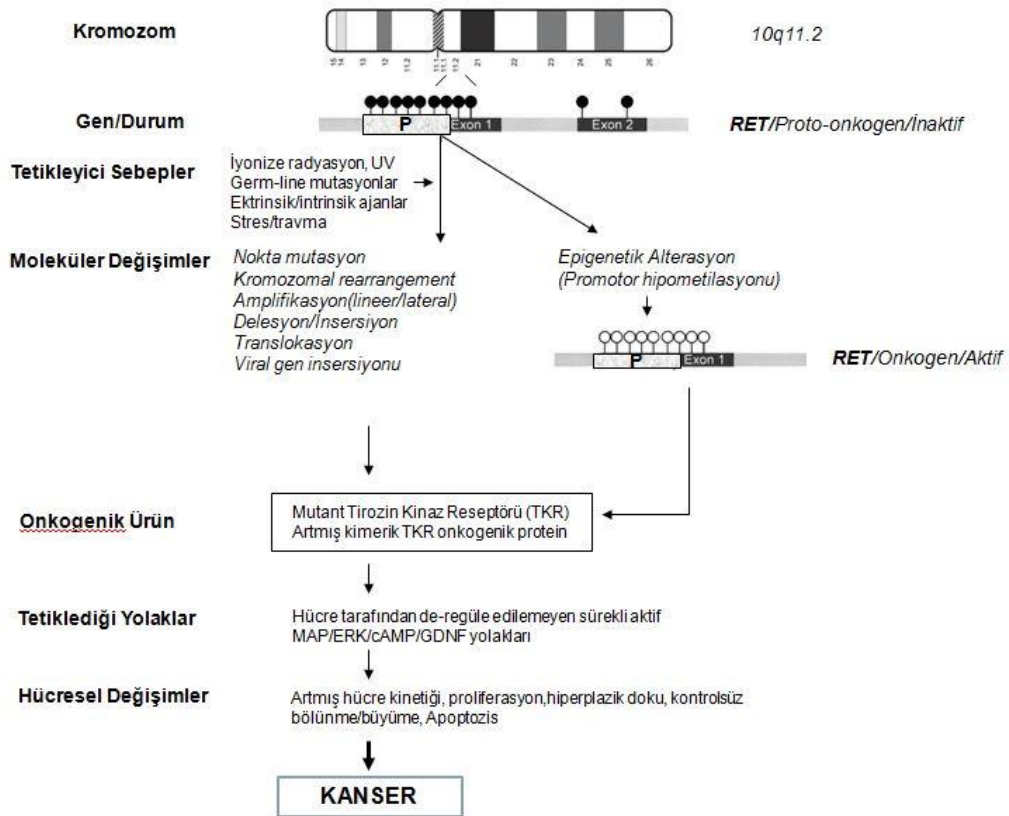
B. Moleküler genetik belirteçler

Tiroid kanserinde olası moleküler genetik etyolojik sebepleri, şu şekilde sınıflandırmak mümkündür:

1. Onkogen aracılı tiroid kanserleri
2. Tümör supresör gen aracılı tiroid kanserleri
3. Fonksiyonel gen aracılı tiroid kanserleri
4. miRNA downregülasyona bağlı tiroid kanserleri

B.1. Onkogen aracılı tiroid kanserleri: Yüksek canlılarda (eukaryotik genomda) 200 civarında onkogen tanımlanmıştır. Dominant kalıtım gösteren onkogenlerin fenotipte etkisinin ortaya çıkması için allellerden bir tanesinin mutasyona uğraması yeterlidir. Fonksiyonel bir hücrede istenmeyen onkogenik ürün üreten bu genler sağlıklı hücrelerde (wild) inaktiftirler. Fonksiyon yapmayan bu genler proto-onkogen olarak tanımlanırlar. İnsanda tümöröenezden primer olarak sorumlu oldukları varsayılan bu sessiz (inaktif) genlerin çeşitli hücre ve dokularda fonksiyon kazanmaları yani onkogene dönüşmeleri iki mekanizmayla gerçekleşir.

1. **Mutasyonlar:** Proto-onkogenler, genomik yapılarında değişiklik meydana geldiğinde aktif hale gelerek onkogene dönüşürler.
2. **Epigenetik alterasyon:** Epigenetik alterasyon, DNA dizisinde değişiklik olmadan gen ekspresyonunun değişikliğe uğraması durumudur. Sağlıklı bir hücrede proto-onkogenlerin promotor gen alt birimleri hipermetile durumda olduğundan protein ekspresyonuna katılamazlar. Proto-onkogenler epigenetik alterasyon yoluyla promotor alt biriminde DNA hipometilasyonuna bağlı olarak aktifleşebilir ve hücrede transformasyonu başlatan onko-protein sentezine neden olurlar (Şekil 1). Yani metilasyon gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır [19].



Şekil 1. Tiroid doku tümörlerinde yaygın olarak bildirilen RET proto-onkogeninin kanser etkeni bir onkogene dönüşürken etkili tetikleyiciler, mutasyon tipleri, sentezlenen onkogenik protein ve kanserleşme sürecinde kullandığı etki yolları.

Onkogen aracılı tiroid kanseri ilk kez 1987'de fusca ve ark. [20] tarafından RET/PTC rearrangementi olarak bildirilmiştir. Daha sonra bu konuda bir çok çalışma yapılmış ve bir çok onkogen bildirilmiştir. Tiroid kanserlerinde onkogen mutasyon insidansının yaşa bağlı olarak arttığı iddia edilmektedir. Şimdiye kadar tiroid kanserinde etken olduğu bildirilen onkogenler ise şunlardır [21], (Tablo 1).

Tablo 1. Yaygın tiroid doku kanserleri başlangıcında ve progresyonunda görev alan proto-onkogenler, kromozomal lokalizasyonları, yaygın mutasyon tipleri (hotspots) ve bildirilmiş mutasyon yüzdeleri.

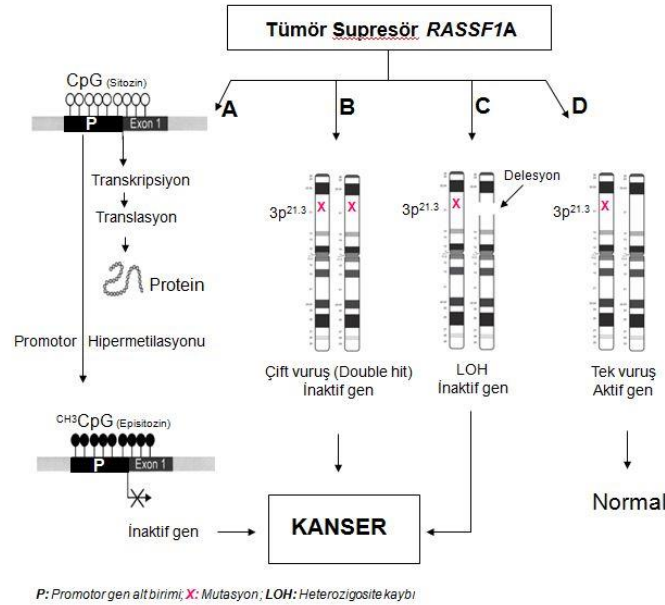
Proto-onkogen	Kromozomal lokalizasyon	Mutasyon Tipi	Protein	Metabolik Yolak	Prevelans (%)			
					PTK	FTK	DTK	UDTK
<i>BRAF</i>	7q34	V600E*, V600D V600K, V600R	Serin/Treonin kinaz	RAS/RFF/MEK/ERK/MAPK	28-83	10	Nadir	Nadir
<i>H-K-N-RAS</i>	12p12.1	Codon 12* Codon 13 Codon 61	GTPaz	MAPK	10	50	10	40
<i>RET</i>	10q11.21	Nokta mutasyon	Tirozin kinaz reseptör	GDNF (Glial-cell line derived neurotrophic factor)	35-50	10	10-20	Nadir
<i>RET/PTC</i>	10q11.21	Rearrangement	Tirozin kinaz reseptör	GDNF (Glial-cell line derived neurotrophic factor)	30-40	-	10-20	Nadir
<i>NTRK-1 (TRK)</i>	1q22	Nokta mutasyon Rearrangement	GTPaz	NGF (Nerve-growth faktör)	10	-	Nadir	Nadir
<i>B-Catenin</i>	3p22.1	Nokta mutasyon	E-cadherin	WNT	-	-	25	65
<i>c-MET</i>	7q31.2	Amplifikasyon ve veya intronik bölge mutasyonu	Tirozin kinaz reseptör	Hepatosit büyüme faktörü	70-80	10	70-80	-
Nükleer onkogenler								
<i>c-myc</i>	8q24.21	Nokta mutasyon	HMG1 nükleer protein	Nükleer transkripsiyon faktörleri	Nadir	Nadir	-	Nadir
<i>c-jun</i>	1p32-p31							
<i>c-fos</i>	14q24.3							

*: en sık rastlanılan mutasyon tipleri. PTK: Papiller Tiroid Kanseri, FTK: Folliküler tiroid kanseri, ZDTK: Zayıf diferansiyel tiroid kanseri, UDTK: Undiferansiyel tiroid kanseri

B.1.1. BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) proto-onkogeni: *BRAF* geni, hücre siklusunun kontrol yolları olan RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK yollarında önemli rolü olan bir genidir. Bu yolları kullanarak hücre proliferasyonunda ve cyclin-D1 aktivasyonunda etkili olur [22]. Memeli hücrelerinde üç tane serin-treonin kinaz *RAF* izoformları bulunmaktadır (*ARAF*, *BRAF*, *CRAF*). *BRAF* proto-onkogeni büyük oranda yapısal gen mutasyonu yoluyla onkogene dönüşürken, DNA hipometilasyonu yoluyla da onkogenik etki göstermektedirler (Şekil 2). *BRAF* mutasyon prevelansı papiller tiroid kanserinde en sık bildirilen mutasyon tipidir (%28-83). Hatta son çalışmalar papiller mikrokarsinomunda da *BRAF* aktivasyonunu işaret etmektedirler. Ayrıca papiller tip kanserlerin dediferansiyasyonu sonucu gelişen anaplastik kanserlerde de *BRAF* mutasyonundan bahsedilmektedir [23]. Papiller kanser araştırılırken İİAB da ya da cerrahi materyalde *BRAF* bakılması iyi bir diagnostik markıdır ve spesifiteyi arttırmaktadır. Hatta bazı yayınlarda tall-cell varyant papiller kanserlerde *BRAF* mutasyon prevelansını %100 olarak bildirilmektedir. *BRAF* mutasyon prevelansı en sık bildirilen mutasyon olmakla birlikte *BRAF* ile hastalık agresifliği arasında ilişki saptanmamıştır. Radyasyon nedenli papiller kanserlerde ve folliküler kanserlerde ise *BRAF* mutasyonu bildirilmemektedir [23-25]. Diğer taraftan literatürde *BRAF* mutasyonu bulunan tiroid kanserlerinin prognozunun daha kötü olduğundan ve kemoterapi cevabını olumsuz etkilediğinden bahseden çok sayıda yayın bulunmaktadır. Yine bu vakalarda daha agresif cerrahiye gidilmesi ve eksternal radyoterapi verilmesi tavsiye edilmektedir. Ayrıca *BRAF* mutasyonu ile iyot tutma oranları arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur. *BRAF* mutasyonlu olgularda iyot tutulmasında etkili olan NIS enzim ekspresyonunun belirgin düşük olduğu saptanmıştır [26]. Son yayınlarda *BRAF*'ın gerek teşhiste ve prognoz belirlemede gerekse tedavide önemli bir moleküler markır olduğu kesinlik kazanmıştır.

B.1.2. RAS (rat sarcoma 2 viral oncogene homolog) proto-onkogeni: *RAS*, tirozin-kinaz sinyal yolunda görev alan bir sinyal proteindir. *RAS* proto-onkogeninden, *HRAS*, *KRASA*, *KRASB* ve *NRAS* olmak üzere dört *RAS* onkogeni kodlanmaktadır. *RAS* proto-onkogen mutasyonları hücre malignan transformasyonunda ve insanda birden fazla kanser tipinin progresyonunda rol oynar [27]. *RAS* proto-onkogeni onkogene dönüştüğünde, reseptör alt biriminden yoksun transmembran bir G proteini sentezlenir. Sentezlenen bu protein sürekli olarak GTPaz aktivitesi göstermektedir. Normal GTPaz dan farklı olarak bu mutant GTPaz hücre tarafından kontrol edilememekte ve hücrenin mitotik aktivitesi artmaktadır. *RAS* onkogeni aynı şekilde MAPK yolağını kullanarak da hücre mitotik aktivitesini arttırmaktadır. Tiroid folliküler ve anaplastik kanserlerinin %40-50'sinde *KRAS* mutasyonu bildirilmekte iken papiller kanserlerinde *KRAS* mutasyonu nadiren bildirilmektedir [28]. Son yapılan araştırmalar tiroglobulinin ekspresyonunun az ya da hiç olmadığı tümörlerde *NRAS* kodon 61 mutasyonun daha sık olduğu (hotspot) bildirmektedirler. Mutant *KRAS* varlığı anti-EGFR tedavisinde yanıtı büyük oranda etkisiz kılmaktadır [29]. Bu nedenle Amerika Klinik Onkoloji Birliği tüm metastatik

tümörlerin anti-EGFR tedavisine başlamadan önce *KRAS* exon 2 kodon 12 13 ve 61 mutasyonları açısından genotiplendirilmesini önermektedir [30].



Şekil 2. Organizmanın bütün hücrelerinde aktif bir fonksiyonel gen olan (Housekeeping) tümör supresör *RASSF1A* genin insanda kromozomal lokalizasyonu ve kanserde etkeni olmasına neden olan mekanizmalar.

- Epigenetik alterasyon; başlangıçta protein sentezleyen aktif gen, promotor bölge DNA hipermetilasyonu ile inaktif hale gelir ve tümör supresif etkisi ortadan kalkar.
- Çift vuruş (Double Hit); başlangıçta protein sentezleyen aktif gen, atasal her iki allelede meydana gelen yapısal nokta mutasyon ile inaktif hale gelir ve tümör supresif etkisi ortadan kalkar.
- Heterozigosite kaybı (LOH); başlangıçta protein sentezleyen aktif gen, atasal allelin birinde yapısal nokta mutasyon ve diğerinde ise kromozomal bölge delesyonu sonrası gen tamamen inaktif hale gelir, protein sentezine katılmaz ve tümör supresif etkisi ortadan kalkar.
- Normal Hücre; Kanserde onkogenlerin aksine, otozomal resesif kalıtılan tümör supresör genlerde her iki allelden birisinde meydana gelen tek vuruş mutasyona sonrası, alternatif allel normal fonksiyon yaptığı için kanser tetiklenmez veya tetiklenmiş kanserin ilerlemesine katkı vermez.

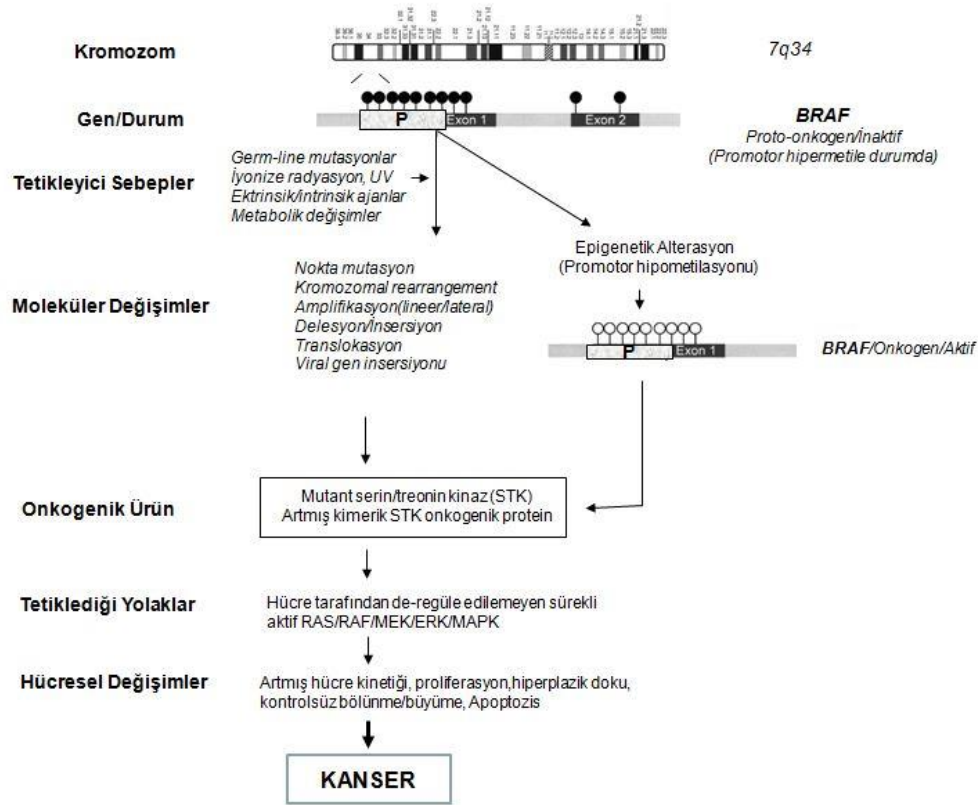
B.1.3. *RET* (Rearranged during transfection) proto-onkogeni: *RET* proto-onkogeni kromozom 10q11.21 kolunda lokalizedir ve TGF- β - related nörotrofik faktör bağlayan bir tirozin kinaz reseptör proteinini kodlar. *RET* proto-onkogeni normal olarak nöral krest kökenli hücre tiplerinde eksprese olmaktadır. Bu nedenle sadece nöroektodermal kökenli parafoliküler ve C hücrelerinden köken alan medüller tiroid kanserlerinde saptanmaktadır [27, 31]. Çeşitli germ-line ve somatik *RET* mutasyonları ya da promotor hipometilasyonu sonucu reseptör TK aktivitesi sürekli olarak uyarılarak multiple endokrin neoplazi tip 2 sendromlarına (MEN2A, MEN2B ve familial medüller tiroid kanseri) yol açmaktadır (Şekil 3) [32].

B.1.4. *RET/PTC* proto-onkogeni: İyonize radyasyonun tiroid kanseri etyopatolojisinde önemli bir yeri vardır. İyonize radyasyon ekstrinsik kaynaklı mutajenlerin başında gelir [33]. Ancak iyonize radyasyon maruziyeti olan her olguda hücre transformasyonu olmamakta yani kanser gelişmemektedir. Bu durumda en önemli faktör, iyonize radyasyona maruz kalan solid dokudaki hücrelerin mitotik indeks sıklığı ve hangi hücre evresinde bulunduğudur. Transformasyon riski en yüksek olan hücrenin, bölünmekte olan ve S evresinde olan hücre olduğu bilinmektedir. Yine iyonize radyasyonun neden olduğu mutasyonların çoğunun, insan genomunun %98'ini meydana getiren ve mutasyondan koruyucu mekanizma olan non-genomik (protein karşılığı olmayan) DNA bölgesinde meydana gelmesi kanserden koruyucu bir mekanizmadır. Buna rağmen bazı olgularda

iyonize radyasyon eukaryotik genomda düşük olasılıkla da olsa fonksiyonel genlerde (onkogen-tümör supresyon gen ve diğer) başta nokta mutasyon, delesyon, translokasyon ve kromozomlar arası rearrangementlar'a neden olmaktadır. Tiroid dokularında bir proto-onkogen olan *RET* iyonize radyasyon maruziyetinde en yaygın olarak rearrangement olan bir genidir. *RET* onkogeni şimdiye kadar bildirilmiş 15 tip fonksiyonel donör genle, bölge değişimi yaparak yeniden düzenlenmeye (rearrangement) uğramaktadır (Tablo 2). Bu rearrangementlar ilk kez papiller tiroid kanserinde bildirilmiş olduğundan *RET/PTC* olarak adlandırılmıştır [34]. Tiroid spesifik *RET/PTC* geni ilk kez 1987 yılında bildirilmiştir [20]. Bugüne kadar 15 adet *RET/PTC* rearrangement'ı tanımlanmış olmakla birlikte tiroid kanseri için ilk üç tanesi önemli olmuştur. Bu rearrangement'ın gelişmesinde iyonize radyasyonun rolü çok fazladır. Bu durum birçok *in vivo* çalışmayla kanıtlanmıştır. Radyasyon uyarımlı tiroid karsinomların büyük oranında *RET/PTC* rearrangement'ının yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir [27, 34]. Rearrangement olan *RET* geni kontrol edilemeyen aşırı tirozin kinaz reseptör proteini sentezleterek hücreleri transformasyona götürebilmektedir. Agresif ve non-agresif kanserlerdeki *RET* rearrangement ekspresyon düzeyleri tiroid papiller kanser tanı ve takibinde önemlidir. *RET/PTC-1* sporadik papiller kanserlerin %35-50'sinde bildirilmiştir. Ancak literatürde Çernobil nükleer kazasından sonra radyasyon maruziyetine bağlı gelişen tiroid kanserlerinde %80'e varan *RET/PTC* mutasyon oranları bulunmaktadır. Çok sayıda çalışma Çernobil sonrası Belaruslu yetişkin ve çocuklarda oluşan tiroid kanserlerinin %80 ninde *RET/PTC* aktivasyonu bildirilmektedir. *RET/PTC* onkogen aktivasyonu papiller tiroid kanserine sınırlı gibi görünse de başka tip tiroid kanserlerinde de rastlanılmıştır; örneğin herediter medüller tiroid kanseri olgularında *RET* proto-onkogeninde germline mutasyon bulunmaktadır. Transgenik farelerde yapılan bir çalışmada *RET/PTC1*'in nonmetastatik tiroid tümörlerine neden olduğu, *RET/PTC3*'ün ise metastaz gelişimine neden olduğu gösterilmiştir. *RET/PTC* aktivasyonu okült PTK'da %77, klinik olarak belirgin kanserlerde %47 oranında belirlenmiştir. Bu nedenle *RET/PTC1*'in papiller tiroid kanserinin başlangıcında, *RET/PTC3*'ün ise kanserin yayılımında (agresivite) rolleri olduğu düşünülmektedir [33, 35].

B.1.5. *NTRK-1* (nötrofilik tirozin kinaz tip 1): *NTRK-1* ya da eski adıyla TRK, sinir büyüme faktörlerinin bağlandığı transmembran tirozin kinaz reseptörünü sentezler. Bir nokta mutasyon ya da kromozom 1 ve 3 üzerine lokalize diğer bazı fonksiyonel genlerle (*NTRK1/T1*, *NTRK1/T2*, *NTRK1/TFG*) rearrangement sonrası mutant protein ve/veya kimerik protein şeklinde sentezlenir. Böylece ligand bağımsız olarak sürekli aktivite göstererek hücre transformasyonunu başlatır. Çernobil sonrası papiller karsinomalarda *NTRK1* aktivasyonu ender bildirilirken, son zamanlarda medüller karsinomların patogeneğinde önemli olduğu varsayılmaktadır [33, 36].

B.1.6. *β-catenin*: *β-catenin* CTNBI tarafından kodlanan hücre adezyonunda ve transkripsiyonunda rol oynayan multifonksiyonel bir proteindir. Wnt yolağını kullanarak hücrelerarası adezyonu sağlar. Sitoplazmada E-cadherin ile *β-catenin* kompleks oluşturarak apoptoz inhibisyonu ve hücre proliferasyonunu stimüle eden genlerin transaktivasyonunda rol alır. *β-catenin* bu rolünden dolayı onkogen olarak tanımlanmaktadır. Zayıf ve kötü diferansiye tiroid kanserlerinde E-cadherin ekspresyonu düşük seviyede tespit edilmiş ve *β-catenin* mutasyonu (%25-65) saptanmıştır. Bu nedenle düşük E-cadherin ekspresyonu ve *β-catenin* mutasyon varlığının tiroid kanser dediferansiyasyonuna ve progresyonuna eşlik eden faktörler olduğu düşünülmektedir [14, 27, 34, 37].



Şekil. 3. Kromozom 7q34 de lokalize proto-onkogen *BRAF*'ın hücre transformasyonuna neden olacak onkogene dönüşmesinde etkili tetikleyiciler, mutasyon tipleri, onkogenik protein, hücrezel değişimler ve kanserleşme sürecinde kullandığı etki yolakları.

Tablo 2. Tiroid doku tümörlerinde bildirilmiş *RET* proto-onkogenin en yaygın transloke olduğu (Rearrangement) fonksiyonel donör genler ve hücrede artmış kimerik onkogenik protein sentezinden sorumlu rekombine gen profilleri.

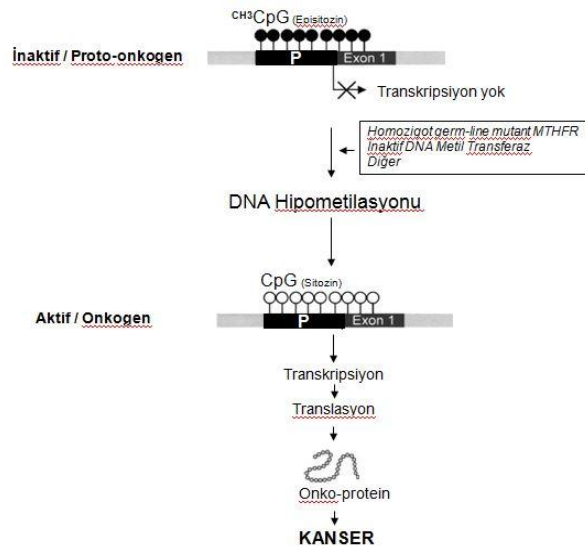
Proto-Onkogen	Fonksiyonel donör gen	Kimerik onkogen	Radyasyonla ilgisi
<i>RET</i> 10q11.2	<i>CCD6(H4)</i>	<i>RET/PTC1</i>	Nadir
	<i>PRKARIA</i>	<i>RET/PTC2</i>	Nadir
	<i>NCO4(Ele1)</i>	<i>RET/PTC3</i>	+
	<i>NCO4(Ele1)</i>	<i>RET/PTC4</i>	+
	<i>GOLGA5</i>	<i>RET/PTC5</i>	+
	<i>TRIM24</i>	<i>RET/PTC6</i>	+
	<i>TRIM33</i>	<i>RET/PTC7</i>	+
	<i>KTN1</i>	<i>RET/PTC8</i>	+
	<i>RFG9</i>	<i>RET/PTC9</i>	+
	<i>ELKS</i>	<i>RET/ELKS</i>	+
	<i>PCM1</i>	<i>RET/PCM1</i>	+
	<i>TRIM27</i>	<i>RET/TRIM27</i>	+
	<i>HOOK3</i>	<i>RET/HOOK3</i>	-
	<i>PTCH1</i>	<i>RET/PTCH1</i>	?
	<i>PTCH2</i>	<i>RET/PTCH2</i>	?

B.1.7. C-met proto-onkogeni: Tirozin kinazlar malignant hücre transformasyon yolağında çok önemli genlerdir. İnsan tiroid dokularında 21 farklı tirozin kinaz tanımlanmıştır. Bu tirozin kinazların birçoğu hücre proliferasyonu ve diferansiyonunun regülasyonunda rol alırlar. Diferansiye tiroid kanserlerinde tirozin kinaz over ekspresyonu bildirilmiştir. En önemli tirozin kinazlardan bir tanesi *c-met* tarafından sentezlenen ve iki subunitten ibaret 190 Kda büyüklüğünde bir transmembran proteini

olan hepatosit büyüme faktörüdür. Hepatosit büyüme faktörü, tiroid folliküler hücrelerini de içeren tüm epitelial hücrelerde mitojenik etkili bir proteindir [27]. Özellikle papiller tiroid kanserlerinin %70-80'inde bu şekilde *C-met* over-ekspresyonu bildirilmiştir. Aynı şekilde *C-met* gen over-ekspresyonu agresif varyant tiroid papiller kanserlerinde lenf nodu metastazlarında yaygın olarak bildirilmektedir [27, 38]. Bu sebeple *C-met* over-ekspresyonun ileri tümör evrelendirilmesinde indikatör bir markır olabileceği bildirilmektedir.

B.1.8. Nükleer onkogenler: Tiroid onkogeninde rol oynayan en önemli transkripsiyon faktörleri aynı isimli proto-onkogenlerce eksprese edilen myc, jun, fos proteinleridir. *C-myc*, *c-jun*, *c-fos* gibi proto-onkogenler mutasyona uğradıklarında (aktifleştiginde) hücre büyüme ve farklılaşmasının kontrolünde görev alan nükleer transkripsiyon faktörleri üretirler. Tiroid kanserlerinde aşırı ekspresyonu bildirilmektedir. Bu proteinler normal tiroid dokusunda, guatr dokusunda ve folliküler adenomlarda bulunmadığından malignant tiroid tümörlerinde önemli bir moleküler markır olarak kabul edilmektedirler [27].

B.2. Tümör supresör gen aracılı tiroid kanserleri: Yüksek canlılarda tanımlanmış 50 civarında tümör supresör gen bulunmaktadır. Temel fonksiyonları hücre çoğalmasını kontrol etmektir. Tümör supresör genler, bozulmuş hücre döngüsünün devamını engelleyerek, gerektiğinde hücreleri apoptozise yönlendirirler. Hücre içerisinde DNA replikasyonu ve tamirinin hatasız şekilde gerçekleşmesini sağlayarak hücre çoğalmasını kontrol altında tutarlar. Organizmanın bütün hücrelerinde ve hücrelerin bütün siklusu boyunca aktif olarak (house-keeping gen) bulunurlar. Tümör supresör genler resesif kalıtılırlar ve inaktif oldukları durumda onkogeneze katkı verirler. Resesif kalıtım gösterdiklerinden inaktif olabilmeleri için her iki allelin birlikte fonksiyon kaybına uğraması gerekmektedir. İnaktivasyonları, nokta mutasyon, delesyon mutasyon, promotör metilasyon, miRNA aracılı ve epigenetik değişiklikler gibi değişik mekanizmalarla gerçekleşebilir. Her iki allelin fonksiyon kaybına uğraması durumu çift vuruş (double hit) olarak bilinir. Diğer taraftan allerlerden birinde mutasyon diğerinde delesyon olması durumunda da [loss of heterogenite (LOH)] tümör supresyon genler inaktif hal alırlar [11], (Şekil 4). Tiroid kanserinde etkili olduğu bildirilen tümör supresör genler şunlardır; *pTEN*, *RASSF1A*, *PAX8/PPARγ*, *p53*, *MGMT*, *DAPK1*, *p16*, *THR beta*, *Rap1GAP* (Tablo 3). Bu genlerden önemli olan bazılarının tiroid kanserindeki rolleri şu şekildedir.



Şekil 4. Epigenetik kalıtımın proto-onkogen reaktivasyonu yolu ile tiroid kanserindeki önemli rolü. Organizmanın bütün hücrelerinde promotör bölge hipermetilasyonu ile onkogenler proto-onkogenler olarak inaktive edilir. Tümör supresör genlerin aksine proto-onkogenler, DNA hipometilasyonu sonrası çok aşamalı kansere tetikleyici ve/veya ilerleticiler olarak görev alırlar.

Tablo 3. Bir yapısal mutasyon ve/veya promotör hipermetilasyonuna bağlı inaktivasyonla çeşitli tiroid kanserlerinde tümör supresör aracılı onkogeneze neden olan genler, etki yolakları, homozigot inaktivasyon oranları (Double hit/çift vuruş) ve insanda lokalize oldukları kromozom bölgeleri.

Tümör Supresör Gen	Kromozomal Lokalizasyonu	Fonksiyon	Tiroid Kanser Tipi	İnaktivasyon oranı (%),(Homozigot)
<i>pTEN</i>	10q22-23	PI3K/Akt yolağında görevli	PTK	2
			FTK	15
			ATK	23
<i>RASSF1A /MST1</i>	3p21.31	Hücre döngü progresyon inhibisyonu, apoptozis	PTK	60*
			FTK	70*
			MTK	80*
			ATK	80*
<i>PAX8/PPARγ</i>	2q13 / 3p25	Tam olarak bilinmiyor	FTK	35
<i>p53</i>	17p	Apoptoz, Tümör progresyonu ve invazyonu	PTK	0-9
			FTK	67-88*
			ATK	
<i>MGMT</i>	10q26.3	DNA tamiri (A/G transisyonları)	PTK MTK ATK	5-25
<i>p16/CDKN2A</i>	9p21.3	CDK4 inhibitörü	PTK FTK	Değişen oranlarda
<i>THR beta</i>	14q	Tiroid hormon aktivasyonu	PTK FTK	30 33
<i>DAPK1</i>	9q34.1	Apoptoz aktivasyonu	Tiroid lenfoma ATK	20
<i>Rap1GAP</i>	9p21.96	GTPaz aktivasyonu Tümör progresyonu ve invazyonu üzerinde etkili	ATK	40

*: En yüksek; **PTK**: Papiller tiroid kanseri; **FTK**: Folliküler tiroid kanseri; **MTK**: Medüller tiroid kanseri; **ATK**: Anaplastik tiroid kanseri

B.2.1. *pTEN* (Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome Ten): *pTEN* kromozom 10q 22-23 de lokalize bir tümör supresör genidir. Tümörögenizde önemli bir yolak olan fosfatidil inositol-3'-kinaz (PI3K)/Akt yolağında görev alır. (PI3K)/Akt yolağı hücrel metabolizmanın kontrolünde özellikle glukoz transportu ve kullanımı, hücre büyümesinin regülasyonu, protein biyosentezi ve apoptozun önlemesinden sorumludur. *pTEN* bu yolağın negatif düzenleyicisidir. Çeşitli mutasyonlar ve promotör hipermetilasyonu ile *pTEN*'in inaktive olması birçok tipte kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır. *pTEN* mutasyonları papiller tiroid kanserinde %2, follikülerde %15, anaplastik tiroid kanserinde ise %23 oranlarında bildirilmektedir [39].

B.2.2. *RASSF1A* (Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member): *RASSF1A*, hücre döngü progresyonunun ve siklinD1 akümüasyonunun inhibisyonunda rol alır. Ayrıca *RASSF1A*, apoptotik protein kinaz MST1'e bağlanarak apoptoz yolağını kontrol eder. *RASSF1A* inaktivasyonu, nokta mutasyon, delesyon mutasyon, promotör metilasyon, ve epigenetik değişiklikler gibi değişik mekanizmalarla gerçekleşebilir. Resesif kalıtım gösterdiklerinden her iki *RASSF1A* gen allelinin fonksiyon kaybına uğraması gerekmektedir (çift vuruş=double hit). Diğer taraftan allerlerden birinde mutasyon diğerinde delesyon olması durumunda da [loss of heterogenite (LOH)] *RASSF1A* geni inaktif hal alır [40]. *RASSF1A* hipermetilasyonu insan kanserlerinin birçok tipinde en sık rastlanılan tümör supresör gen değişikliğidir [41] (Şekil 4). Tiroid kanserlerinin anaplastik ve medüller tiplerinde %80, papiller ve folliküler tiplerinde ise %60-70 oranında *RASSF1A* homozigot promotör hipermetilasyonu bildirilmektedir [42].

B.2.3. PAX8/PPAR γ rearrangement: PAX8 geni bir transkripsiyon faktörü sentezleyerek embriyonal dönemde tiroid folliküler hücrelerin ilkin farklılaşmasında görev alır [29, 43]. Bu genler yetişkinlerde promotor gen hipermetilasyonu ile inaktive edilirler. Yetişkinlerde tiroid folliküler hücreleride dahil hiçbir somatik hücrede ekspresyon edilmezler. Ancak PAX8 geni, peroksizom proliferatör-aktivatör reseptör (PPAR γ) geniyle sıklıkla rearrangement olarak yeniden ekspresyon kazanabilmektedirler. PPAR γ tiroid hormonu, retinoik asit, androgen ve östrojen reseptörlerini de içeren nükleer hormon reseptör süper ailesinin bir üyesidir. PAX8/PPAR γ rearrangement'ının onkogenezdaki etki mekanizması ortaya konamamakla birlikte PAX8/PPAR γ rearrangement'ı esnasında bir tümör supresör gen olan PPAR γ 'ın inaktive olmasından kaynaklanabileceği varsayılmaktadır. PAX8/PPAR γ rearrangement'larının RAS mutasyonlarında olduğu gibi tiroid folliküler kanser gelişimiyle ilişkili olduğu (%35) düşünülmektedir [30, 44].

B.2.4. p53: Bir tümör supresör gen olan p53, transkripsiyonu regüle eden p53 proteinini kodlar. p53 proteini hücre homeostazisinde önemli rol oynar. Hasarlı DNA'nın onarılmasında ve apoptoziste düzenleyici etkileri vardır. P53 geninde meydana gelen mutasyonlar sonucunda bu protein inaktive olur. Defektif p53 yolağı karsinogenezde, kanser progresyonunda ve kanser tedavisi direncinde önemli rol oynamaktadır. İyi diferansiye tiroid kanserlerinde p53 mutasyonuna pek rastlanmazken (%0-9), anaplastik ve kötü diferansiye tiplerinde sıkça (%67-88) rastlanmaktadır [23, 37, 45].

B.2.5. MGMT (O6 Metilguanin-DNA metiltransferaz): MGMT normal hücrelerde bulunan hücresel DNA tamir proteinidir ve guanin'in O6 pozisyonundaki alkilasyonunu (metilasyonu) hızla geri çevirerek alkilleyici ajanların sitotoksik etkisini azaltarak karsinogenezisi durdurduğu için tümör supresörü olarak rol alır. Alkilleyici ajanlara maruz kaldığında DNA üzerinde meydana gelen hasarı onarmak için MGMT ekspresyonu artmaktadır. Birçok kanser tipinde olduğu gibi tiroid kanserlerinde de artmış MGMT ekspresyonunu bildiren yayınlar bulunmaktadır [45, 46].

B.3. Fonksiyonel gen aracılı tiroid kanserleri: İnsanda tanımlanmış 20-25 bin adet fonksiyonel gen bulunmaktadır. Bu genlerden sentezlenen fonksiyonel proteinlerin hücrelerdeki rolleri çok çeşitlidir. Histon protein genleri ve MTHFR gibi çoğu genler organizmanın bütün hücrelerinde ve hücrelerin bütün hayat siklusları boyunca aktif halde bulunurlar. Diğer yandan sodyum iyodür symporter (NIS) proteini ve hormonların sentezlendiği bazı genler ise sadece belli doku ve hücre gruplarında aktiftirler. Bundan dolayı bu genlere doku spesifik genler denir. Bu gen grubu organogenez ve doku farklılaşması sürecinde promotor hipermetilasyonu ile primer olarak inaktive edilirler. Tümör doku kimliklendirme çalışmaları, kanser oluşumunda sadece onkogen ve tümör supresör genler fonksiyon yapmadığını, aynı zamanda bazı fonksiyonel genlerin mRNA ekspresyonlarının da düşük olduğunu göstermiştir. Tiroid kanser gelişiminde etkili olduğu ortaya konabilmiş fonksiyonel genler Tablo 4'te verilmiştir. Bu genlerden önemli olan bazıları şunlardır:

B.3.1. Tiroid stimülan hormon (TSH) ve reseptörü (TSH-R): TSH tiroid dokusunun büyümesi ve gelişmesi için önemli bir hormondur. TSH membranda lokalize TSH reseptörüne bağlandıktan sonra tiroid hücre epitel proliferasyonu stimüle eder ve hormon sentezinde ve doku farklılaşmasında önemli markırlar olan tiroglobulin, tiroperoksidaz ve NIS ekspresyonlarını düzenler. Tiroid hormon reseptörleri olan THR A ve B tiroid doku fonksiyonunda kilit düzenleyicilerdir. Bu reseptörlerde meydana gelen mutasyonlar veya epigenetik alterasyonlar tiroid kanserini de içeren birçok tiroid hastalıklarına neden olmaktadır. Bu reseptör mutasyonları en sık toksik nodüler guatr ve adenoma neden olmaktadır. Son literatür verilerine göre özellikle diferansiye tiroid kanserinde bu reseptörlerde yaygın genetik değişimler olduğunu bildirmektedirler. TSHR genindeki genetik değişimler iki yolla tiroid kanserlerine (tiroid hücre transformasyonuna) katkı vermektedir;

1. Fonksiyonel gen alt biriminde meydana gelen yapısal mutasyonlar.
2. Promotor bölge hipermetilasyonu; Fonksiyonel gen bölgesinde meydana gelen yapısal mutasyonlar hormon-reseptör özgüllüğünü kaybettiği gibi kontrol edilemez düzeyde arttırabilirler. Bu durumda çoğunlukla dokuda hiperaktif nodül oluşumuna neden olmakta ve bu durum adenom ve/veya toksik nodül ile sonuçlanmaktadır.

TSH yapısal mutasyonlarının neoplastik transformasyondaki rolü çok açık olmamakla birlikte cAMP kaskatını sürekli aktive ederek tiroid malignensi gelişimine neden olduğu varsayılmaktadır. Mutant dimerik G protein sentezine neden olan yapısal mutasyon sonrası, devamlı hücre içi cAMP kaskatını hücre kontrolü dışında aktive ederek ERK/MEK tirozin kinaz aktivitesi ile hiperproliferatif tiroid hücre transformasyonuna neden olmaktadır. Tiroid kanserlerinin FTK ve MTK tiplerinde %2-20'sinde yapısal TSH reseptör mutasyonu bildirilmiştir. TSH promotor hipermetilasyon ise, yapısal gen mutasyonlarından daha sık rastlanılan bir durumdur. TSH promotor hipermetilasyonu veya yapısal gen mutasyonları bu gen bölgesinden az ya da hiç mRNA sentezine neden olmaktadır. TSH reseptörüne ait mRNA'nın azlığı yada yokluğu tümör dokuları dokularının diferensiyasyonu ile ilgili bir durumdur, iyi diferansiye dokularda az iken, kötü diferansiye tiplerde TSH mRNA hiç sentezlenmemektedir. TSH reseptörü tiroid dokusunda NIS ekspresyonunu düzenlediği için bu reseptör deki düşüş tiroid kanserlerinin iyot tutma yeteneğini azaltır. Periferik dolaşımda TSH reseptör mRNA ölçümü önemli bir markır olarak kabul edilir. Nitekim bazı araştırmacılar bu kanser olgularında adjuvan tedavi olarak demetiatör ajanların kullandığı durumlarda tedavide önemli başarıların elde edilebildiğini bildirmekteyler [47, 48].

Tablo 4. Çoğunlukla germ-line mutant durumunda insanda özellikle ailesel tiroid kanserlerinde fonksiyonel gen aracılı primer ve/veya sekonder onkogenezi etkili genler, ekspresyon durumları, sentezledikleri fonksiyonel protein ve etkili oldukları yaygın tiroid kanser tipi.

Fonksiyonel gen	Ekspresyon durumu	Protein	Tiroid kanser tipi	Fonksiyon
<i>TSH ve TSH-R</i>	Ekspresyon artışı	TSH, THR A ve B	FTK, MTK	Hücre epitel proliferasyonu ve tiroid hormon sentezi
<i>Na⁺/I⁻ symporter</i>	Ekspresyon azalması	Sodium iodide symporter	PTK, FTK, MTK, ATK	Hücre içine iyot alınması
<i>TTF1</i>	Ekspresyon artışı	Tiroglobulin ve Tiroperoksidad	PTK, FTK, MTK	Tiroid dokusunun erken diferansiyasyonu ve morfogenez
<i>MTHFR</i>	Ekspresyon azalması	Hücre içi metil sentezi	Genel onkogenezi	Yetersiz(%40-60) metil kaynağına bağlı proto-onkogen aktivasyonu
<i>MDR1</i>	Ekspresyon azalması	Glikoprotein-P	PTK, FTK	Transmembran eflüx pompası
<i>PAX8</i>	Ekspresyon artışı	Transkripsiyon faktörü	PTK, FTK	Embriyonel dönemde tiroid gelişimi
<i>FOXE1</i>	Ekspresyon artışı	Transkripsiyon faktörü	PTK	Embriyonel dönemde tiroid hücre farklılaşması ve migrasyonu
<i>CYP 450</i>	Ekspresyon azalması	CYP450 enzimleri	Genel onkogenezi	İlaç ve ksenobiyotik metabolizasyonu ve atılımı
<i>MMP 3 ve 9</i>	Ekspresyon artışı	Matriks metaloproteinaz	PTK agresif tümör, metastaz	İleri anjiogenezi
<i>PcG</i>	Ekspresyon artışı	Policomb grup proteinler	PTK agresif tümör, metastaz	Düzensiz gen regülasyonu
<i>COX2</i>	Ekspresyon artışı	Sitokin etkili protein	PTK, ATK	Epitelial hücre bölünmesi ve büyümesi

PTK: Papiller tiroid kanseri; FTK: Folliküler tiroid kanseri; MTK: Medüller tiroid kanseri; ATK: Anaplastik tiroid kanseri

B.3.2. Na(+)/I(-) symporter (SLC5A5): Sodium iodide symporter (NIS) bir glikoprotein olup tiroid, tükrük bezi, mide ve meme dokusunda yüksek düzeylerde olmak üzere birçok dokuda aktif bir şekilde sentezlenir. Tiroid folliküler hücrelerinin bazolateral membranında bulunan NIS proteini iyot molekülünün hücre içine alınmasına aracılık eder. Tiroid stimulan hormon NIS ekspresyonunu arttıran primer regülatör faktördür. Diğer regülatörleri ise TGFβ, TNFα, intörlökin1α ve retinoik asittir. Birçok çalışma, tiroid kanserlerinde NIS ekspresyonunun düştüğünü ya da hiç olmadığını bildirmektedir [49]. Tiroid kanser hücre differensiyasyon düzeyi azaldıkça, NIS ekspresyonu daha da azalmakta hatta undiferansiye tiroid kanserlerinde hiç eksprese edilmemektedir. Hatta NIS ekspresyonundaki bu düşüşün tiroid hücre transformasyonunda en erken tetikleyici olduğu iddia edilmektedir [50, 51]. NIS geni sadece tiroid kanserlerinin değil bütün tiroid hastalıklarının açıklanmasında önemli bir faktördür.

B.3.3. Thyroid transcription factor-1 (TTF-1): TTF-1, tiroglobulin ve tiroperoksidaz genlerinin tiroid spesifik transkripsiyon promotörü olan bir proteindir [52]. TTF-1 tiroid dokusunun erken diferansiyasyon ve morfogenezinde rol oynar. Papiller tiroid kanserinde %96, follikülerde %100, oksifilikte 20%, medüllerde 90% oranında pozitif olduğu bildirilmektedir [53].

B.3.4. MTHFR (5,10-Methylene tetrahydrofolate reductase): MTHFR geni 5,10-metilen tetrahidrofolat redüktaz enzimini sentezleyen ve folat metabolizması üzerine etkili sistemik bir genidir. MTHFR enzimi, homosisteinin-metionin döngüsünde görev alır. Ayrıca DNA metilasyonu için tek metil kaynağı sağlayıcıdır. Yapılan çalışmalarda heterozigot/homozigot C677T mutant bireylerde MTHFR enzim aktivitesi %30-65 oranında düştüğü bildirilmektedir. Şimdiye kadar kardiyovasküler hastalıklar ve homosistein metabolizma hastalıkları ile MTHFR enzim aktivitesi arasındaki ilişki net olarak ortaya konabilmişti [54]. Ancak son zamanlarda MTHFR'ın DNA metilasyonunda tek metil vericisi olması ve DNA metilasyonunda epigenetik düzenlemedeki önemli rolü nedeniyle kanserle olan ilişki de araştırılmaya başlanmıştır. Hücrede metil vericisinin eksik olması durumunda metillenerek inaktive edilmesi gereken bazı genlerin, örneğin onkogenlerin metillenmemesi durumunda aktif hale gelerek onkogenik protein üretimiyle, hücrenin ilkin transomasyonunda görev alabilirler. Birçok kanser tipiyle MTHFR gen mutasyonu arasındaki ilişkisi literatürde bildirilmektedir [55]. Nitekim bizde diferensiyasyon tiroid kanserlerinde yaptığımız bir çalışmada MTHFR gen mutasyonu olan olgularda tiroid kanser riskinin yüksek olduğunu ve germ-line MTHFR mutabilitesinin önemli bir belirteç olabileceğini ortaya koyduk [56].

B.3.5. MDR1 (Multidrug Resistance 1): ATP binding cassette (ABCB1) gen ailesinden olan MDR1 geni, permeabilite-glikoprotein (P-gp) adında taşıyıcı bir protein sentezlemektedir. P-gp bir transmembran protein olup çeşitli ksenobiyotikler, kimyasallar ve ilaçları hücrelerden uzaklaştırarak hücrede eflüx pompa görevi yapmaktadır. Bu protein ince ve kalın barsakta, pankreasta, böbrekte, karaciğerde, testiste ve kan beyin bariyerinde daha yoğun olmak üzere tüm dokularda bulunmaktadır. En yaygın mutasyon tipi MDR1 C3435T transisyonel silent mutasyondur [57]. Kemoterapiye dirençli tümör hücrelerinde aşırı sentezlendiği bilinmektedir. Son yayınlarda MDR1 gen mutasyonunun insanda birden fazla kanser tipiyle ilişkili olduğu rapor edilmektedir. Nitekim bizde MDR1 3435TT gen profilinin tiroid kanser riskini arttırdığını, iyi diferensiyasyon tiroid kanser vakalarında yaptığımız bir çalışmada bildirdik [58].

B.3.6. PAX8 (paired box 8): İnsan embriyonal dokularında primer olarak ekprese olan genden sentezlenen transkripsiyon faktörü tiroid ve böbrek dokusunun müllerian sistem gelişiminden sorumludur. Embriyonel dönemde maksimum düzeyde fonksiyon yapan gen yetişkin bireylerde promotör hipermetilasyonu ile inaktive edilmektedir. Mutasyon ya da epigenetik alterasyonlarla (promotör hipometilasyonu) yeniden aktif hale gelebilme ve sentezlediği transkripsiyon faktörüyle tiroid dokularında bölünmeyi tetikleyerek onkogeneze neden olabilmektedir. Tümör supresörler bölümünde bahsedildiği gibi *PPAR γ* geniyle sıklıkla rearrangement olarak da yeniden ekspresyon kazanabilmektedirler. Son yayınlarda papiller tiroid kanserlerinin %5-10'unda, folliküler adenom ve kanserlerin %30-40'ında *PAX8* gen ekspresyonu bildirilmiştir [29, 59, 60].

B.3.7. FOXE1 (forkhead box E1 (thyroid transcription factor 2)): *FOXE1* bir transkripsiyon faktörü olup embriyonal dönemde over-eksprese olan gen tiroid primordium hücrelerinin ilkin farklılaşmasında, tiroid bezinin migrasyonunda ve gelişiminde *PAX8* ile birlikte görev alır. Aynı zamanda *FOXE1* geni *PAX8* aktivasyonunda görev alan bir transkripsiyon faktörüdür. Yine *PAX8* geni gibi yetişkin bireylerde promotör bölge hipermetilasyonu yoluyla inaktive edilirler. Mutasyon ya da promotör hipometilasyonu ile yeniden aktif hale gelebilir. Gen bölgesinde meydana gelen yapısal mutasyonlar tiroid folliküler kanserde birlikte bildirimlikle birlikte sporadik ya da iyonize radyasyon nedenli papiller kanserlerde de bildirilmektedir. Funn ve arkadaşlarının Çin popülasyonuna iat papiller kanserlerde yaptığı bir çalışmada *FOXE1* genine ait

tümör doku mRNA ekspresyonlarının sağlıklı dokuya oranla %65 oranında daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar *FOXE1* mRNA düzeylerinin papiller tiroid kanserlerinin tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyel biyomarkır olduğunu iddia etmektedirler [61, 62].

B.4. MikroRNA (miRNA) downregülasyona bağlı tiroid kanserleri: MikroRNA'lar 19-25 nükleotid uzunluğunda tek iplikli RNA molekülleridir ve ilk kez Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında keşfedilmişlerdir. Protein sentezine katılmayan moleküller olup kendi nükleotid dizilerinin tamamlayıcısı olan hedef mRNA'lara bağlanıp translasyonel baskılama veya mRNA yıkımı ile transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesini gerçekleştirirler. Kısaca miRNA'lar post-transkripsiyonal düzeyde gen düzenlemesinde görev alırlar. Bu görevleriyle hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, immün yanıt, hematopoezis ve apoptozis gibi homeostatik süreçlerde temel mediatör rol oynarlar [63, 64]. Ökaryotik hücrelerin normal fonksiyonlarının devamında rolü olan miRNA seviyelerinin normal koşulların dışına çıkmasının kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Farklı 100 geni regüle ettiği saptanmıştır. MiRNA'lar onkogenin farklı basamaklarında bazı onkogen, tümör supresör ve fonksiyonel genlerin up/down regülasyonlarına aracılık ederler. MiRNA'lar tümör dokularına özgü tip ve miktarda sentezlenmektedir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, kontrolsüz hücre bölünmesinin gerçekleştiği kanser hücrelerinde değişikliğe uğramış miRNA ekspresyonları söz konusudur. İnsan genomunda şimdiye kadar 1048 adet miRNA tanımlanmış olmakla birlikte kanserle ilişkili 22 tip miRNA bildirilmiştir. Örneğin mRNA-200 ailesinin epitelyal mezengimal transisyonda görev aldıkları ve kanser invazyonuyla ilgili oldukları bildirilmiştir [63, 65].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı tiroid kanser tiplerine özgü miRNA profilleri bildirilmektedir. miRNA-146b, 200, 221 ve 222'nin agresif papiller tiroid kanserinde over ekspresyon edildiği gösterilmiştir [66]. Çeşitli kanser tiplerine özgüllük gösteren miRNA'ların analizi tanı tedavi ve prognozda miRNA'lar kanser tiplerine özgüllük gösterdiğinden tiroid kanser tanı, tedavi ve prognoz belirlenmesinde tanımlanması gereken moleküllerdir. Gerek TİAB materyalinde miRNA bakılması gerek kandan miRNA bakılması erken tanı için önem arz etmektedir. Özellikle miRNA-200 ailesi tiroid kanserlerinin, subtiplemesinde ve yeni jenerasyon tedavi stratejilerinde hedef molekül olarak görünmektedir. Tüm bu nedenlerden, miRNA'ların gelecekte kanserin erken teşhisi- tedavisi için önemli olacağı çok açıktır [67].

C. Büyümeyi stimüle ve inhibe edici belirteçler

Hücre büyümesini indükleyen ya da inhibe eden faktörlerdeki dengesizlikler kontrolsüz hücre proliferasyonuna ve transformasyonuna neden olabilirler.

C.1. Büyümeyi stimüle edici faktörler

C1.1. Epidermal growth faktör (EGF): EGF bir potent mitojen ve antidifferentiation ajanı olarak kabul edilir. EGF tiroglobulin, tiroid peroksidaz, Na-I symporter, TSHR ve cadherin sentezlerini inhibe etmektedirler. EGF'nin upregülasyonu folliküler tiroid kanserinden ziyade papiller tiroid kanserlerinde daha sık bildirilmektedir. EGF'nin upregülasyonu aynı zamanda tiroid kanser hücrelerinin invazyonunda etkilidirler [68, 69].

C.1.2. Transforming growth faktör α (TGF α): EGF'e benzer yapıda ve etkide olan TGF α potent mitojen olarak kabul edilmektedir. Papiller ve anaplastik karsinomlarda yüksek düzeyde ekspresyon edildiği bildirilmekle birlikte, normal tiroid hücrelerinde, multinodüler guatrda ve folliküler adenomda da yüksek düzeyde ekspresyonu sözkonusudur [68, 70].

C.1.3. Vascular endotelial growth faktör (VEGF): VEGF ve VEGF reseptörü angiogeneziste oldukça etkili bir parametredir. Papiller ve folliküler kanserlerinde VEGF ve reseptörlerinde artışlar bildirilmektedir. Solid tümörler 2-3mm çapa ulaştığında kendi beslenmelerini sağlayacak damarlanmaya (neovaskularizasyon) ihtiyaç duyarlar. Yüksek

oranda VEGF ekspresyonu saptanan tümörlerin metastatik potansiyelleri yüksek kabul edildiğinden, VEGF metastatik ve non-metastatik tümörlerin ayırımında önemli bir markır olarak kullanılabilir [71].

C.1.4. İnsülin ve insülin like growth faktör 1 (IGF-1): Normal tiroid dokularında eksprese edilir ve tiroid hücre proliferasyonunda güçlü bir uyarıcı olduğu gösterilmiştir. Tiroid adenomlarında ve kanserlerinde normal dokuya göre daha fazla eksprese olduğu bildirilmektedir. Tümör büyüklüğü ve agresifliği ile insülin like growth faktör arasındaki ilişki hakkında ise çelişkili bilgiler bulunmaktadır [72].

C.2. Büyümeyi inhibe edici faktörler

C.2.1.Transforming growth faktör β (TGF β): Epitelial hücre proliferasyonunda potent bir inhibitördür. TGF β reseptör aktivasyonu cAMP bağımlı tiroisit proliferasyonunu selektif olarak inhibe ederek apoptozisi indükler. Papiller tiroid kanserlerinde TGF reseptör mRNA seviyesinin anlamlı düzeyde düştüğü bildirilmektedir. Yine TGF reseptör mRNA seviyesi ile tümör çapı arasında indirekt bir ilişki raporlanmıştır [73].

C.2.2.Somastatin: Tiroid dokuları somastatin reseptörü içerirler ve bu hormonun uygulanması tiroid hücre proliferasyonunu inhibe eder. Tiroid tümörlerinde somastatin mRNA reseptör varyantları bildirilmektedir [74, 75].

Sonuç olarak; en sık görülen endokrin bez kanseri olan tiroid doku kanserlerinin tetiklenmesi ve ilerlemesi, nokta mutasyonlar, translokasyonlar, kromozomlar-arası yeniden düzenlemeler, aktif proto-onkogen ve inaktif tümör baskılayıcı gen şeklinde meydana gelen epigenetik alterasyonlar gibi çoklu genetik ve epigenetik değişikliklerle gerçekleşmektedir. Son literatür bilgileri, tümör doku kimliklendirilmesinde sadece patolojik tipten ve immünohistokimyasal belirteçlerin kullanılmasının yetersiz kaldığını açıklıkla ortaya koymaktadır. Bu nedenle tiroid nodül ve tümörlerinin olabildiğince moleküler genetik belirteçler açısından kimliklendirilmesinin kesin tanı ve etkin tedavi için hayati öneme sahiptir. Ancak bu durumda kanser subtiplemesi doğru yapılabilir ve bu doğrultuda hastanın doğru ve etkin tedavi alması sağlanabilir. İlgili nodül ve tümör dokusunun neden kanserleştiğinin ipuçlarını yine içinde barındırmaktadır, bu moleküler etyolojik sebeplerinin doğru tespiti tiroid kanserlerinin tedavisi için yeni ve etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. 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.
2. Morris LG, Sikora AG, Tosteson TD, Davies L. The increasing incidence of thyroid cancer: the influence of access to care. Thyroid 2013; 23: 885-91.
3. Boufraquech M, Patel D, Xiong Y, Kebebew E. Diagnosis of thyroid cancer: state of art. Expert Opin Med Diagn 2013; 7: 331-42.
4. Zimmerman D. Thyroid carcinoma in children and adolescents: diagnostic implications of analysis of the tumor genome. Curr Opin Pediatr 2013; 25: 528-31.
5. Kleinau G, Neumann S, Grüters A, Krude H, Biebermann H. Novel insights on thyroid-stimulating hormone receptor signal transduction. Endocr Rev 2013; 34: 691-724.
6. Fay DS. Cancer metabolism: feeding a worm to starve a tumor. Curr Biol 2013; 23: R557-9.
7. Nagayama Y. Thyroid cancer. Nihon Rinsho 2012; 70: 436-40.
8. Dvorkin S, Robenshtok E, Hirsch D, Strenov Y, Shimon I, Benbassat CA. Differentiated thyroid cancer is associated with less aggressive disease and better outcome in patients with coexisting hashimotos thyroiditis. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98: 2409-14.

9. Nagarkatti SS, Faquin WC, Lubitz CC, Garcia DM, Barbesino G, Ross DS, Hodin RA, Daniels GH, Parangi S. Management of thyroid nodules with atypical cytology on fine-needle aspiration biopsy. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 60-5.
10. Figlioli G, Landi S, Romei C, Elisei R, Gemignani F. Medullary thyroid carcinoma (MTC) and *RET* proto-oncogene: mutation spectrum in the familial cases and a meta-analysis of studies on the sporadic form. *Mutat Res* 2013; 752: 36-44.
11. Makki FM, Taylor SM, Shahnavaz A, Leslie A, Gallant J, Douglas S, Teh E, Trites J, Bullock M, Inglis K, Pinto DM, Hart RD. Serum biomarkers of papillary thyroid cancer. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 42: 16.
12. Papale F, Cafiero G, Grimaldi A, Marino G, Rosso F, Mian C, Barollo S, Pennelli G, Sorrenti S, De Antoni E, Barbarisi A. Galectin-3 expression in thyroid fine needle cytology (t-FNAC) uncertain cases: Validation of molecular markers and technology innovation. *J Cell Physiol* 2013; 228: 968-74.
13. Cui W, Sang W, Zheng S, Ma Y, Liu X, Zhang W. Usefulness of cytokeratin-19, galectin-3, and Hector Battifora mesothelial-1 in the diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. *Clin Lab* 2012; 58: 673-80.
14. Rossi ED, Straccia P, Palumbo M, Stigliano E, Revelli L, Lombardi CP, Santeusano G, Pontecorvi A, Fadda G. Diagnostic and prognostic role of HBME-1, galectin-3, and β -catenin in poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013; 21: 237-41.
15. Griffith OL, Chiu CG, Gown AM, Jones SJ, Wiseman SM. Biomarker panel diagnosis of thyroid cancer: a critical review. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8: 1399-413.
16. Cochand-Priollet B, Dahan H, Laloi-Michelin M, Polivka M, Saada M, Herman P, Guillausseau PJ, Hamzi L, Poté N, Sarfati E, Wassef M, Combe H, Raulic-Raimond D, Chedin P, Medeau V, Casanova D, Kania R. Immunocytochemistry with cytokeratin 19 and anti-human mesothelial cell antibody (HBME1) increases the diagnostic accuracy of thyroid fine-needle aspirations: preliminary report of 150 liquid-based fine-needle aspirations with histological control. *Thyroid* 2011; 21: 1067-73.
17. Rosário PW, Penna GC, Brandão K, Souza BÉ. Usefulness of preoperative serum calcitonin in patients with nodular thyroid disease without suspicious history or cytology for medullary thyroid carcinoma. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2013; 57: 312-6.
18. Duntas LH. Clinical comments related to medullary thyroid cancer diagnosis and management. *Thyroid Res* 2013; 6 Suppl 1:S6.
19. Taccaliti A, Boscaro M. Genetic mutations in thyroid carcinoma. *Minerva Endocrinol* 2009; 34: 11-28.
20. Fusco A, Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Pilotti S, Pierotti MA, Della Porta G, Vecchio G. A new oncogene in human thyroid papillary carcinomas and their lymph-nodal metastases. *Nature* 1987; 328: 170-2.
21. Vander Poorten V, Hens G, Delaere P. Thyroid cancer in children and adolescents. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 21: 135-42.
22. Li C, Lee KC, Schneider EB, Zeiger MA. *BRAF* V600E mutation and its association with clinicopathological features of papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 4559-70.
23. Fernandez IJ, Piccin O, Sciascia S, Cavicchi O, Repaci A, Vicennati V, Fiorentino M. Clinical significance of *BRAF* mutation in thyroid papillary cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 148: 919-25.
24. Ward LS, Kloos RT. Molecular markers in the diagnosis of thyroid nodules. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2013; 57: 89-97.
25. Cappola AR, Mandel SJ. Molecular testing in thyroid cancer: *BRAF* mutation status and mortality. *JAMA* 2013; 309: 1529-30.

26. Rosove MH, Peddi PF, Glaspy JA. *BRAF* V600E inhibition in anaplastic thyroid cancer. *N Engl J Med* 2013; 368: 684-5.
27. Park SJ, Sun JY, Hong K, Kwak JY, Kim EK, Chung WY, Choi JR. Application of *BRAF*, *NRAS*, *KRAS* mutations as markers for the detection of papillary thyroid cancer from FNAB specimens by pyrosequencing analysis. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51: 1673-80.
28. Grande E, Díez JJ, Zafon C, Capdevila J. Thyroid cancer: molecular aspects and new therapeutic strategies. *J Thyroid Res* 2012; 2012: 847108.
29. Patel KN, Singh B. Genetic considerations in thyroid cancer. *Cancer Control* 2006; 13: 111-8.
30. Fagin JA, Mitsiades N. Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22: 955-69.
31. Ferreira CV, Siqueira DR, Ceolin L, Maia AL. Advanced medullary thyroid cancer: pathophysiology and management. *Cancer Manag Res* 2013; 5: 57-66.
32. Wagner SM, Zhu S, Nicolescu AC, Mulligan LM. Molecular mechanisms of *RET* receptor-mediated oncogenesis in multiple endocrine neoplasia 2. *Clinics (Sao Paulo)* 2012; 67: 77-84.
33. Weier HU, Ito Y, Kwan J, Smida J, Weier JF, Hieber L, Lu CM, Lehmann L, Wang M, Kassabian HJ, Zeng H, O'Brien B. Delineating Chromosomal Breakpoints in Radiation-Induced Papillary Thyroid Cancer. *Genes (Basel)* 2011; 2: 397-419.
34. Hamatani K, Eguchi H, Ito R, Mukai M, Takahashi K, Taga M, Imai K, Cologne J, Soda M, Arihiro K, Fujihara M, Abe K, Hayashi T, Nakashima M, Sekine I, Yasui W, Hayashi Y, Nakachi K. *RET/PTC* rearrangements preferentially occurred in papillary thyroid cancer among atomic bomb survivors exposed to high radiation dose. *Cancer Res* 2008; 68: 7176-82.
35. de Vries MM, Celestino R, Castro P, Eloy C, Máximo V, van der Wal JE, Plukker JT, Links TP, Hofstra RM, Sobrinho-Simões M, Soares P. *RET/PTC* rearrangement is prevalent in follicular Hürthle cell carcinomas. *Histopathology* 2012; 61: 833-43.
36. Mathur A, Weng J, Moses W, Steinberg SM, Rahbari R, Kitano M, Khanafshar E, Ljung BM, Duh QY, Clark OH, Kebebew E. A prospective study evaluating the accuracy of using combined clinical factors and candidate diagnostic markers to refine the accuracy of thyroid fine needle aspiration biopsy. *Surgery* 2010; 148: 1170-6.
37. Soares P, Lima J, Preto A, Castro P, Vinagre J, Celestino R, Couto JP, Prazeres H, Eloy C, Máximo V, Sobrinho-Simões M. Genetic alterations in poorly differentiated and undifferentiated thyroid carcinomas. *Curr Genomics* 2011; 12: 609-17.
38. Bu R, Uddin S, Ahmed M, Hussain AR, Alsobhi S, Amin T, Al-Nuaim A, Al-Dayel F, Abubaker J, Bavi P, Al-Kuraya KS. *c-Met* inhibitor synergizes with tumor necrosis factor-related apoptosis-induced ligand to induce papillary thyroid carcinoma cell death. *Mol Med* 2012; 18: 167-77.
39. Miyake Y, Aratake Y, Sakaguchi T, Kiyoya K, Kuribayashi T, Marutsuka K, Ohno E. Examination of CD26/DPPIV, *p53*, and *PTEN* expression in thyroid follicular adenoma. *Diagn Cytopathol* 2012; 40: 1047-53.
40. Santoro A, Pannone G, Carosi MA, Francesconi A, Pescarmona E, Russo GM, Feola A, Losito S, Franco R, Nappi L, Aquino G, De Rosa G, Di Domenico M, Bufò P. *BRAF* mutation and *RASSF1A* expression in thyroid carcinoma of southern Italy. *J Cell Biochem* 2013; 114: 1174-82.
41. Kajabova V, Smolkova B, Zmetakova I, Sebova K, Krivulcik T, Bella V, Kajo K, Machalekova K, Fridrichova I. *RASSF1A* Promoter Methylation Levels Positively Correlate with Estrogen Receptor Expression in Breast Cancer Patients. *Transl Oncol* 2013; 6: 297-304.

42. Brait M, Loyo M, Rosenbaum E, Ostrow KL, Markova A, Papagerakis S, Zahurak M, Goodman SM, Zeiger M, Sidransky D, Umbricht CB, Hoque MO. Correlation between *BRAF* mutation and promoter methylation of *TIMP3*, *RAR β 2* and *RASSF1A* in thyroid cancer. *Epigenetics* 2012; 7: 710-9.
43. Koenig RJ. Detection of the *PAX8-PPARgamma* fusion protein in thyroid tumors. *Clin Chem* 2010; 56: 331-3.
44. Eberhardt NL, Grebe SK, McIver B, Reddi HV. The role of the *PAX8/PPARgamma* fusion oncogene in the pathogenesis of follicular thyroid cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 321: 50-6.
45. Lee YM, Lee JB. Prognostic value of epidermal growth factor receptor, p53 and galectin-3 expression in papillary thyroid carcinoma. *Int Med Res* 2013; 41: 825-34.
46. Yilike X, Kuerban G, Yang X, Wu S, Abudula A. Expression of *MGMT* and its clinopathological significance in thyroid carcinoma. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2010; 35: 1219-24.
47. Liotti F, Visciano C, Melillo RM. Inflammation in thyroid oncogenesis. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 286-97.
48. Kim WG, Zhu X, Kim DW, Zhang L, Kebebew E, Cheng SY. Reactivation of the silenced thyroid hormone receptor β gene expression delays thyroid tumor progression. *Endocrinology* 2013; 154: 25-35.
49. Lavarone E, Puppini C, Passon N, Filetti S, Russo D, Damante G. The PARP inhibitor PJ34 modifies proliferation, NIS expression and epigenetic marks in thyroid cancer cell lines. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365: 1-10.
50. Kouniavsky G, Zeiger MA. Thyroid tumorigenesis and molecular markers in thyroid cancer. *Curr Opin Oncol* 2010; 22: 23-9.
51. Wang S, Liang J, Lin Y, Yao R. Differential expression of the Na(+)/I(-) symporter protein in thyroid cancer and adjacent normal and nodular goiter tissues. *Oncol Lett* 2013; 5: 368-72.
52. Kondo T, Nakazawa T, Ma D, Niu D, Mochizuki K, Kawasaki T, Nakamura N, Yamane T, Kobayashi M, Katoh R. Epigenetic silencing of *TTF-1/NKX2-1* through DNA hypermethylation and histone H3 modulation in thyroid carcinomas. *Lab Invest* 2009; 89: 791-9.
53. Montanelli L, Tonacchera M. Genetics and phenomics of hypothyroidism and thyroid dys- and agenesis due to *PAX8* and *TTF1* mutations. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 322: 64-71.
54. Fard-Esfahani P, Fard-Esfahani A, Saidi P, Fayaz S, Mohabati R, Majdi M. An increased risk of differentiated thyroid carcinoma in Iran with the 677C→T homozygous polymorphism in the *MTHFR* Gene. *Cancer Epidemiol* 2011; 35: 56-8.
55. Prasad VV, Wilkhoo H. Association of the functional polymorphism C677T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with colorectal, thyroid, breast, ovarian, and cervical cancers. *Onkologie* 2011; 34: 422-6.
56. Özdemir S, Silan F, Hasbek Z, Uludağ A, Atik S, Erselcan T, Özdemir Ö. Increased T-allele frequency of 677 C>T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene in differentiated thyroid carcinoma. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16: 780-4.
57. Huang L, Perrault C, Coelho-Martins J, Hu C, Dulong C, Varna M, Liu J, Jin J, Soria C, Cazin L, Janin A, Li H, Varin R, Lu H. Induction of acquired drug resistance in endothelial cells and its involvement in anticancer therapy. *J Hematol Oncol* 2013; 6: 49.
58. Özdemir S, Uludağ A, Silan F, Atik SY, Turgut B, Özdemir Ö. Possible Roles of the Xenobiotic Transporter P-glycoproteins Encoded by the *MDR1 3435 C>T* Gene Polymorphism in Differentiated Thyroid Cancers. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 3213-7.

59. Pasca di Magliano M, Di Lauro R, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 13144-9.
60. Ruiz-Llorente S, Carrillo Santa de Pau E, Sastre-Perona A, Montero-Conde C, Gómez-López G, Fagin JA, Valencia A, Pisano DG, Santisteban P. Genome-wide analysis of Pax8 binding provides new insights into thyroid functions. *BMC Genomics* 2012; 13: 147.
61. Fan Y, Ding Z, Yang Z, Deng X, Kang J, Wu B, Zheng Q. Expression and clinical significance of FOXE1 in papillary thyroid carcinoma. *Mol Med Rep* 2013; 8: 123-7.
62. Bychkov A, Saenko V, Nakashima M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Nikitski A, Orim F, Yamashita S. Patterns of FOXE1 Expression in Papillary Thyroid Carcinoma by Immunohistochemistry. *Thyroid* 2013; 23: 817-28.
63. de la Chapelle A, Jazdzewski K. MicroRNAs in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 3326-36.
64. Sun Y, Yu S, Liu Y, Wang F, Liu Y, Xiao H. Expression of miRNAs in Papillary Thyroid Carcinomas Is Associated with *BRAF* Mutation and Clinicopathological Features in Chinese Patients. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 128735.
65. Zhang X, Li M, Zuo K, Li D, Ye M, Ding L, Cai H, Fu D, Fan Y, Lv Z. Upregulated miR-155 in papillary thyroid carcinoma promotes tumor growth by targeting APC and activating Wnt/ β -catenin signaling. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E1305-13.
66. Zhang J, Liu Y, Liu Z, Wang XM, Yin DT, Zheng LL, Zhang DY, Lu XB. Differential expression profiling and functional analysis of microRNAs through stage I-III papillary thyroid carcinoma. *Int J Med Sci* 2013; 10: 585-92.
67. Li X, Abdel-Mageed AB, Mondal D, Kandil E. MicroRNA expression profiles in differentiated thyroid cancer, a review. *Int J Clin Exp Med* 2013; 6: 74-80.
68. Mincione G, Di Marcantonio MC, Tarantelli C, D'Inzeo S, Nicolussi A, Nardi F, Donini CF, Coppa A. EGF and TGF- β 1 Effects on Thyroid Function. *J Thyroid Res* 2011; 2011: 431718.
69. Hoffmann S, Burchert A, Wunderlich A, Wang Y, Lingelbach S, Hofbauer LC, Rothmund M, Zielke A. Differential effects of cetuximab and AEE 788 on epidermal growth factor receptor (EGF-R) and vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R) in thyroid cancer cell lines. *Endocrine* 2007; 31: 105-13.
70. Lam AK, Lau KK, Gopalan V, Luk J, Lo CY. Quantitative analysis of the expression of TGF-alpha and EGFR in papillary thyroid carcinoma: clinicopathological relevance. *Pathology* 2011; 43: 40-7.
71. Karaca Z, Tanrıverdi F, Unluhızarıcı K, Öztürk F, Gökahmetoğlu S, Elbüken G, Çakır I, Bayram F, Kelestimur F. VEGFR1 expression is related to lymph node metastasis and serum VEGF may be a marker of progression in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 277-84.
72. Haisa M. The type 1 insulin-like growth factor receptor signalling system and targeted tyrosine kinase inhibition in cancer. *J Int Med Res* 2013; 41: 253-64.
73. Eloy C, Santos J, Cameselle-Teijeiro J, Soares P, Sobrinho-Simões M. TGF-beta/Smad pathway and *BRAF* mutation play different roles in circumscribed and infiltrative papillary thyroid carcinoma. *Virchows Arch* 2012; 460: 587-600.
74. Pazaitou-Panayiotou K, Tiensuu Janson E, Koletsa T, Kotoula V, Stridsberg M, Karkavelas G, Karayannopoulou G. Somatostatin receptor expression in non-medullary thyroid carcinomas. *Hormones (Athens)* 2012; 11: 290-6.
75. Treglia G, Rindi G, Rufini V. Expression of somatostatin receptors may guide the use of somatostatin receptor imaging and therapy in differentiated thyroid cancer. *Hormones (Athens)* 2012; 11: 230-2.