



**T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİNDE KRAS VE  
BRAF ONKOGEN MUTASYONLARININ PCR YÖNTEMİ,  
VEGF-C VE ICAM-1 EKSPRESYONLARININ  
İMMÜNOHİSTOKİMYA YÖNTEMİ İLE  
ARAŞTIRILMASI VE BULGULARIN  
KLİNİKOPATOLOJİK VERİLERLE  
KARŞILAŞTIRILARAK SONUÇLARIN PROGRESYONA  
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Berna TOTAN ATEŞ**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Aysun H. UĞUZ**

**ADANA-2013**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince özverili bir şekilde çalışmamla ilgilenen, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran sayın tez hocam Prof. Dr. Aysun H. Uğuz'a, uzmanlık eğitimim boyunca mesleki tecrübelerini benimle paylaştıkları için saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. İlhan Tuncer, Prof. Dr. Suzan Zorludemir, Prof. Dr. Gülfiliz Gönlüşen, Prof. Dr. Figen Doran, Prof. Dr. Melek Ergin, Prof. Dr. Derya Gümürdülü, Prof. Dr. Şeyda Erdoğan, Yard. Doç. Dr. Arbil Açıklın, Yard. Doç. Dr. Emine Kılıç Bağır'a teşekkür ederim.

Tezimin istatistiksel analizini yapan Sayın Prof. Dr. Gülşah Seydaoğlu'na, immünohistokimya ve PCR aşaması için Kezban Bostaner'e ve Demet Aras'a, kesit alma aşaması için Elif Şan ve Sinan Özbulat'a, asistanlık sürecini paylaştığım, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tüm bölüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Son olarak sevgisini ve desteğini benden esirgemeyen eşim Dr. Tuncay Ateş'e, İklim'ime, Rüzgar Onur'uma, tüm yaşamım boyunca varlıkları ile beni mutlu eden anneme, babama ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Berna TOTAN ATEŞ**  
**ADANA, 2013**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER .....	II
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	V
KISALTMALAR LİSTESİ .....	VI
ÖZET ve ANAHTAR KELİMELEER .....	VIII
ABSTRACT and KEY WORDS .....	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Anatomi.....	3
2.2. Embriyoloji .....	5
2.3. Histoloji ve Fizyoloji.....	6
2.4. Tiroid Karsinomu .....	7
2.4.1. İnsidans ve Epidemiyoloji.....	7
2.4.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri.....	9
2.4.3. Papiller Tiroid Karsinom .....	11
2.4.3.1. Lokalizasyon.....	11
2.4.3.2. Klinik .....	11
2.4.3.3. Tiroid fonksiyon testleri .....	12
2.4.3.4. Radyoloji.....	12
2.4.3.5. İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (İİAS) .....	12
2.4.3.6. Makroskopi .....	13
2.4.3.7. Mikroskopi.....	13
2.4.3.8. İmmünohistokimya (İHK) .....	16
2.4.3.9. Papiller Tiroid Karsinom Varyantları.....	16
2.4.3.10. Prognoz .....	22
2.4.4. Folliküler Tiroid Karsinomu (FTK).....	23
2.4.4.1. Makroskopi .....	24
2.4.4.2. Mikroskopi.....	24
2.4.4.3. İmmünohistokimya .....	25

2.4.4.4. Folliküler Tiroid Karsinomu Varyantları.....	25
2.4.4.5. Prognoz.....	25
2.4.5. Evreleme .....	25
2.4.6. Tedavi.....	27
2.4.7. Takip .....	29
2.5. Kanser Belirleyicileri .....	29
2.5.1. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde Onkogenler.....	30
2.5.1.1. Papiller Tiroid Kanserlerinde Onkogenler.....	30
2.5.1.2. Folliküler Tiroid Kanserlerinde Onkogenler .....	31
2.5.2. Tiroid Kanserinde RAS'ın Tümörögeneziste Yeri .....	32
2.5.2.1. RAS Mutasyonları .....	35
2.5.2.2. KRAS.....	36
2.5.3. BRAF .....	37
2.5.4. VEGF (Vasküler Endotelyal Growth Faktör) Yapısı ve Karsinogenezdeki yeri .....	38
2.5.4.1. VEGF-C.....	41
2.5.5. Hücre Adezyon Molekülleri.....	41
2.5.5.1. ICAM-1 (CD54 intrasellüler adezyon molekülü-1) .....	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Olgu Seçimi.....	46
3.2. Etik Kurul.....	46
3.3. Yöntem.....	46
3.3.1. PCR Yöntemi .....	46
3.3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi .....	52
3.4. İstatistiksel Analiz.....	54
4. BULGULAR.....	56
5. TARTIŞMA .....	81
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	95
KAYNAKLAR .....	98
ÖZGEÇMİŞ .....	107

## TABLULAR LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. Diferansiyasyon Düzeyine Göre Tiroid Karsinomlarının Sınıflandırılması .....	8
Tablo 2. Tiroid Kanserlerinde TNM Evrelemesi .....	26
Tablo 3. TNM Evrelemesi .....	26
Tablo 4. Demografik ve Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması.....	57
Tablo 5. KRAS Mutasyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması .....	59
Tablo 6. BRAF Ekson 11 Mutasyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması.....	62
Tablo 7. BRAF Ekson 15 Mutasyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması .....	62
Tablo 8. VEGF-C Ekspresyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması .....	65
Tablo 9. ICAM-1 Ekspresyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması .....	68
Tablo 10. Toplam Hastalısız Sağkalım Sonuçları .....	69

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Tiroid bezinin önden şematik görünümü .....	4
Şekil 2. Tiroid papiller karsinomu makroskopik görünümü .....	13
Şekil 3. Papiller Tiroid Karsinomu (H.E x 200) .....	14
Şekil 4. Papiller karsinom folliküler varyant (H.E x 200) .....	18
Şekil 5. Papiller karsinom onkositik varyant (HE x 200) .....	19
Şekil 6. Hücrede kanser oluşum yolları .....	30
Şekil 7. Tiroid kanserinde PI3K/Akt ve MAP kinaz yolları.....	33
Şekil 8. MAPK sinyal yolağının şematik görünümü .....	35
Şekil 9. ICAM-1'in karsinogenezisteki rolü.....	45
Şekil 10. Tanı gruplarına göre evre dağılımı .....	57
Şekil 11. KRAS mutasyonu ile histolojik tip arasındaki korelasyon .....	58
Şekil 12. KRAS mutasyonu ile evre arasındaki korelasyon.....	60
Şekil 13. PCR ile KRAS mutasyonu (1.kuyu; marker 2. kuyu; negatif kontrol, 3. kuyu; pozitif kontrol, 4.,5.,6.,7. ,8. kuyu; pozitif olgu).....	60
Şekil 14. BRAF mutasyonu ile histolojik tip arasındaki korelasyon.....	63
Şekil 15. PCR ile BRAF Ekson 11 mutasyonu. (1.kuyu; marker 2. kuyu; negatif kontrol, 3. kuyu; pozitif kontrol, 4.,5.,6.,7. ,8. 9.kuyu; pozitif, 10. kuyu; negatif olgu) .....	63
Şekil 16. PCR ile BRAF Ekson 15 mutasyonu. (1.kuyu; marker 2. kuyu; negatif kontrol, 3. kuyu; pozitif kontrol, 4.,5.,6.,7. ,8. 9.kuyu; pozitif, 10. kuyu; negatif olgu) .....	64
Şekil 17. Sitoplazmik (+++) pozitif VEGF-C ekspresyonu (İHKx200).....	64
Şekil 18. Tiroid papiller karsinomunda (++) pozitif VEGF-C ekspresyonu (İHKx200).....	65
Şekil 19. Tiroid papiller karsinomunda membranöz ve sitoplazmik (+++) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx200).....	66
Şekil 20. Multifokal yerleşimli papiller karsinom onkositik varyantta sitoplazmik (+++) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx40).....	66
Şekil 21. Sitoplazmik ve membranöz (++) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx200).....	67
Şekil 22. Sitoplazmik (+) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx200).....	67
Şekil 23. Tüm hastalarda hastalısız sağkalım eğrisi.....	70
Şekil 24. Tanı gruplarına göre hastalısız sağkalım eğrileri .....	71
Şekil 25. Kapsül invazyonuna göre hastalısız sağkalım eğrileri.....	72
Şekil 26. Lenf nodu tutulumuna göre hastalısız sağkalım eğrileri.....	73
Şekil 27. Lenfovasküler invazyona göre hastalısız sağkalım eğrileri.....	74
Şekil 28. Evre ile hastalısız sağkalım ilişkisi .....	75
Şekil 29. KRAS mutasyonu ile hastalısız sağkalım ilişkisi.....	76
Şekil 30. BRAF ekson 11 mutasyonu ile hastalısız sağkalım ilişkisi .....	77
Şekil 31. BRAF ekson 15 mutasyonu ile hastalısız sağkalım ilişkisi .....	78
Şekil 32. VEGF-C ekspresyonu ile hastalısız sağkalım ilişkisi .....	79
Şekil 33. ICAM-1 ekspresyonu ile hastalısız sağkalım ilişkisi .....	80

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AJCC-TNM</b>	: American Joint Committee on Tumor (T), nodal metastases (N), distant metastases (M).
<b>Akt</b>	: V-akt murine thymoma viral oncogene
<b>APC</b>	: Adenomatöz polipozis koli
<b>BRAF</b>	: V-raf murine sarcoma viral oncogene
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı tomografi
<b>cAMP</b>	: siklik-AMP
<b>FTK</b>	: Folliküler tiroid karsinomu
<b>GDP</b>	: Guanazin difosfat
<b>GTP</b>	: Guanozin trifosfat
<b>GTPaz</b>	: Guanazin trifosfataz
<b>HMWK</b>	: Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin
<b>H-RAS</b>	: Harvey rat sarcoma
<b>HT</b>	: Hashimoto Tiroiditi
<b>ICAM-1</b>	: İntrasellüler adezyon molekülü-1,CD54
<b>IGFR-1</b>	: İnsülin-like growth factor-I reseptör
<b>KRAS</b>	: Kirsten rat sarcoma
<b>LFA-1</b>	: Lenfosit fonksiyonları ile ilişkili antijen-1
<b>MadCAM-1</b>	: Mukozal Adressin Hücre Adezyon molekülü
<b>MAK-1</b>	: Makrofaj antijen-1
<b>MAPK</b>	: Mitogen-activated protein kinase
<b>mTOR</b>	: Mammalian target of rapamycin
<b>NCAM</b>	: Nöronal hücre adezyon molekülü
<b>N-RAS</b>	: Neuroblastoma viral RAS oncogene
<b>NTRK1</b>	: Nörotrofik tirozin kinaz reseptörü 1
<b>PAX8</b>	: Paired box-8
<b>PCR</b>	: Polymerase chain reaction
<b>PDK</b>	: Fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfat bağımlı kinaz
<b>PECAM-1</b>	: Trombosit- Endotel Hücre Adezyon molekülü
<b>PET</b>	: Pozitron emisyon tomografisi
<b>PI3K</b>	: Phosphoinositide-3(OH) kinase
<b>PIGF</b>	: Plasental büyüme faktörü

<b>PIP2</b>	: Fosfatidil inositol 4,5 bifosfat
<b>PIP3</b>	: Fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfat
<b>PKB</b>	: Protein kinaz B
<b>PKFV</b>	: Papiller tiroid karsinom folliküler varyant
<b>PMK</b>	: Papiller Mikrokarsinom
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
<b>PTEN</b>	: Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten
<b>PTK</b>	: Papiller tiroid karsinomu
<b>RAI</b>	: Radyoaktif iyot
<b>RET-PTC</b>	: Rearranged during transfection (ret) proto-oncogene/papillary thyroid carcinoma
<b>RTK</b>	: Reseptör tirozin kinazlar
<b>SEER</b>	: Surveillance, Epidemiology, and End Results
<b>T3</b>	: Triiodotironin
<b>T4</b>	: Tiroksin, tetraiyodotironin
<b>TBG</b>	: Tiroksin bağlayan globulin
<b>TSH</b>	: Tiroid stimulan hormon
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>VCAM-1</b>	: Vasküler hücre adezyon molekülü-1
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal growth factor
<b>WHO</b>	: Dünya sağlık örgütü



## ÖZET

### **Diferansiye Tiroid Kanserlerinde KRAS ve BRAF Onkogen Mutasyonlarının PCR Yöntemi, VEGF-C ve ICAM-1 Ekspresyonlarının İmmünohistokimya Yöntemi ile Araştırılması ve Bulguların Klinikopatolojik Verilerle Karşılaştırılarak Sonuçların Progresa Etkisinin Değerlendirilmesi**

**Giriş ve Amaç:** Tiroid kansinimleri en sık görülen endokrin malignansilerdir. Papiller ve folliküler kansinimleri (iyi diferansiye kansinimler) tanısında ve prognozlarının belirlenmesinde moleküler belirteçler gittikçe artan sıklıkta kullanılmaktadır. Bu kansinimleri patogeneğinde sinyal yollarının anahtar elemanlarını kodlayan KRAS ve BRAF genlerinde oluşan değişimler temel rol oynamaktadır. VEGF-C lenfanjiogeneğinde önemli olan bir büyüme faktörü ve ICAM-1 bir adezyon molekülüdür. Her iki molekülün de tümör yayılımı ve prognozla ilişkili olduğunu destekleyen pek çok çalışma vardır. Bu çalışmada diferansiye tiroid kansinimi olgularında KRAS, BRAF mutasyonlarının varlığını ve VEGF-C ve ICAM-1 ekspresyonlarını araştırmayı, tüm sonuçların klinik verilerle ilişkisini ve prognostik önemlerini belirlemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 2005-2010 yılları arasında diferansiye tiroid kansinimi tanısı alan 94 olgu alınmıştır. Parafin bloklardan kesitler hazırlanarak, immunohistokimyasal yöntem ile VEGF-C ve ICAM-1 antikoru uygulanmıştır. PCR yöntemi ile KRAS ve BRAF mutasyonları değerlendirilmiştir. Bulgular, olguların klinikopatolojik özellikleri (yaş, cinsiyet, histolojik subtip, evre, lenfovasküler ve kapsül invazyon, multifokalite) ile karşılaştırılmış ve prognoza etkileri istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Toplam 94 diferansiye tiroid kansiniminin 74'ü papiller, 20'si folliküler kansinimdir. Olguların ortalama yaşı 49,2±11,6'dır. VEGF-C ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon (p=0,042) ve lenf nodu metastazı varlığı (p=0,036) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. ICAM-1 ekspresyonu ile tiroid kapsül invazyonu ve multifokalite arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (sırayla p=0,013, p=0,016). KRAS mutasyonu olguların 72'sinde, BRAF ise tümünde çalışılmıştır. Olguların %15,3'ünde KRAS mutasyonu, % 36,1'inde BRAF mutasyonu pozitif saptanmıştır. Hastaliksız sağ kalım oranı; VEGF-C (p=0,027) ve ICAM-1 (p=0,031) ekspresyonları saptanan ve KRAS (p=0,050), BRAF (p=0,008) mutasyonları pozitif olan gruplarda, mutasyon ve ekspresyon saptanmayan gruplara göre daha düşük bulunmuştur.

**Sonuç:** Son yıllarda diferansiye tiroid kansinimlerinde moleküler belirteçlerin ve gen mutasyonlarının belirlenmesi, hasta yönetimi ve hedefe yönelik tedavilerin planlanmasında önem kazanmıştır. Çok basamaklı kansinogeneze şemasında yer alan ve çalışmamızda kullanılan VEGF-C ve ICAM-1 moleküllerinin ekspresyonlarının saptanması, KRAS ve BRAF mutasyonlarının varlığı prognoz belirlenmesinde, hastaların cerrahi tedavi yönetiminin ve sonrasında kişiye yönelik tedavilerin planlanmasında önemli rol oynayabilir. Ancak bu konu ile ilgili daha geniş hasta serileri ve daha uzun takip süreleri ile planlanacak çalışmalara gereksinim halen devam etmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Diferansiye tiroid kansinimi, BRAF, KRAS, ICAM-1, VEGF-C.

## ABSTRACT

### **Studying of KRAS and BRAF Oncogene Mutations By PCR and VEGF-C and ICAM-1 expression By Immunohistochemistry For Comparing The Findings With Clinicopathologic Datas and Evaluating The Effects of The Results to The Progression in Differentiated Thyroid Carcinomas**

**Introduction and the Objective:** Thyroid carcinomas are the most common endocrine malignancy. Molecular markers are being used with increasing frequency for the diagnosis of papillary and follicular carcinomas (well-differentiated carcinomas) and in determining the prognosis. KRAS and BRAF genes variations that encode key elements in the signalling pathways play major roles in the pathogenesis of these carcinomas. VEGF-C is an important growth factor in lenfangiogenesis and the ICAM-1 is an adhesion molecules. There are several studies which prove that both molecules are related with tumor invasion and prognosis. In this study, we aimed to determine the presence of KRAS, BRAF mutations and VEGF-C and ICAM-1 expressions in the differentiated thyroid carcinomas and the relationship of all results with the clinical datas and prognostic significance.

**Materials and Methods:** Ninetyfour cases diagnosed as differentiated thyroid carcinomas between the years 2005-2010 have been included to the study. Sections prepared from paraffin blocks and then applied ICAM-1 and VEGF-C antibody with immunohistochemical method. KRAS and BRAF mutations were evaluated with PCR method. The findings were compared with the clinicopathologic features (age, sex, histologic subtype, stage, lymphovascular and capsular invasion, multifocality) of the patients and their effects to the and prognosis were analysed statistically.

**Results:** A total 74 of 94 differentiated thyroid carcinomas are papillary and 20 of 94 are follicular carcinomas. The median age of the patients was  $49.2 \pm 11.6$ . Statistically significant relationship was detected between VEGF-C expression and lymphovascular invasion ( $p = 0.042$ ) and the presence of lymph node metastasis ( $p = 0.036$ ). Significant relationship was observed between ICAM-1 expression and thyroid capsule invasion and multifocality (respectively  $p = 0.013$ ,  $p = 0.016$ ). KRAS mutations worked in 72 of the cases, while BRAF worked in all of them. 15.3% of the cases was detected as positive for KRAS mutation and 36.1% of the cases was positive for BRAF mutation. Disease free survival rate was found lower in the groups diagnosed with positive VEGF-C ( $p = 0.027$ ) and ICAM-1 ( $p = 0.031$ ) expression and KRAS ( $p = 0.050$ ) and BRAF ( $p = 0.008$ ) mutations than the groups were not diagnosed with mutation and expression.

**Conclusion:** Identifying molecular markers and gene mutations in differentiated thyroid carcinomas is gained the importance for patient management and in the course of planning targeted therapy, in recent years. To determine VEGF-C and ICAM-1 molecules expressions and the presence of KRAS and BRAF mutations which used in our study and take part in multistep carcinogenesis scheme could be play important roles for determining of prognosis, management of surgical procedures and then planning of individualized therapy. However, larger patient series and studies planned with longer follow-up periods about this subject are still needed.

**Key Words:** Differentiated thyroid carcinoma, BRAF, KRAS, ICAM-1, VEGF-C.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tiroid karsinomları en sık görülen endokrin karsinomlardır. 2007 yılında yapılan bir çalışmada endokrin malignitelerinin % 94'ünden ve endokrin sistem kanserlerindeki ölümlerin % 66'sından sorumlu olduğu bildirilmiştir.<sup>1</sup> Yavaş seyirlidir ve uzun sağkalıma sahiptir.<sup>2</sup> Tiroid kanseri insidansı her yıl % 6,2 oranında artmaktadır.<sup>3</sup> Türkiye'de insidans, 2006 yılında kadınlarda % 8.8, erkeklerde % 2.1 olarak bulunmuştur.<sup>4</sup>

Tiroidde görülen tümörlerin büyük bölümü primer ve epitelyal kökenlidir.<sup>5</sup> Tiroid karsinomlarının dört temel tipi; iyi diferansiye grupta yer alan papiller (PTK) ve folliküler karsinom (FTK) ile medüller ve anaplastik (andiferansiye) karsinom'dur.<sup>6</sup> İyi diferansiye tiroid karsinomları % 80-85 papiller, % 15-20 folliküler tiptir. On yıllık rölatif sağ kalım oranları; iyi diferansiyeler için % 93'ken, medüller için % 85, anaplastik için % 76'dır.<sup>2</sup>

Eksternal radyasyon, iyot alımının eksik ya da fazla olması, otoimmün hastalıklar gibi etyolojik faktörler yanı sıra genetik değişiklikler, tümör mikroçevresi ve bunların birbirleriyle ilişkisi gibi çok basamaklı karsinogeneziste yer alan faktörler tiroid karsinomlarının patogeneğinde saptanmıştır.<sup>5,6</sup>

Özellikle hücrenin sinyal yollarındaki anahtar elemanları kodlayan genlerde saptanan değişiklikler tiroid karsinomlarının ortaya çıkışında önemlidir. PTK'da kromozom yeniden düzenlenmeleri (RET/PTC ve TRK yeniden düzenlenmeleri) ve nokta mutasyonları (BRAF ve RAS mutasyonları) gibi genetik değişiklikler, FTK'larda ise mutasyonlar (H-RAS, N-RAS, K-RAS) ve kromozomal translokasyonlar (PAX8-PPAR-gamma-1) görülür.<sup>6,7</sup>

BRAF geni, hücre bölünmesi ve diferansiyasyonunda önemli olan MAPK sinyal yolağının güçlü bir aktivatörüdür.<sup>8</sup> BRAF mutasyonları çeşitli insan kanserlerinde görülmektedir. PTK'da % 40-45 oranında BRAF mutasyonu saptanabilir, ancak FTK oluşumunda rolü gösterilmemiştir.<sup>8,9</sup> BRAF V600E mutasyonunun ise özellikle invaziv tümör büyümesi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.<sup>10</sup>

RAS insan tümörlerinde en sık mutasyona uğrayan protoonkogendir. Sıklıkla nokta mutasyonu ile aktive olur.<sup>6</sup> RAS mutasyonları tiroid FTK'larda % 40-50 oranında, PTK'larda % 10-20 oranında görülmektedir.<sup>8</sup>

Çok basamaklı karsinogeneziste genomik instabilite ve mutasyonlar kadar tümör mikroçevresindeki değişiklikler; anjiogenezis, inflamatuvar hücrelerin tümör alanına toplanması, immün sistemin yıkıcı etkisinden kaçış ve hücrel enerji mekanizmalarındaki yeniden düzenlenmeleri de rol oynar.<sup>11</sup>

VEGF-C ve VEGF-D, lenfanjiogenezde kilit rol oynayan büyüme faktörü reseptörü VEGFR-3'ün fosforilasyonunu sağlayarak lenfatik damarların büyüme ve farklılaşmasını düzenleyen moleküllerdir.<sup>6</sup> Son yıllarda yapılan immünohistokimyasal ve insitu hibridizasyon çalışmalarında VEGF-C ve VEGFR-3'ün gastrik, kolorektal, serviks karsinomları ve PTK'larında tümörün lenfatik yayılımı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.<sup>12-15</sup>

Adezyon molekülleri ise hücre yüzeyinde yapısal olarak var olan veya uyarılarla (çeşitli kimyasal mediyatörler gibi) hücre yüzeyinde beliren ve hücrelerin birbirine ve ekstraselüler matrikse bağlanmasını sağlayan moleküllerdir.<sup>16</sup> ICAM-1 (CD54, intrasellüler adezyon molekülü-1), hücre membranında bulunan bir transmembran glikoproteini olup endotel hücresi, lenfositler, monositler, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve makrofajlarda eksprese edilen Ig süper ailesinin bir üyesi olan adezyon molekülüdür.<sup>17</sup> İnflamatuvar yanıt sırasında, sitokinler, lenfosit fonksiyonları ile ilişkili antijen-1(LFA-1) ve makrofaj antijen-1(MAK-1), ICAM-1 ekspresyonuna neden olur. Bu şekilde immün hücrelerin hasarlı dokuya migrasyonu sağlanır. Yapılan çalışmalarda ICAM-1 ekspresyonunun yalnızca akut ve kronik inflamasyonda değil, tümör alanında da artmış olarak saptandığı gösterilmiştir.<sup>16,17</sup>

Bu çalışmada tiroidin iyi diferansiye karsinomlarında (PTK ve FTK) KRAS ve BRAF genlerinin bizim hastalarımızda var olan mutasyon oranlarını araştırmayı, VEGF-C ve ICAM-1 moleküllerinin ekspresyonlarını saptayarak bunların mevcut mutasyonlar, birbirleriyle ve tümör boyutu, yaş, cinsiyet, lenf nodu metastazı varlığı gibi klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisini göstermeyi ve prognostik önemini incelemeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Anatomi

Tiroid bezi boyunun ön tarafında, C5-T1 vertebralar ve 1 ile 4. trakeal halkalar arasında yer alır. Sağ ve sol lob olmak üzere iki lobdan oluşur. Her bir lob, 4-5 cm boyunda, 2-3 cm eninde, 2-4 cm kalınlığındadır. Bu iki lobu isthmus birbirine bağlar. İsthmus, trakeanın ön yüzü boyunca uzanır. Popülasyonun yaklaşık % 40'ında isthmus'tan hyoid kemiğe doğru uzanan piramidal lob bulunabilir. Piramidal lob, tiroglossal kanalın distal son parçasının bir kalıntısıdır. Sağ ve sol lobları trakeayı önden kısmen çevreler. Lateralinde karotis kılıfı ve sternokleidomastoid kası yer alır. Arka medialde özofagus ve trakea tarafından sınırlanmıştır.<sup>18,19</sup>

Tiroid bezi yaklaşık 25 gr ağırlığındadır. Fakat bu değişkenlik gösterebilir. Kadınlarda erkeklere oranla biraz daha ağırdır. Ancak 8 ay ile 15 yaş arasında tiroid bezi hacminde kadınlar ile erkekler arasında önemli bir farklılık yoktur. Menstruasyon ve gebelik dönemlerinde bezin ağırlığı artar. Bezin ağırlığı ayrıca beslenme şekline, kişiye, cinse, coğrafi duruma ve mevsime göre değişkenlik gösterir.<sup>20</sup>

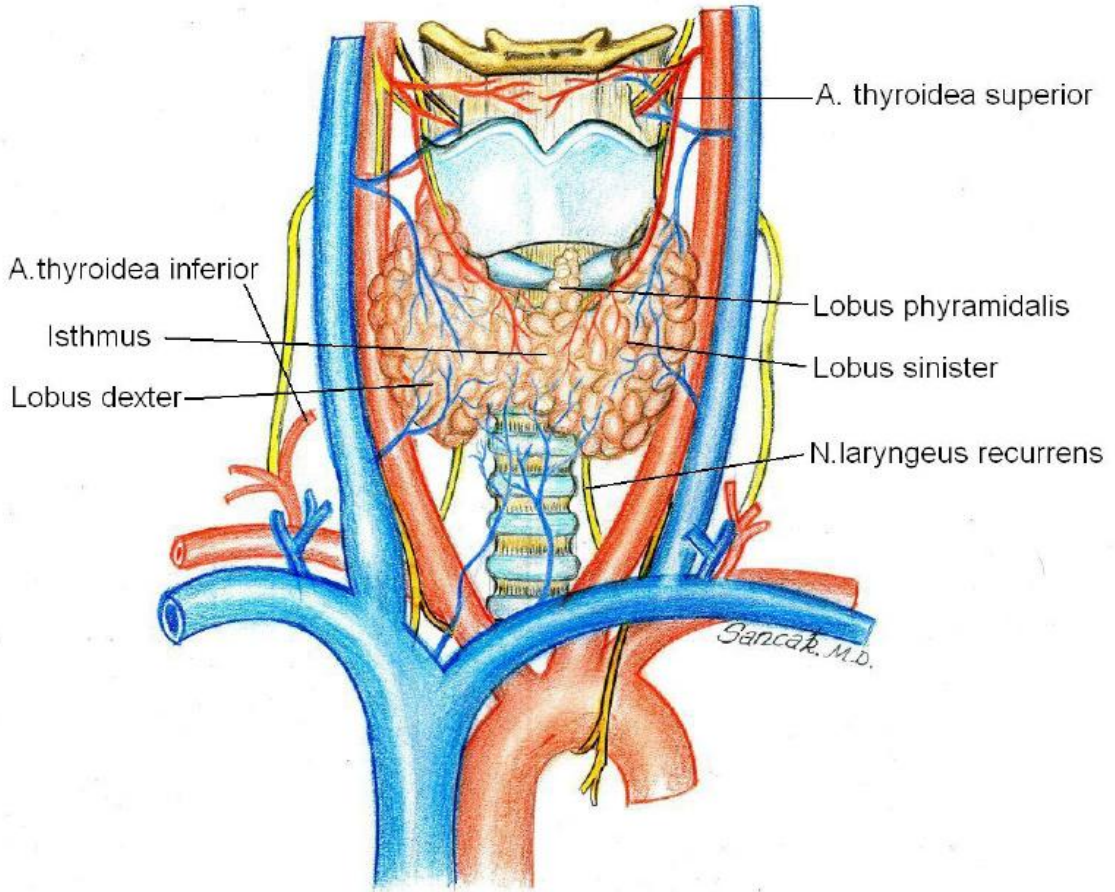
Tiroid bezi, kapsül ile çevrilmiş ve bağ dokusu ile de bölümlere ayrılmıştır. Boyun fasiyasının orta yaprağının oluşturduğu diğer bir fibröz kapsül önde gevşek olarak tiroide yapışmıştır, arkada ise tiroid bezini trakea ve boyun damar sinir paketine tespit eder. Tiroid bezinin önünde infrahyoid kaslar (m. sternothyroideus ve m. sternohyoideus) yer alır. Arkada tiroid kapsülü ile fibroz kapsül arasında paratiroid bezleri bulunur.

Tiroid bezinin kanlanması süperior ve inferior tiroidal arterler sağlar. (Şekil 1) Süperior tiroidal arter, bifurkasyonun hemen üzerinden eksternal karotis arterden çıkar. Aşağı doğru ilerleyerek tiroidin üst polüne girer. Bu bölgede süperior laringeal sinir, artere paralel seyreder. İnférieur tiroidal arter genellikle truncus tirocervicalis'ten, nadiren subklavian arterden köken alır. Karotis arterinin ve juguler venin arkasından geçerek prevertebral fasyayı deler ve iki dala ayrılarak posterolateralden tiroide girer. N. Laryngeus Recurrens bu iki dalı ön, arka ve arasından çaprazlar. Nadir olarak arcus aorta'dan çıkan ve inferiordan tiroide giren beşinci bir arter (thyroidea ima) bulunur. Bezi besleyen arterler birbirleri ile anastomoz yaparlar (Şekil 1).<sup>20</sup>

Tiroidin venleri tiroid yüzeyinde bir pleksus oluşturarak üst, orta ve alt tiroidal venlere dökülür. Üst ve orta venler internal juguler vene, alt venler ise pleksus oluşturarak brakiosefalik vene drene olur.<sup>20</sup>

Tiroidin zengin bir lenfatik ağı vardır. Lenfatik drenaj subkapsüler bir pleksus aracılığı ile parakapsüler bölge, pretrakeal alan, internal juguler ve rekürren sinir komşuluğundaki lenf bezlerine olur. İstmusun üzerinde ve trakeanın önünde palpe edilen lenf noduna “Delphian Nodu” denir. Genellikle malignite veya tiroiditle birlikte görülür.<sup>19</sup>

Tiroid bezi süperior, medial ve inferior servikal gangliyonlardan gelen post ganglionik sempatik lifler ile n.vagus’tan gelen parasempatik lifler tarafından innerve edilir.<sup>18</sup>



Şekil 1. Tiroid bezinin önden şematik görünümü<sup>20</sup>

## 2.2. Embriyoloji

Tiroid bezi embriyonel hayatın 4. haftasında tiroglossal duktusun bir parçası olarak foramen çekum'dan dilin tabanına, boyun ön kısmındaki normal konumuna doğru aşağı inen faringeal epitelin çıkıntılarında gelişir.<sup>20,21</sup>

Tiroid bezi, brankial arkus ve faringeal cepler gelişirken, yaklaşık 24. günde primitiffarinksin tabanında orta hatta, birinci ve ikinci cepler arasında kalan bölgede bir divertikül şeklinde başlar. Divertikül, ağız boşluğu zeminini döşeyen endoderm yaprağının kaudal yönde gelişimi ile oluşur. Bu kese iki bölüme ayrılarak tiroidin sağ ve sol lobunu oluşturur. Divertikülün ağzı dil köküne açıktır. Daha sonra bu bölge, foramen caecum adını alır.<sup>20</sup> Gelişim sürecinde divertikülün ağız tabanı ile olan bağlantısı (ductus thyreoglossus) kapanır. Endodermal epitel, kordonlar yapacak şekilde proliferer olur. Birbiriyle anastomozlar kurar. Bu kordonların arasına mezenşimden gelişen vasküler bağ dokusu doldurur ve folliküllerin oluşumunu sağlar. Boyun orta hattında hyoid kemik ve larinks oluşturacak yapıların önünden aşağıya doğru inmeye başlar.

Altıncı haftadan itibaren; üçüncü faringeal cebin dorsal bölgeleri alt paratiroidlere, ventral bölgeleri ise primitif timusa döner. Dördüncü faringeal cep de dorsal ve ventral olarak iki kısma ayrılır. Dorsal kısım üst paratiroidleri, ventral kısımlar nöral kristadan gelen hücrelerle beraber ultimobrankial cismi oluşturur. Tiroid aşağı doğru inerken dördüncü ve beşinci faringeal ceplerin ultimobrankial cisimlerinden köken alan lateral komponentler katılır. Bu lateral komponentler tiroidin kalsitonin salgılayan C hücrelerini oluşturur.<sup>22</sup>

Tiroid kaudale doğru inerken, divertikülün açık kalan kısmı uzayarak tiroglossal kanal adını alır. Kanal, çoğunlukla dejenerasyona uğrayarak kaybolur. Gebeliğin onuncu haftasının sonunda tiroide foliküller oluşur. Onikinci haftanın sonunda da tiroid iyot tutmaya ve kolloid üretmeye başlar. Onüçüncü haftadan itibaren hipofiz ve serumda tiroid stimulan hormon (TSH) belirlenebilir. Onsekizinci haftadan itibaren TSH ve tiroksin (tetraiyodotironin, T4) paralel olarak artmaya başlar. Tiroideki iyot konsantrasyonu yüksek düzeylere ulaşır. Otuz-otuzbeşinci haftalardan itibaren hipotalamus, hipofiz ve tiroid eksenli fonksiyonel olarak olgun hale gelir. TSH, triiodotironin (T3) ve T4 doğumdan sonra, birkaç hafta içinde erişkindeki normal düzeye ulaşır.<sup>22,23</sup>

Alt paratiroidler timusla beraber farinks duvarından ayrılıp; kaudal ve medial bölgelere doğru gider ve daha sonra timustan ayrılarak tiroidin alt bölgesi civarına yerleşir. Timus ise alt boyun ve mediastene iner.<sup>22,23</sup>

### **2.3. Histoloji ve Fizyoloji**

Tiroid, ince fibröz septumlarla lobüllere ayrılır. Her lobülde ortalama 20-40 follikül vardır. Erişkin tiroid yaklaşık 3 milyon follikül içerir. Follikül büyüklüğü 50-500 mikron arasında değişir. Folliküller santral kolloidi çevreleyen epitelyal hücrelerle döşelidir.<sup>6</sup>

Follikül hücrelerinin şekli, bezin fonksiyonel durumuna göre değişir.<sup>6,20</sup> Genellikle izoprizmatik olan hücreler, hiperfonksiyon durumunda yüksek prizmatiktir ve follikül lümenlerinde az miktarda kolloid vardır. Hipofonksiyon durumunda ise, follikül hücreleri yassılaştırmış olup, endotele benzerler ve follikül lümenleri kolloid ile doludur. Epitel hücreleri, genellikle ışık mikroskobu ile görülmeyen ince bazal membran üzerine oturmuştur. Nükleusları büyük ve veziküler olup, yerleşimi santral ya da bazal membrana yakındır. Bir ya da daha çok nükleol içerebilir. Sitoplazma ince granüler ve soluk bazofiliktir.

Follikül lümenlerini dolduran kolloid, salgının depolanmış şeklidir. Kolloid, aktif folliküllerde bazofilik, inaktif folliküllerde ise zayıf bazofilik ya da asidofilik boyanır. Aynı zamanda kuvvetli PAS (+) reaksiyon verir. Bu durum, içerdiği tiroglobulinin bir glikoprotein olmasından kaynaklanmaktadır. Tiroglobulin içinde glikoproteine bağlı olarak tiroksin bulunur. Tiroksin aktif tiroid hormonudur ve bir aminoasit olan tirozin ile iyottan yapılmıştır.

Hipotalamustan gelen trofik faktörlere yanıt olarak ön hipofizdeki tirotropik hücrelerden dolaşıma TSH salınır. TSH'nın tiroid follikül epitelindeki reseptörlere bağlanması, reseptörde yapısal değişikliğe ve aktivasyona neden olarak TSH reseptörünü uyarıcı G-protein ile etkileşime girmeye uygun duruma getirir. G-proteinin aktivasyonu, hücre içindeki siklik-AMP (cAMP) düzeyinde artışla sonuçlanır. Bu artış tiroidin büyümesini, hormon üretilmesini ve cAMP bağımlı protein kinazlar yoluyla salınımını uyarır.<sup>6</sup>

Tiroid follikül epitel hücreleri tiroglobulini T4 ve daha az miktarda T3'e dönüştürür. T4 ve T3, bu peptidleri çevre dokulara taşıyan tiroksin bağlayan globulin



(TBG) ve transtiretin gibi dolaşan plazma proteinlerine geri dönüşlü şekilde bağlanarak sistemik dolaşıma salınır. Periferde serbest T4'ün büyük kısmı deiyonize olarak T3'e dönüşür. T3, T4'e göre on kat fazla afinite ile ve göreceli olarak daha büyük bir aktivite ile hedef hücrelerdeki tiroid hormon nükleer reseptörlerine bağlanır. Tiroid hormonu ile nükleer tiroid hormon reseptörleri arasındaki etkileşim, hedef genlerde multi-protein hormon reseptör kompleksinin oluşumuyla sonuçlanır.<sup>6</sup>

Tiroid hormonunun hücre üzerinde karbonhidrat ve lipid katabolizmasının artırılması, protein üretiminin uyarılması gibi farklı etkileri vardır. Bu olayların net sonucu bazal metabolizma hızının artmasıdır. Tiroid hormonunun en önemli fonksiyonlarından biri beyin gelişimindeki rolüdür, fetal ve neonatal dönemlerde tiroid hormonunun yokluğu entelektüel gelişimi etkileyebilir.

Tiroid bezinde, C hücreleri olarak da adlandırılan, follikül duvarının bazal membrana yakın kısımlarında ya da interfolliküler stromada, tek tek veya küçük gruplar halinde, soluk boyanan parafolliküler hücreler de vardır. Yapı ve fonksiyonları follikül epitel hücrelerinden tamamen farklıdır. Follikül hücrelerinden daha büyük, nükleusu ekzantrik yerleşimli, mitokondriden zengin hücrelerdir. Gümüşleme ile sitoplazmalarında siyah renkli granüller ortaya çıkar. Bu granüller kalsitonin hormonu içerir. Sentezledikleri kalsitonini ekzositozla yakındaki kan kapillerlerine boşaltırlar. Kalsitonin hormonu, iskelet sistemi tarafından kalsiyumun absorbe edilmesini kolaylaştırarak, kandaki kalsiyum seviyesini düşürür ve kemiğin osteoklastlar tarafından rezorpsiyonunu önler.<sup>6</sup>

## **2.4. Tiroid Karsinomu**

### **2.4.1. İnsidans ve Epidemiyoloji**

Tiroid karsinomları en sık görülen endokrin karsinomdur. 2007 yılında yapılan bir çalışmada endokrin malignitelerinin % 94'ünden ve endokrin sistem kanserlerindeki ölümlerin % 66'sından sorumludur.<sup>1</sup>

Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl 33.500 yeni tiroid kanseri vakası tanımlanmaktadır. Yaklaşık olarak bunların % 90'ı iyi diferansiye kanserler (papiller ve folliküler), % 5-9'u meduller, % 1-2'si anaplastiktir.<sup>2</sup> Türkiye'de tiroid karsinom insidansı 2006 yılında kadınlarda % 8.8, erkeklerde % 2.1 bulunmuştur.<sup>4</sup>

Ulusal kanser enstitüsünün SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) veri tabanı incelendiğinde 1973 yılından 2002 yılına gelindiğinde tiroid kanseri insidansında 2,9 kat artış saptanmıştır.<sup>24,25</sup> Bu dramatik artış artık çok küçük tümörlerin bile erken dönemde saptanabilmesine bağlanmıştır.<sup>25</sup>

Tiroide görülen neoplazilerin büyük bölümü primer ve epitelyal kökenli tümörlerdir. Epitelyal tümörler köken aldığı hücre tipine göre üç ana gruba ayrılır :

- Folliküler hücre kökenli tümörler
- C hücre kökenli tümörler
- Folliküler ve C hücre kökenli tümörler<sup>5</sup>

Tiroid tümörlerinin dört temel tipi; Papiller Karsinom, Folliküler Karsinom, Medüller Karsinom ve Anaplastik (Andifferansiye) Karsinom`dur.<sup>6</sup>

Olguların % 95'inden fazlası folliküler hücre kökenlidir. Tiroid folliküler hücrelerinden köken alan, iyot tutma yeteneğini koruyan, TSH ile uyarılabilen, tiroid hormonu sentezleyen karsinomlar; diferansiye kanserlerdir. İyi diferansiye tiroid karsinomlarının % 80-85 papiller, % 15-20 folliküler tiptir. Folliküler karsinomların % 3-5'i ise Hurtle hücreli varyanttır.<sup>2</sup>

Diferansiyasyon derecesine göre tiroid karsinomlarının sınıflandırılması Tablo 1'de belirtilmiştir.<sup>2</sup>

**Tablo 1. Diferansiyasyon Düzeyine Göre Tiroid Karsinomlarının Sınıflandırılması<sup>2</sup>**

<b>İyi Diferansiye</b>
Klasik papiller tiroid karsinomu Mikrokarsinom <1cm Kistik papiller karsinomlar Papiller tiroid karsinomun folliküler varyantı Klasik folliküler tiroid karsinomu Hurtle hücreli (oksifilik, onkositik) varyantlar
<b>Orta Diferansiye</b>
Medüller tiroid karsinomu Papiller tiroid karsinomun sklerozan varyantı Papiller karsinomun uzun hücreli (tall cell) varyantı
<b>Kötü Diferansiye</b>
Anaplastik (Andiferansiye) karsinom

### **DSÖ 2004 Sınıflaması<sup>7</sup>**

#### **-Tiroid Karsinomu**

- Papiller Karsinom
- Folliküler Karsinom

- Az Diferansiye Karsinom
- Anaplastik (Andiferansiye) Karsinom
- Skuamöz Hücreli Karsinom
- Mukoepidermoid Karsinom
- Eozinofili ile giden Sklerozan Mukoepidermoid Karsinom
- Müsinöz Karsinom
- Medüller Karsinom
- Miks Medüller ve Folliküler Hücreli Karsinom
- Timus Benzeri Diferansiyasyon Gösteren İğsi Hücreli Tümör
- Timus Benzeri Diferansiyasyon Gösteren Karsinom

#### - Tiroid Adenomu ve İlişkili Tümörler

- Folliküler Adenom
- Hyalinize Trabeküler Tümör

#### - Diğer Tiroid Tümörleri

- Teratom
- Primer Lenfoma ve Plazmositom
- Ektopik Timoma
- Anjiosarkom
- Düz Kas Hücreli Tümör
- Periferel Sinir Kılıfı Tümörü
- Paraganglioma
- Soliter Fibröz Tümör
- Folliküler Dendritik Hücreli Tümör
- Langerhans Hücreli Histiyoitoz
- Metastatik Tümörler

#### 2.4.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri

Tiroid kanserlerinin patogeneğinde etkili olan birçok faktör vardır;

**-Eksternal Radyasyon;** Tiroid kanserine zemin oluşturan en önemli risk faktörü özellikle yaşamın ilk iki dekadında iyonizan radyasyona maruz kalmaktır. Çocuklardaki

PTK gelişiminde radyoaktivitenin rolü daha belirgindir. Çocuk olguların % 10'unda baş-boyun bölgesine radyasyon maruziyeti öyküsü vardır.<sup>5,6,26</sup>

Radyasyona tedavi nedeniyle maruz kalınabilir; atom bombası ve nükleer kazalar da maruziyet nedeni olabilir. Çernobil nükleer patlamasına (1986) bağlı radyoaktif iyot maruziyetinden sonra Belarus'ta ve Ukrayna'da, özellikle çocuklarda, papiller tiroid karsinom ve papiller mikrokarsinom insidansının 6-500 kat arttığı bildirilmiştir.<sup>6,7,27,28</sup> Yine Hiroşima'da atılan atom bombasından sonra da papiller tiroid karsinom ve papiller mikrokarsinomda artış saptanmıştır.<sup>7,27,28</sup> Radyasyona maruziyet sonucu gelişen papiller tiroid karsinomu daha agresif ve nüks etmeye eğilimli olmakla birlikte prognozu diğer papiller karsinomlardan farklı değildir.<sup>28</sup> Radyasyona maruziyet ile tümör gelişimi arasındaki ortalama süre, değişken olmakla birlikte, ortalama 20 yıl olarak bildirilmiştir.<sup>29</sup>

**-İyot:** Papiller tiroid karsinomu iyot alımının yeterli ya da fazla olduğu bölgelerde eksik olan bölgelere göre daha fazla görülür. Folliküler karsinom için ise tam tersi söz konusudur. Güney Amerika ve Avrupa'daki endemik guatr bölgelerinde diyetle iyot eklenmesi Folliküler karsinom oranını düşürürken, Papiller tiroid karsinomunu artırmıştır.<sup>5,7</sup>

**- Otoimmün Hastalıklar:** Çok sayıda araştırma, papiller tiroid karsinomlarının 1/3'ünün kronik tiroidit zemininden geliştiğini göstermektedir. Ancak bu çalışmalarda, önceden var olan tiroiditi kanıtlayacak serolojik bir gösterge genellikle yoktur. Papiller tiroid karsinomu ve tiroiditlerin her ikisi de yaygın görülen durumlardır. Bir arada bulunmaları, etyolojik bağlantıdan daha olası bir durumdur.<sup>26,30</sup>

**- Hormonal ve Reprodüktif Faktörler:** Papiller tiroid karsinomu, kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir.<sup>6</sup> Bu durumun, neoplastik tiroid epitelinde östrojen reseptörü bulunuşu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.<sup>6,31</sup> Bazı çalışmalar, artmış parite, ilk gebelik yaşının geç olması, fertilité sorunları, oral kontraseptifler gibi çeşitli hormonal faktörlerin papiller tiroid karsinomu gelişiminde rol oynadığını göstermiştir.<sup>26,32</sup>

**-Genetik Sendromlar:** Epidemiyolojik çalışmalar birinci derece akrabalarında tiroid kanseri olan hastalarda tümör görülme oranının 4-10 kat arttığını saptamıştır. Ailede tiroid kanseri genetik geçişli bazı ailevi hastalıklarla birlikte görülebilir; Familyal adenomatöz polipozis koli, Cowden sendromu, Nonpolipozis kolon kanser sendromu,

Peutz – Jeghers sendromu ve Ataksia telenjektazili hastalarda papiller tiroid karsinomu tanımlanmıştır.<sup>2,7,26</sup> Familial adenomatoz polipozis koli’li hastaların % 1-2’sinde tiroid karsinomu görülmektedir ve bunların % 95’ten fazlası papiller karsinom morfolojisindedir.<sup>26</sup>

Papiller tiroid karsinomunun özellikle kribriform varyantının Familial adenomatoz polipozis koli ve Gardner sendromuyla birlikteliği fazladır.<sup>7</sup> Familial adenomatoz polipozis koli’de olan APC (adenomatoz polipozis koli) gen mutasyonu ya da heterozigosite kaybı, familial papiller tiroid karsinomunda görülen RET/PTC1 aktivasyonu ile yakın ilişkilidir.<sup>26</sup> Cowden sendromunda meme ve tiroid karsinom gelişme riski fazladır.<sup>7,26,30</sup>

**-Tiroid ve paratiroid adenomu/hiperplazisi:** Papiller karsinom nadiren ,tirodin benign nodülleri ve adenomlarından kaynaklanır.<sup>7,26</sup> Bazı araştırmacılar, papiller karsinom ve paratiroid adenomu/ hiperplazisi birlikteliğini boyun bölgesine uygulanan eksternal radyasyonla ilişkilendirmektedir.<sup>26</sup>

### **2.4.3. Papiller Tiroid Karsinom**

Papiller karsinom tiroid kanserlerinin en yaygın tipidir.<sup>32</sup> Diyetle iyodun bulunduğu gelişmiş ülkelerde; PTK malign epitelyal tiroid kanserlerinin % 80-85’ini oluşturmaktadır.<sup>29</sup>

İkibinsekiz yılında tüm dünyada 37.340 yeni tiroid kanseri vakası tanı almış olup bunların % 70-75 kadarı PTK’dur. Hastalığın insidansı 1935 yılında kadınlarda 1.3/100,000 ve erkeklerde 4.6/100,000 oranında iken bu oran 2001-2005 yılları arasında kadınlarda 13.4/100,000 ve erkeklerde 4.7/100,000 oranına yükselmiştir.<sup>33</sup>

Her yaş gurubunda görülmekle birlikte, en sık 20-50 yaşlarda rastlanır. Çocuklarda görülen tiroid malignitelerinin % 90’nından fazlasını oluşturur.<sup>30</sup>

#### **2.4.3.1. Lokalizasyon**

Papiller tiroid karsinomu tiroid bezi yanı sıra ektopik tiroid dokusunda, teratomlarda (struma ovarii)<sup>34</sup> ve tiroglossal duktus kistinde de gelişebilir.<sup>7</sup>

#### **2.4.3.2. Klinik**

Hastaların bir kısmı tiroid kitlesi ve servikal lenfadenopati kliniği ile gelirken çoğu rastlantısal olarak radyolojik değerlendirme sırasında farkedilir. Boyutu büyük olan kitlelerde disfaji, stridor ve öksürük, laringeal sinir hasarı olabilir.<sup>7,26</sup>

### **2.4.3.3. Tiroid fonksiyon testleri**

Tiroidin fonksiyonel kapasitesini değerlendirmek için önemli olan bu testler papiller karsinom tanısına yardımcı değildir.<sup>7</sup>

### **2.4.3.4. Radyoloji**

#### **- Tiroid Sintigrafisi:**

Tiroid nodüllü hastalarda nodülün fonksiyon durumunu saptamak için tiroid sintigrafisi yapılır.<sup>5,7</sup> Sintigrafide nodülde iyot alımının olmaması (hipofonksiyone-soğuk nodül) malignite lehine kabul edilebileceği gibi tiroid adenomları, kolloid ve dejeneratif nodüller, kistik ve nekrotik nodüller, inflamatuvar değişiklikler de soğuk nodül şeklinde görülür. Soğuk nodüllerde % 10-15 oranında tiroid kanseri ortaya çıkması nedeniyle bu nodüllerin takibi önem taşır.<sup>35</sup>

#### **- Tiroid Ultrasonografisi:**

Ultrasonografik inceleme, kitlenin boyutunu, kistik ya da solid olduğunu değerlendirmede önemlidir. Kitlede sınır düzensizliği, hipoekojenite, diffüz mikrokalsifikasyonların varlığı maligniteyi düşündürür.<sup>5,7,26</sup>

#### **- Diğer Görüntüleme Yöntemleri:**

Radyoaktif iyot taramaları, bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme yöntemleri, yaygın semptomatik tümörü olan yaşı hastalarda, çevre dokulara fiksasyonu olan hastalarda, özellikle tümör sınırlarını değerlendirip cerrahinin başarısını artırmak için kullanılır.<sup>7,26</sup>

### **2.4.3.5. İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (İİAS)**

Cerrahi girişim öncesinde PTK tanısını koymada en etkili yöntemdir. Soliter tiroid nodüllerinin tanısal algoritmasında İİAS ilk basamak olmalıdır. Sadece tiroid dokusundaki PTK odağının değil, primer mikropapiller karsinomların (çap ≤ 1cm), metastatik servikal lenf nodlarının tanısında da İİAS'den faydalanılabilir.<sup>7,32</sup>

Malign tiroid İİAS tanısı tüm tiroid İİAS'lerinin % 4-8'ini oluşturur ve bunların çoğu PTK'lardır.<sup>36,37</sup> İİAS ile PTK tanısı konulan olguların histolojik izlemlerinde % 96-100 oranında PTK görülür.<sup>36-38</sup> Dolayısıyla bu tümörlerde İİAS, pozitif öngörme değeri (PPV) oldukça yüksek bir yöntemdir.

#### 2.4.3.6. Makroskopi

Tümör boyutu mikroskopik boyuttan birkaç cm.'ye kadar değişiklik gösterir. Multisentrik olabilir ve çoğu tümör, gri-beyaz renkli, düzensiz sınırlı bir kitle şeklindedir(Şekil 2). Ancak % 10'dan azı kapsüllü olabilir. Tümörde, kalsifikasyon ya da kistik değişiklikler görülebilir. Bazen primer tümör ile metastatik nodül farklı özellikte olabilir, örneğin; primeri solid paternde iken, metastazı kistik paternde izlenebilir. Tiroid çevresi yumuşak dokuya, özefagus, larenks ve trakeaya invazyon görülebilir. Distrofik kalsifikasyon yaygındır hatta bazen osteoid metaplazi görülür. Kanama, nekroz olabilir.<sup>5,7</sup>



Şekil 2. Tiroid papiller karsinomu makroskopik görünümü

#### 2.4.3.7. Mikroskopi

Papiller tiroid karsinomu, belirgin nükleer özellikler taşıyan, follikül epitel hücreleri kökenli malign epiteliyal tümördür. Büyüme paterni daha çok papiller olmakla birlikte, solid, trabeküler, mikro-makrofolliküler, mikroglandüler ya da kribriform olabilir.<sup>7,26</sup>

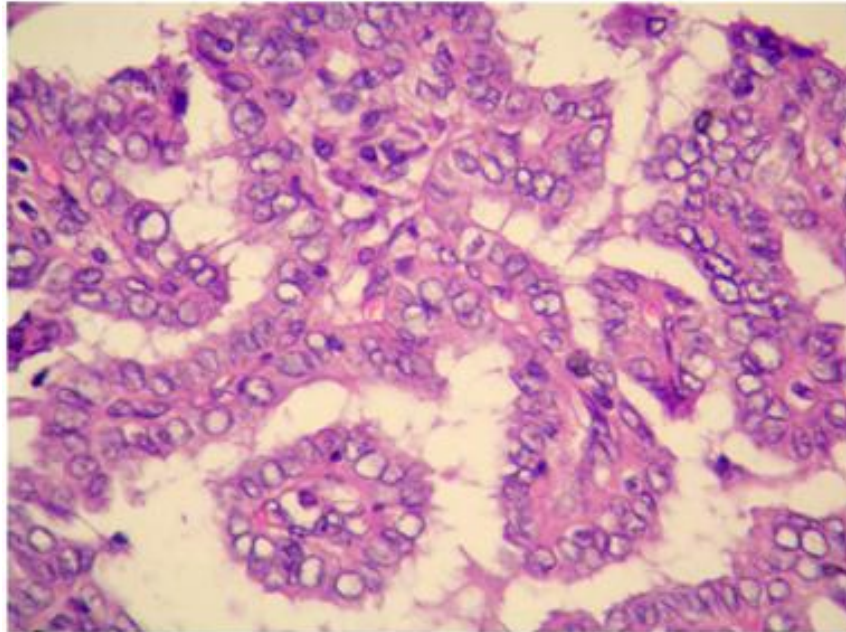
Papiller tiroid karsinomunda tümör papiller ve/veya folliküler yapılardan oluşur. Folliküler yapılar sıklıkla düzensiz ve tübülerdir. Papiller yapılar, fibrovasküler

stromayı örten bir ya da birkaç sıralı, kalabalık, oval nükleuslu hücrelerden oluşur. Stroma ödemli ya da hyalinize olabilir, ayrıca stromada lenfositler, köpüksü hücreler, hemosiderin ve nadir olarak yağ dokusu bulunabilir. Tiroid folliküllerinde hiperplazi olduğunda da papiller değişiklikler görülebilir. Ancak bu papillalar fibrovasküler kor içermez ve uniform nükleuslu kolumnar epitel ile döşelidir.<sup>6</sup>

Papiller karsinomda tümör kistik olabilir ve bu kisti skuamöz metaplazi gösteren epitel döşeyebilir. Skuamöz metaplazi PTK'da % 45 oranında görülür.<sup>5,7,26,29</sup>

PTK'da nükleusların bazı karakteristik özellikleri vardır. Papiller yapı olmasa bile papiller karsinom tanısında bu nükleus özellikleri temel alınmaktadır.<sup>6</sup> PTK nükleer özellikleri şu şekilde sıralanabilir:

- Üst üste binme özelliğinde (overlapping), normal tiroisit nükleusundan daha büyük ve daha oval, berrak, buzlu cam görünümünde, tozsu kromatin içeren Orphan Annie nükleusu denilen tipik görünüme sahip nükleuslardır.<sup>6,7,26,30</sup> Bu görünümün formalin fiksasyon artefaktına bağlı olduğu düşünülmektedir, frozen kesitlerde bu görünüme rastlanmamaktadır.<sup>39</sup> Buzlu cam görünümlü şeffaf nükleuslar, tüm papiller karsinomların % 80'inden fazlasında görülmektedir.<sup>6,7,26</sup>



**Şekil 3. Papiller Tiroid Karsinomu (H.E x 200)**



- Nükleer membran oldukça kalındır. Nükleol kenara itilmiştir, görülmez. Sitoplazmik membranın nükleusa doğru invajinasyonu sonucu oluşan intranükleer psödoinklüzyonlar, olguların % 80-85'inde görülür (Şekil3). İnanükleer psödoinklüzyonlar, frozen kesitlerde ve İİAS preparatlarında daha iyi değerlendirilir. Patognomonik değildir.<sup>5,7,26,40</sup> İnanükleer psödoinklüzyonlar; medüller tiroid karsinomunda, anaplastik tiroid karsinomunda ve çok nadir olarak benign tiroid nodüllerinde (örn; folliküler adenom, lenfositik tiroidit, nodüler guatr) de izlenir.<sup>36</sup>

-Nükleusun uzun eksenine paralel yarıklı şekilde izlenen nükleer oluklar (nuclear groove), nükleer membranın kıvrımlanmasından oluşur. Bu özellik neredeyse tüm papiller karsinomlarda en azından fokal olarak bulunur. Sitolojik preparatlarda da rahatlıkla izlenebilir ancak patognomonik değildir..<sup>5,7,26,40</sup> Hurtle hücreli tip başta olmak üzere bazı folliküler neoplazmlarda, hyalinize trabeküler adenomda ve az diferansiye tiroid karsinomunda da görülebilir.

-Mitoz azdır veya yoktur.<sup>5,7,26</sup>

-Psammom cisimcikleri olguların % 40-50'sinde bulunur. Bu konsantrik lamellar tarzda mikrokalsifikasyonlar, papiller yapıların uçlarında, stromasında ya da hücreler arasında görülebilir. Servikal lenf nodularında psammom cisimciklerinin görülmesi papiller tiroid karsinomu için güçlü bir kanıttır.<sup>5-7,40</sup>

PTK'a ait İİAS yaymalarında, tipik yapısal ve sitolojik özellikler vardır. Tümör hücreleri fibrovasküler kor içeren papillalar, üç boyutlu keskin sınırlı solid adalar ve tabakalar meydana getirir. Nükleer yarıklanma, intranükleer psödoinklüzyon ve soluk tozsu kromatin paterni PTK' nun tipik nükleer özellikleridir. Nükleusta gözlenen diğer özellikler ovalleşme, irileşme, nükleer yığılma ve "molding" varlığıdır. Nükleus kenarına yerleşmiş tek ya da birden çok mikronükleol içerebilir. Sitoplazmik mikrovakuoller, hurtle hücre metaplazisi, skuamöz metaplazi görülebilir. Tanı için yardımcı diğer özellikler uzamış, dens, sakızsız görünümlü kolloid, multinükleer dev hücreler ve psammom cisimleridir.<sup>7,36,40,41</sup>

PTK'da İİAS'de psammom cisimleri % 4-20 oranında görülür. Psammom cisimi medüller karsinomda, lenfositik tiroiditte, Graves hastalığında ve hatta nodüler guatrda da görülebilir. Tek başına psammom cisminin PTK için prediktif değeri % 50, PTK'un sitolojik özellikleri ile birlikte iken % 100'dür.<sup>36</sup>

#### 2.4.3.8. İmmünohistokimya (İHK)

Papiller karsinomlar, TTF-1(Thyroid transcription factor-1) ve tiroglobulin ile pozitif boyanma gösterir. Kromogranin ve sinaptofizin negatiftir. Papiller karsinomu, İHK ile diğer follikül kaynaklı tiroid lezyonlarından ayırmayı amaçlayan çok sayıda yayın bulunmaktadır. Bu konuda sitokeratin-19, HBME-1 ve galektin-3 öne çıksa da bu boyaların hiçbiri PTK için spesifik olmayıp bazı benign tiroid lezyonlarında (nodüler guatr, folliküler adenom, lenfositik tiroidit ve iğne aspirasyonu yapılan reaktif alanlarda) da boyanır. CK 19 negatifliği, tipik PTK nükleer özellikleri varlığında tanıyı ekarte ettirmez. Bu yüzden bu boyaların panel olarak uygulanması önerilmektedir.<sup>5,7,26</sup>

Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWK), S100, vimentin, EMA, CA-125, RET, HLA-DR, kan grup antijenleri, östrojen reseptörleri, CD15, CD57 (Leu7), fibronektin-1, platelet derive growth faktör (PDGF), claudin-1, involukrin, tiroid peroksidaz, HER2/neu, ICAM1 ve insülin-like growth factor protein-6 (IGFBP-6)'nın değişik oranlarda ekspresyonu görülmüştür fakat hiçbiri spesifik değildir.<sup>5,7</sup>

#### 2.4.3.9. Papiller Tiroid Karsinom Varyantları

PTK'un, klasik tipten farklı morfolojik özelliklere sahip alt tipleri mevcuttur.<sup>32</sup>

- Papiller mikrokarsinom
- Foliküler varyant
- Makrofolliküler varyant
- Onkositik varyant
- Berrak hücreli varyant
- Diffüz sklerozan varyant
- Uzun hücreli (tall cell) varyant
- Kolumnar hücreli varyant
- Solid varyant
- Kribriform varyant
- Warthin benzeri varyant
- Enkapsüle varyant
- İğsi hücreli varyant
- Lipomatöz stromalı varyant
- Fasiitis benzeri stroma gösteren varyant

- Miksoid varyant

#### - Papiller Mikrokarsinom (PMK)

DSÖ'nün 1988 sınıflamasına göre, en büyük boyutu 1 cm ya da daha küçük olan PTK için kullanılan terimdir. PTK'un en yaygın formudur. Bu tümör için kullanılan okkült PTK, okkült sklerozan karsinom, küçük PTK, kapsülsüz sklerozan tümör gibi farklı isimlendirmeler mevcuttur.<sup>5,7,26</sup> Sıklıkla benign tiroid nodülü nedeni ile opere edilen kişilerde insidental olarak saptanır.<sup>42</sup> Finlandiya'da otopsi serilerinin 1/3'ünde ve PTK ile ilişkisiz olarak yapılan tiroidektomi materyallerinin % 24'ünde PMK odağı saptanmıştır.<sup>7</sup>

PMK, çocuklarda daha agresif seyirlidir.<sup>7</sup> Klinik olarak sıklıkla sessiz olmasına rağmen, literatürde lenf nodu metastazı hatta akciğer metastazı yapmış PMK olguları bildirilmiştir.<sup>7,26</sup> Bu nadir lezyonlarda p27 kaybı ve siklin D1 artımı saptanmıştır.<sup>43</sup> Özellikle multifokal olma eğiliminde olan ailesel formlarında lenf nodu metastazı ve uzak metastaz eğilimi yüksektir.<sup>26,29</sup>

Tümör genellikle tiroid kapsülüne yakın yerleşimli, sert, tebeşirimsi beyaz bir lezyon olarak görülür. PMK'ların % 75'i kapsülsüz ve sklerozedir, lezyon çevre tiroid dokusuna infiltre olabilir. Nadiren özellikle boyutu 5 mm.den küçük olanlar kapsüllü olabilir. Geniş serilerde tümör çapı ile histolojik özellikleri arasında korelasyon bulunmuştur. Çapı 0,5 cm'den küçük tümörler genellikle folliküler yapıda ve belirgin sınırlıdır. 0,5 cm'den büyük çaplı tümörler ise papiller yapıda ve sıklıkla infiltratiftir.<sup>7,26</sup>

#### - Folliküler varyant (PKFV)

1960 yılında Lindsay tarafından tanımlanmıştır. Chen ve Rosai 1977 yılında Papiller tiroid karsinom folliküler varyant terminolojisini önerdi. PKFV, küçük ya da orta büyüklükte, papiller konfigürasyonu olmayan düzensiz şekilli folliküllerden oluşur(Şekil 4). Makroskopik olarak kapsüllü, kapsülsüz veya kısmen kapsüllüdür. Odaklar halinde psammom cisimcikleri görülebilir.

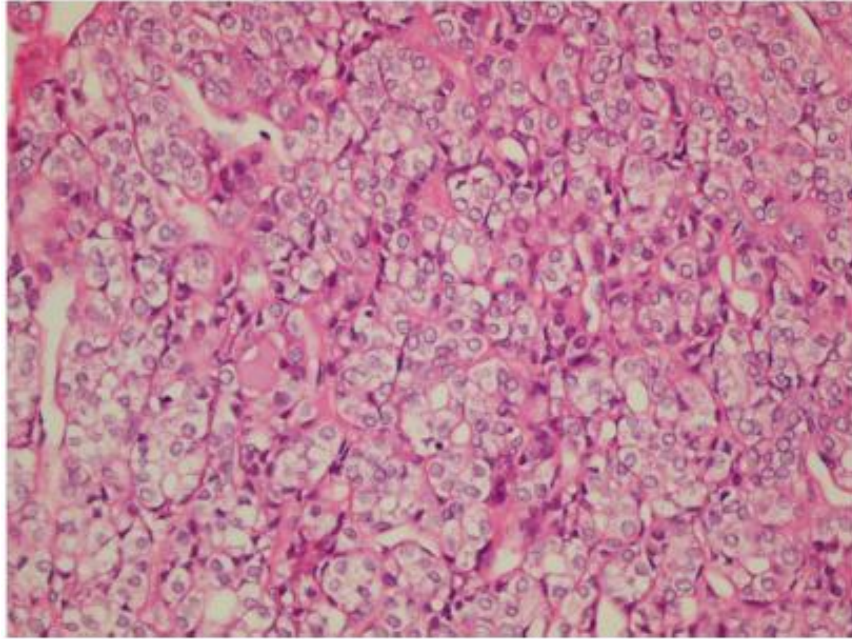
PKFV'nin prognozu, klasik tip PTK'a benzer . Lenf nodu metastazı yapma eğilimi klasik tipten daha düşüktür.<sup>7,26,29</sup>

Mikroskopik olarak iki alt gruba ayrılır:

- Diffüz varyant
- Enkapsüle varyant

- **Diffüz FV:** Tiroid bezi diffüz olarak tümör ile infiltredir. Nadirdir, daha genç hastalarda görülür. Lenf nodu metastazı ve uzak metastaz daha yaygın olup, prognozu kötüdür.<sup>18,19,25,39</sup>

- **Enkapsüle FV:** Papiller neoplazmların % 10'unu oluşturur.<sup>10</sup> Tümör çevresinde kapsül varlığıyla karakterlidir. PKFV'ların 1/3'ü kapsüllüdür. Mikroskopik olarak folliküler patern gösterir ve papiller karsinomun tipik nükleer özelliklerini taşır. Bunlar, nükleer özellikleri yama tarzında içerdiğinden kolaylıkla adenomatöz nodül ya da folliküler adenom yanlış tanısı alabilir.<sup>7,26,29,39</sup>



**Şekil 4. Papiller karsinom folliküler varyant (H.E x 200)**

Bazı kapsüllü nodüller ise çok az miktarda tipik nükleer özellikleri gösterir. Bunların klinik önemi belirsizdir. Bu tümörlere “malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör” denilmesi önerilmiştir fakat bu öneri henüz yaygın kabul görmemiştir.<sup>7</sup> Papiller karsinomun tipik nükleer özellikleri yanı sıra immünohistokimya ile lezyonların düşük ve yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinlerle ve HBME-1 ile pozitif boyanması, folliküler neoplazmlardan ayırımına yardımcı olur.<sup>5,7,26</sup>

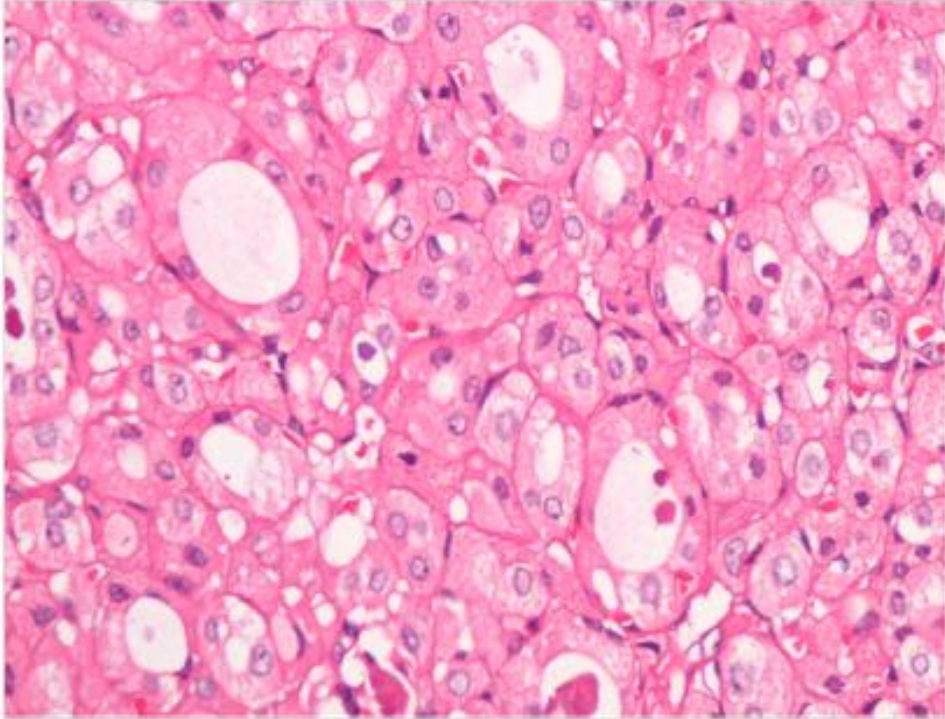
Folliküller içinde değişik oranlarda eozinofilik kolloid bulunur. İntrafolliküler multinükleer dev hücreler sıktır. Nadiren stromal skleroz ve psammom cisimleri içerir. Enkapsüle FV prognozu iyidir. Lenf nodu ve uzak organ metastazı çok nadirdir.<sup>6,7</sup>

**- Makrofolliküler varyant:**

Tümörü oluşturan folliküllerin oldukça büyük (200 µm'den büyük) olması ile karakterizedir. Makrofolliküller tümörün yarısından fazlasını oluşturur. Arada daha küçük çaplı folliküller gözlenebilir. Follikülleri döşeyen hücreler karakteristik PTK nükleus özelliklerine sahiptir, ancak bu özellik fokal olarak da izlenebilir. Bu tümörler sıklıkla enkapsüledir. Lenf nodu metastazı oranı düşüktür.<sup>7,41</sup>

**- Onkositik varyant:**

Makroskopik olarak kızıl kahverengi, nadiren gri-beyaz renkli, kapsüllü, kistik değişiklikler içermeye eğiliminde, büyük boyutlara ulaşan bir lezyondur. Bazen kapsül invazyonu olabilir. Mikroskopik olarak papiller ya da folliküler patern gösterebilir. Lezyonların % 75'inden fazlası dallanmış papiller yapılardan oluşur. Papiller yapıların ince fibrovasküler korlarında veya makro ve mikrofolliküllerde değişik oranlarda belirgin eozinofilik, granüler sitoplazmalı, onkositik hücreler bulunur(Şekil 5). Bu hücreler genellikle poligonaldır fakat kolumnar da olabilir. Nükleuslar, PTK'un tipik nükleusları şeklindedir. Lenfositik infiltrasyon yaygındır. Psammom cisimleri nadiren bulunur. Dejeneratif değişiklikler izlenebilir.<sup>7,26,32</sup> Prognozu PTK gibidir.<sup>5,7,26</sup>



Şekil 5. Papiller karsinom onkositik varyant (HE x 200)

### **- Berrak hücreli (Clear cell) varyant:**

Papiller karsinomun nadir bir varyantıdır. Tümörün yarısından daha fazlasını papiller karsinom nükleer özelliklerine sahip berrak hücreler oluşturur. Bazı tümörlerde berrak hücrelere onkositik hücreler eşlik edebilir. Berrak hücre değişikliğinin, onkositik hücrelerdeki dejenerasyondan ve glikojen birikiminden kaynaklandığı düşünülmüştür. Papiller, folliküler veya solid büyüme paternleri izlenebilir. İntrasellüler ve ekstrasellüler mükün birikimi gözlenebilir. Berrak hücrelerde mükün varlığı alcian blue pozitifliği ile gösterilir.

Metastatik renal hücreli karsinomdan ve medüller karsinomdan kolloidin varlığı yanı sıra İHK ile TTF-1, tiroglobülin pozitifliği, kalsitonin negatifliği ile ayrılabilir. Tedavi ve prognozu PTK ile aynıdır.<sup>7,39</sup>

### **- Diffüz sklerozan varyant:**

Nadirdir, yaklaşık olarak tüm PTK'nın % 3'ünü oluşturur. Tipik olarak çocuklar ve genç erişkinlerde izlenir.<sup>7</sup> Çernobil nükleer felaketinden sonra çocuklarda görülen PTK'ların % 10'unu oluşturur.<sup>26</sup> Belirgin bir kitle oluşumundan çok tiroidin bir ya da iki lobu genellikle diffüz olarak tutulur. Histolojik olarak kümeler halinde papiller karsinom odakları, bazen de folliküler paternli adalar, yoğun fibrozis, çok sayıda psammom cisimleri, yaygın skuamöz metaplazi görülür. Hashimoto tiroiditine benzer belirgin lenfositik infiltrasyon eşlik eder. Neoplastik hücreler PTK'un tipik nükleer özelliklerini taşır.<sup>5-7,26</sup>

Prognozu kötüdür. Ekstrakapsüler yayılım siktir. Hemen tamamında tanı sırasında servikal lenf nodu metastazı vardır. Akciğer metastazı olguların % 25'inde saptanır.<sup>7,29</sup>

### **- Uzun hücreli (Tall cell) varyant**

PTK'un yaklaşık olarak % 10'unu oluşturur. İleri yaş hastalarda görülür. Erkeklerde daha siktir.<sup>5-7,26</sup> Tümör çapı genellikle 5 cm'nin üzerindedir.<sup>40</sup> Boyu eninin en az 3 katı olan uzun kolumnar hücrelerin tümörün en az % 50'sini oluşturması ile karakterizedir. Nükleer yarıklanmalar ve psödoinklüzyonlar siktir. Hücre sınırları belirgin, geniş dens eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Uzamış folliküller ile ince fibrovasküler kor ve dallanmalar gösteren sıkıca bir arada duran papillaların varlığı, trabeküler patern izlenimi verir.<sup>5-7,26</sup>

İİAS'de diğer PTK varyantlarına göre nükleer kromatin daha granülerdir ve intranükleer inklüzyonlar daha sıktır. Bir nükleusta birden fazla intranükleer inklüzyon da nükleusa 'sabun köpüğü' görünümü verir. Psammom cisimleri daha az sayıdadır.<sup>36</sup>

Klasik PTK'dan daha agresiftir (rekürrens: % 18-58; mortalite % 9-25).<sup>5,7,26,39</sup> Nekroz, mitotik aktivite, ekstratiroidal yayılım, vasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz gösteren büyük tümörlerdir.<sup>6,7,32</sup> İHK ile LeuM1 (CD15), EMA pozitifliği göstermesi, yüksek p53 boyanma oranı ve üçte birinde RET/PTC translokasyonu ve BRAF mutasyonunun bulunması agresiflik göstergeleridir.<sup>5,39</sup>

#### **- Kolumnar hücreli varyant:**

PTK'un nadir bir formudur. Makroskopik olarak, tümör büyük çapta ve kapsülsüzdür. Mikroskopik olarak, dar kolloid içersinde papiller yapılar belirgindir; folliküler, trabeküler ve solid alanlar da görülebilir. Bazen folliküller elonge olabilir, tübüler yapılar oluşturabilir; metastatik bir adenokarsinomla karışabilir. Papiller yapıları, nükleusları hiperkromatik, psödostratifiye, uzun kolumnar hücreler döşer. Sitoplazma dar ve soluktur; erken sekretuar endometriuma benzer supranükleer ya da subnükleer vokuolizasyon içerir. PTK'un tipik nükleer özellikleri pek görülmez. Psammom cisimcikleri nadirdir. Skuamöz metaplazi, mitoz olabilir. Nekroz az sayıda olguda izlenir.<sup>5,7,26,39</sup> Tiroid dışı yayılım, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz sıktır.<sup>7,29,40</sup>

#### **- Solid varyant:**

PTK'da dar kolloid içersinde yuvarlak şekilli solid adalar görülebilir. Ancak solid varyant tanısı koyabilmek için, tümörün % 50'sinden fazlasının solid büyüme paterni göstermesi gereklidir.<sup>7,26,39,40</sup> Solid varyant, çoğunlukla çocuklarda görülür ve Çernobil nükleer feleketinden sonraki PTK'ların % 30'undan fazlasında görülmüştür.<sup>40</sup> Olguların yaklaşık yarısı baş-boyun bölgesine eksternal radyasyon öyküsü olan çocuklardır.<sup>7,26</sup> Vasküler invazyon ve ekstratiroidal yayılım olguların 1/3'ünde görülür.<sup>7</sup>

#### **- Kribriform varyant:**

Histolojik olarak fokal papiller yapılar, uzun kolumnar hücreler, kolloid içermeyen kribriform patern, solid ve iğsi hücreli hücreler ve skuamoid morüller izlenir.<sup>5,40</sup> Tipik olarak FAP ve Gardner sendromlu olgularda izlenir. Sporadik olgular da olabilir. Fakat hem familyal hem sporadik formlar çok nadirdir. Bu hastalarda APC gen analizi FAP tanısını erken yakalamak için önerilmektedir. Somatik RET/PTC gen

yeniden düzenlenmesi gösterilmiştir. İHK olarak beta-katenin ve biotin pozitifliği değerlidir. Prognozu iyidir.<sup>5,40</sup>

**- Warthin benzeri varyant:**

Mikroskopik olarak tükrük bezinin Warthin tümörüne benzer. Histolojik olarak papiller yapıları döşeyen eozinofilik sitoplazmalı hücreler yanı sıra stroma içerisinde germinal merkezler içeren belirgin lenfositik infiltrasyon görülür. Klinik gidiş, klasik tip PTK'a benzer.<sup>26,36</sup>

**- Fasiitis benzeri stroma içeren papiller karsinoma:**

Bu varyantta nodüler fasiitisi andıran bol miktarda sellüler stroma gözlenir. PTK alanları çevresindeki stromada işsi hücrelerden oluşan fasiküller izlenir. Miksoid matriks ve dens keloid benzeri kollajen de stromada dikkati çekebilir. Monoton görünümdeki stromal hücreler ince kromatinlidir ve küçük nükleoller içerir. Mitoz nadirdir.<sup>40,41</sup>

**2.4.3.10. Prognoz**

PTK'da prognoz oldukça iyidir. 10 yıllık yaşam süresi % 90'ın üzerinde, genç hastalarda ise % 98'in üzerindedir.<sup>5,7,26</sup>

Prognozu etkileyen faktörler:

- 1. Yaş:** En önemli prognostik faktörlerden biridir. 50 yaş üzerindeki olgularda, daha genç olanlara göre prognoz daha kötüdür.<sup>5,6,40</sup>
- 2. Cinsiyet:** Kadınlarda prognoz çoğu serilerde erkeklere göre daha iyi bulunmasına karşın, bazı serilerde belirgin fark görülmemiştir.<sup>26</sup>
- 3. Tiroid dışı yayılım:** Prognozu kötü yönde etkileyen faktörlerin başında gelmektedir.<sup>5,40</sup>
- 4. Mikroskopik alt tipler:** Morfolojik alt gruplar anlatılırken konu içinde ayrı ayrı prognozları belirtilmiştir. Diffüz sklerozan varyant, uzun hücreli (tall cell) varyant, kolumnar hücreli varyantta prognoz kötüdür.<sup>5,30</sup>
- 5. Tümör çapı:** Tümör çapı ile prognoz arasında ters bir orantı vardır. Tümör çapı büyüdükçe prognoz kötüleşir.<sup>5,39,40</sup>
- 6. Kapsül:** Kapsüllü tümörlerde prognoz diğerlerine oranla daha iyi seyretmektedir.<sup>5,7,39</sup>
- 7. Multisentrisite:** Birden fazla tümör odağı içeren olgularda, metastaz insidansının yüksek olduğu belirtilmektedir.<sup>5,7</sup>



- 8. Uzak metastaz:** Akciğer ve kemik gibi uzak metastazlar % 5-7 arasında görülür.<sup>5,7,40</sup>
- 9. Az diferansiye, skuamöz veya anaplastik alanlar:** Olguların % 5'inden daha azında görülmektedir. Bu komponentlerin olması prognozu kötü yönde etkilemektedir.<sup>5</sup>
- 10. Radyasyon öyküsü:** Daha önce radyasyonla karşılaşma öyküsü olanlar ile radyasyon öyküsü olmayan olgular arasında prognoz açısından fark görülmemiştir. Bazı çalışmalarda ise radyasyon öyküsü olan olguların daha agresif gidişli oldukları vurgulanmaktadır.<sup>26,28</sup>
- 11. DNA ploidi:** PTK'un büyük bir kısmında DNA diploid, % 20'sinde anöploid veya az bir kısmında nondiploiddir. PTK'un agresif davranışı ile anöploidi arasında korelasyon olduğu belirtilmektedir.<sup>5,29</sup>
- 12. Histolojik özellikler:** Literatürde atipi, mitoz, nekroz, vasküler invazyon gibi bulguların kötü prognostik etkisi olduğunu vurgulayan yayınlar vardır.<sup>44</sup> Papiller ve foliküler yapıların oranları, fibrozisin varlığı veya yokluğu, solid alanların varlığı veya yaygınlığı, psammom cisimciklerinin varlığı prognozu etkilemez.<sup>26</sup>
- 13. RET/PTC ekspresyonu:** RET/PTC ekspresyonunun prognoza etkisi değişkendir. RET/PTC1 daha sessiz tümörlerde izlenirken, RET/PTC3 daha agresif gidişli tümörlerde görülür.<sup>7,26</sup>
- 14. İmmünohistokimya:** EMA pozitifliğinin, p53 immünreaktivitesinin, ICAM-1 ve VEGF-C ekspresyonunun ve E-kaderin ekspresyon kaybının daha agresif klinik gidiş ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.<sup>5,39,45</sup>
- 15. Rb protein:** Rb protein ekspresyonunun rekürrenste etkili olduğu düşünülmektedir.<sup>5,39</sup>

#### **2.4.4. Folliküler Tiroid Karsinomu (FTK)**

Tiroidin follikül epitel hücrelerinden gelişen, papiller karsinomun nükleer özelliklerini taşımayan malign tümördür. Papiller karsinoma göre daha az sıklıkla görülür. Tüm tiroid karsinomlarının % 10-15'ini oluşturur. Kadınlarda daha fazla görülmekle birlikte, en sık 5. dekatta rastlanır. Papiller karsinoma göre çocuklarda nadirdir. İyot eksikliği FTK gelişimini tetikler. PTK gibi normal tiroid dokusunda ya da struma overi gibi ektopik tiroid dokusunda gelişebilir.<sup>7,40</sup>

Folliküler karsinomlar, folliküler adenomlardan gelişebilir. Sintigrafide soğuk nodül olarak izlenir. Kitlenin lokalizasyonu ve büyüklüğüne göre dispne, disfaji

oluşturabilir. Olguların % 20'sinden fazlasında, akciğer ve kemik başta olmak üzere uzak metastaz gelişebilir.<sup>7</sup>

#### 2.4.4.1. Makroskopi

Genellikle 1cm'den büyük, yuvarlak oval, kapsülle çevrili, kirli beyaz-kahverenkli solid kitle olarak izlenir. Minimal invaziv folliküler karsinomlarda kapsül kalın ya da düzensizdir. Yaygın invazyon gösteren folliküler karsinomlarda ise makroskopik olarak kapsülü aştığı görülür ya da belirgin bir kapsül yapısı izlenmez.<sup>5,7</sup>

#### 2.4.4.2. Mikroskopi

Kolloid içeren iyi düzenlenmiş folliküler yapılardan solid ve trabeküler büyüme paternine kadar değişen morfolojilerde olabilir. Genellikle kapsüllü olup, fokal bir alanda tam ya da tam olmayan kapsül invazyonu ve/veya vasküler invazyon gösterenler için “**minimal invaziv folliküler karsinom**”, geniş alanlarda vasküler ve/veya tiroid parankimine invazyon gösterenler için ise “**yaygın invaziv folliküler karsinom**” terimi kullanılır. Minimal invaziv folliküler karsinomda, folliküler adenom ve nodüler guatr ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Tek kanıt invazyondur. Vasküler invazyon açısından tanı güçlüğü çekildiğinde, damar endotel belirteçlerinden (CD 31, Faktör VIII gibi) yararlanılabilir. Kapsül invazyonu ile İİA işlemine sekonder kapsül rüptürü ayırt edilmelidir. Folliküler karsinom ile PKFV ayırıcı tanısında, PTK'un nükleer özellikleri yol göstericidir.<sup>5,7</sup>

FTK'da İİAS yaymaları oldukça sellülerdir. Yaymalarda mikrofollüküler yapılar oluşturan hücreler ve az miktarda kolloid izlenir. Follikül hücreleri normal ya da normalden büyüktür, nispeten uniformdur ve dar veya orta genişlikte sitoplazma içerir. İri, değişen boyutlarda nükleuslar ve belirgin nükleoller ile karakterize bir miktar nükleer atipi görülebilir.<sup>36</sup> Nükleer atipinin malignite ile korelasyonu konusunda farklı görüşler vardır. Bazı yayınlarda nükleer atipinin malignite ile ilişkili olduğu vurgulanırken, bazı yayınlarda ise folliküler adenomlar ve hiperplastik nodüller de atipi içerebildiğinden nükleer atipinin malignite yönünden anlamsız olduğu belirtilmektedir.<sup>46,47</sup> Malignite tanısı, histopatolojik incelemede kapsül ya da vasküler invazyon varlığının gösterilmesi ile konulur.<sup>5,7,29</sup>

#### **2.4.4.3. İmmünohistokimya**

Tiroglobülin, TTF-1, düşük moleküler ağırlıklı sitokeratin, EMA ve laminin, tip IV kollajen gibi bazal membran belirteçleri pozitifdir. Galektin-3, HBME-1 ve CD 15 pozitifliği bildirilmiştir.<sup>5,7</sup>

#### **2.4.4.4. Folliküler Tiroid Karsinomu Varyantları**

##### **- Onkositik (Hurtle hücreli) Varyant**

Malign hücrelerin % 75'inden fazlası onkositik hücredir. Tiroid malignitelerinin % 3-4'ünü oluşturur. Ortalama 61 yaşında görülür. Kadınlarda iki kat daha fazla görülür. Klasik tipte olduğu gibi ağrısız kitle oluşturur. Kesit yüzü kızıl kahverengidir. Kistik ve hemorajik değişiklikler izlenir. Hücreler eozinofilik nükleol içeren hiperkromatik ve pleomorfik nükleuslu, eozinofilik granüler ya da berrak sitoplazmalıdır. Aspirasyonda bol onkositik hücre izlenir. Hashimoto tiroiditinden lenfoplazmositik infiltrasyon olmaması ile ayrılır. Yapılan çalışmalarda, klasik tipe göre uzak metastaz yapma sıklığı daha fazla bulunmuştur.

##### **- Berrak hücreli (Clear cell) Varyant**

Baskın olarak glikojen, münin ya da lipid içeren berrak hücreler izlenir. Folliküler karsinomda taşlı yüzük hücreleri minör ya da majör komponent olarak bulunabilir.<sup>5,7</sup>

#### **2.4.4.5. Prognoz**

Yapılan klinik ve patolojik çalışmalarda FTK'da ileri yaş, erkek cinsiyet, tiroid dışı yayılım ve vasküler invazyon varlığı agresif biyolojik davranış ile ilişkili bulunmuştur.<sup>29</sup> Kırk yaş altında 10 yıllık yaşam süresi % 95, 40 yaş üstünde ise % 80'dir. Özellikle RAS mutasyonlarının FTK'larda daha agresif kliniğe sebep olduğunu, hastalısız sağ kalım süresinde ciddi azalmaya neden olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır.<sup>48</sup>

#### **2.4.5. Evreleme**

Diferansiye tiroid karsinomlarında; çeşitli evreleme sistemleri oluşturulmuş ve bu evreleme sistemlerinde farklı değişkenler (yaş, cinsiyet, tümör boyutu, multisentrisite, ekstra tiroidal yayılım, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz)

kullanılmıştır. American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından tümör-nod-metastaz (TNM) sistemi 2010 yılında tekrar düzenlenmiştir. TNM evreleme sistemi Tablo 2’de belirtildiği şekildedir.<sup>50</sup>

**Tablo 2. Tiroid Kanserlerinde TNM Evrelemesi**<sup>7,50</sup>

<b>Primer Tümör (T)</b>	
TX	Primer tümör değerlendirilemez
T0	Primer tümöre ait bulgu yok
T1	Tümörün en büyük boyutu 2 cm veya daha küçük ve tiroide sınırlı
T2	Tümör boyutu 2 cm’den büyük 4 cm’den küçük ve tiroide sınırlı
T3	Tümör boyutu 4 cm’den büyük ve tiroide sınırlı veya tümör herhangi bir çapta ve minimal tiroid dışı yayılım var
T4a	Tümör herhangi bir çapta ve tiroid kapsülünü aşarak subkutan yumuşak dokuyu, larinks, trakea, özofagus ya da rekürren laringeal siniri invaze etmiş
T4b	Tümör prevertebral fasya veya karotid arter veya mediastinal damarları invaze etmiş
<b>Bölgesel Lenf Nodu (N)</b>	
NX	Bölgesel lenf nodu metastazı değerlendirilemez
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var
N1a	Level IV lenf nodu (Pretrakeal, paratrakeal, prelaringeal/ Delphian lenf nodu) metastazı var
N1b	Tekveya iki taraflı veya servikal veya superior mediastinal lenf nodu metastazı var
<b>Uzak Metastaz (M)</b>	
MX	Uzak metastaz değerlendirilemez
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

**Tablo 3. TNM Evrelemesi**<sup>50</sup>

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

#### **2.4.6. Tedavi**

Diferansiye tiroid kanserlerinde; tedavi seçenekleri; cerrahi, radyoaktif iyot (RAI) ve tiroid hormon tedavisidir.

#### **Cerrahi Tedavi**

Diferansiye tiroid karsinomunun primer tedavisi cerrahidir. Cerrahi kararının verilmesinde preoperatif evreleme önemlidir. İki tip cerrahi yaklaşım mevcuttur; total tiroidektomi, unilateral lobektomi ve istmektomidir. Troid kanserinde genel cerrahi standartları konusunda çeşitli klavuzlar kullanılmaktadır.<sup>51,52</sup>

Total tiroidektomi; 1 cm ve üzerinde tümörü olan, ekstratiroid yayılımı olan ve metastazları olan tüm hastalara, ayrıca yüksek rekürrens oranları nedeniyle baş boyun bölgesine radyoterapi almış tüm hastalara total tiroidektomi uygulanması önerilmektedir.<sup>53</sup>

Unilateral lobektomi ve istmektomi operasyonu tümör 1 cm'in altındaysa (düşük riskli hastalarda tamamen tiroide sınırlıysa 3 cm'e kadar) ve glandın bir lobuna sınırlıysa önerilir. Lenf nodu diseksiyonu eğer klinik olarak lenf nodu tutulumu (servikal veya mediastinal) USG veya fizik muayene+İİAS ile saptandıysa yapılmalıdır. Lenf nodu metastazı boyun rekürrensini ve uzak metastaz riskini arttırmaktadır. Boyun diseksiyonu yapılırken; submental ve submandibular level I, üst, orta, alt servikal lenf nodları sırasıyla level II, III, ve IV olarak; level V arka ve level VI ön santral komponent olarak tanımlanmıştır. Boyun diseksiyonu endikasyonları; terapötik, profilaktik ve tutulumun saptandığı spesifik lenf nodu olarak tanımlanmıştır. Lenf nodu tutulumu saptanan tüm PTK'lu hastalara boyun diseksiyonu önerilmektedir.<sup>52</sup> Servikal nodal metastaz follikuler kanserli hastalarda nadirdir; Hurtle hücreli varyantlarda nodal tutulum olabilir aynı zamanda bu kötü prognostik bir faktördür. Metastatik lenf nodu tanımlanmışsa boyun diseksiyonu gerekmektedir.<sup>54</sup>

Mikroskopik bölgesel lenf nodu metastazı papiller tiroid kanserli hastaların % 80'inde mevcuttur. Ancak cerrahi öncesi servikal veya mediastinal lenf nodu metastazı tanı oranı sadece % 35'tir. Mikroskopik nodal hastalık nadiren klinik öneme sahiptir ve takibinde verilecek radyoaktifiyot tedavisi bu odakları ablasyona uğratacaktır. Klinik olarak saptanamayan mikroskopik odaklar için profilaktik boyun diseksiyonu yapılması birçok araştırmacı tarafından önerilmemektedir.<sup>55</sup>

Cerrahi komplikasyonları; hipoparatiroidizm ve rekürren ve süperior laringeal sinir yaralanmasıdır. Total tiroidektominin en önemli komplikasyonu hipoparatiroidizmdir. Tiroid operasyonu sonrası hastaların % 20'sinde geçici hipoparatiroidizm gelişmektedir; kalıcı hipoparatiroidizm % 0,8-3 oranındadır.<sup>56</sup> Hastaların % 1'inde kalıcı sinir yaralanması olurken, % 6'sında geçici pareziler oluşur.<sup>57</sup>

### **RAI Tedavisi**

Radyoaktif iyot fiziksel yarı ömrü 8 gün olan, beta partikül ve gama radyasyonu yayan bir radyonükliddir. Beta partikülleri hücrelerin DNA'sını bozarak hücre ölümüne neden olur. Gama enerjisi ise sintigrafik görüntülemeye olanak tanır. Tiroid dokusu kandan iyot alma yeteneğine sahiptir. İodin gibi radyoiodin de tiroid membranında yeralan sodyum-iodin transporter aracılığıyla tiroid folliküler hücrelerine alınır.<sup>58</sup>

Diferansiye tiroid karsinomlarında postoperatif radyoiodin ablasyonu ( $I^{131}$ ) kullanımı artmaktadır. RAI tedavisinin amacı; geride kalan rezidue tiroid dokusunu hasarlayarak lokal rekürrensi önlemek; uzun dönem takipte tüm vücut iyot taramalarını ve/veya stimüle tiroglobulin ölçümlerini kolaylaştırmaktır.<sup>2</sup> 1 cm'den büyük boyutlu, multifokal, rezidüel hastalık veya nodal metastaz olan hastalar, RAI ablasyon tedavisinden fayda görmektedir.<sup>2</sup>

American Thyroid Association kılavuzuna göre RAI tedavi endikasyonları; tüm evre III ve IV hastalar, evre II olup 45 yaş altı hastalar ve 45 yaş üstü hastaların çoğu, evre I seçilmiş hastalar (1,5cm üzeri tümörler, multifokalite, rezidüel hastalık, nodal metastaz, vasküler invazyon) şeklindedir.<sup>52</sup>

RAI tedavisinin en sık gözlenen yan etkileri; sialadenitis, bulantı, geçici kemik iliği supresyonudur. Karaciğer fonksiyon testlerinde geçici değişiklikler olabilir. Bazen akut dönemde radyasyon tiroiditi oluşur ve boyunda hassasiyet, geçici tirotoksikoz, disfaji ve kulak ağrısı gelişir. RAI tedavisi alan kadınların tedaviden sonra 6-12 ay süreyle gebe kalmamaları gerekmektedir. Geçici oligomenore ve amenore hastaların % 25'inde gözlenir. Testiküler fonksiyonlar ve spermatogenez geçici süreyle etkilenebilir fakat daha sonra normale döner. RAI tedavisi ile kemik, yumuşak doku sarkomları, kolorektal kanserler, tükrük bezi tümörleri ve lösemi gibi ikincil malignensiler arasında doza bağımlı fakat zayıf bir ilişki saptanmıştır.<sup>59</sup>

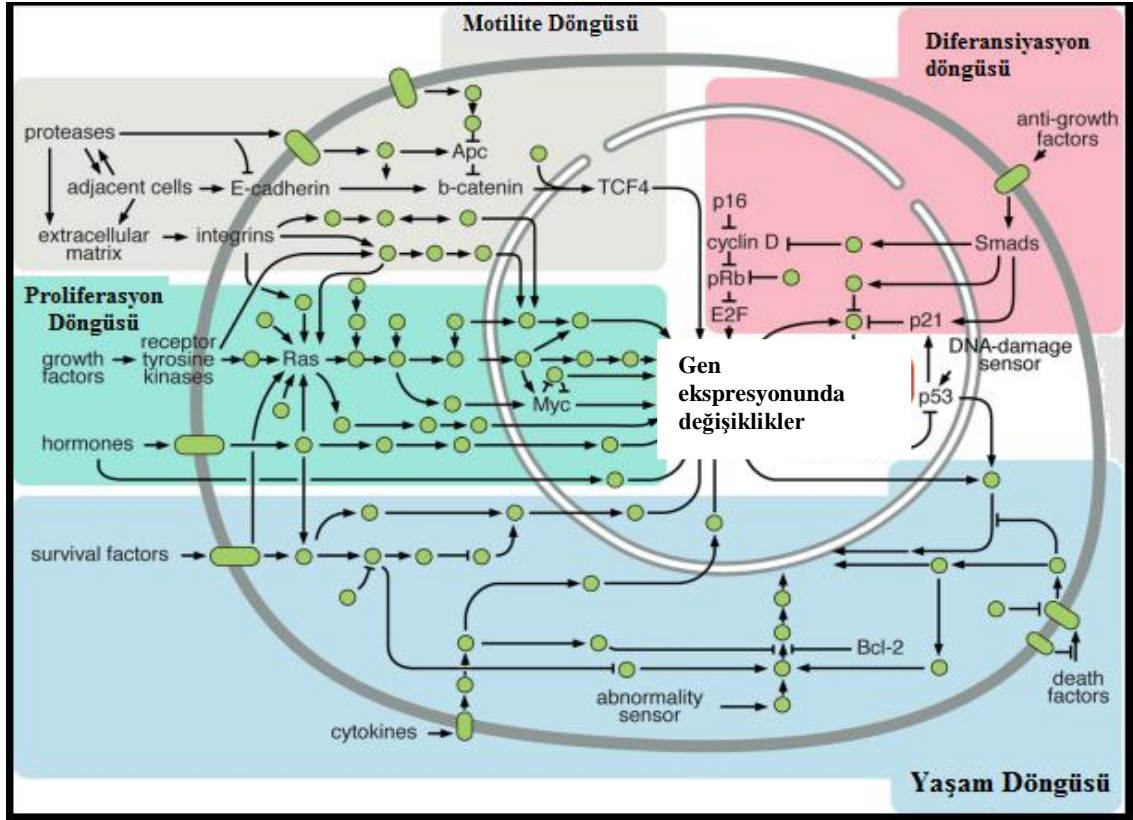
#### **2.4.7. Takip**

Tiroid karsinomunda tiroglobulin düzeyi takipte önemli bir parametredir. Başarılı bir tiroid operasyonu ve kalan dokunun radyoaktif iyot tedavisi ile ablasyonunun yapıldığı hastalarda tiroglobin çok düşük düzeylerde dir. Yüksek seyreden düzeyler fonksiyonel bakiye tiroid dokusu veya kanser lehinedir.<sup>2</sup>

#### **2.5. Kanser Belirleyicileri**

Kanser hücrelerinin yaşamlarını sürdürebilmeleri, proliferere olabilmeleri ve yayılabilmelerine izin veren kazanılmış fonksiyonel yetenekleri, farklı tümör tiplerinde farklı mekanizmalarla gerçekleşmektedir ve çok basamaklı tümör oluşum sürecinde çeşitli defalar tekrarlanabilmektedir.<sup>11</sup>

Son on yıldır yapılan çalışmalarda hücre siklusundaki yeniden düzenlemelerin kanser oluşumunda önemli roller oynadığı saptanmıştır (Şekil 6). Yapılan araştırmalar sonucu her geçen gün sayısı artan kanser patogene zindeki bu yolaklar yaygın şekilde birbirleri ile ilişki ve örtüşme göstermektedir. Hücrede kanser oluşturma yolaklarının birbirleri ile ilişkilerinin kompleks yapısı, günümüzde halen araştırmalara konu olmaktadır. Örneğin, belirli onkojenik olaylar karsinogeneziste çok sayıda yolağı harekete geçirebilir. Mutant RAS geni ve reseptör sayısı artan Myc geni, proliferatif sinyalizasyon, enerji metabolizması, anjiogenezis, invazyon ve yaşamı sürdürme gibi çok sayıda olayda rol alır.<sup>11</sup>



Şekil 6. Hücrede kanser oluşum yolları <sup>11</sup>

## 2.5.1. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde Onkogenler

### 2.5.1.1. Papiller Tiroid Kanserlerinde Onkogenler

PTK'ların patogeneğinde başlıca iki genetik değişiklik yer alır; kromozom yeniden düzenlenmeleri (RET/PTC ve TRK yeniden düzenlenmeleri) ve nokta mutasyonları (BRAF ve RAS mutasyonları).<sup>6</sup>

Kromozom 10q11 üzerinde yerleşmiş olan RET geni ile kromozom 1q21 üzerinde yerleşmiş olan NTRK1(nörotrofik tirozin kinaz reseptörü 1) geni, hücre büyümesi ve farklılaşması için hücre dışından gelen iletileri aktaran reseptör tirozin kinaz ailesinin üyeleridir ve düzenleyici etkilerinin birçoğunu MAP kinaz sinyal yolağını kullanarak gösterirler. Bu reseptörlerden hiçbiri normalde tiroid follikül hücresi üzerinde yer almaz. PTK'da kromozom 10'un paracentrik inversiyonu veya kromozom 10 ile 17 arasındaki resiprokal translokasyon RET geninin tirozin kinaz bölgesini bu iki kromozom üzerindeki yapısal olarak aktif genlerin transkripsiyonel denetimi altına sokar. Böylece şekillenen yeni füzyon genleri RET/PTC (ret/papiller tiroid karsinomu) olarak bilinir.<sup>6,9</sup>



RET/PTC yeniden düzenlenmeleri PTK'da % 20-30 oranında görülür, çocuklarda ve radyasyona maruz kalmaya bağlı olarak ortaya çıkan papiller kanserlerde anlamlı oranda yüksektir.<sup>8,60</sup> 11 tip RET/PTC geni mevcuttur. Tiroid kansinomlarında en sık RET/PTC 1 (% 60-70), ikinci sıklıkta RET/PTC 3 (% 20-30) görülür. RET/PTC 2 ve diğerleri tüm yeniden düzenlenmelerin % 5'inden azını oluşturur. PMK'da en sık RET/PTC 1, solid ve tall cell varyantta ise en sık RET/PTC 3 görülür.<sup>8</sup> Bu genetik değişikliklere sahip olan papiller kanserler olmayanlara göre daha agresif seyirlidir.<sup>8,61</sup>

Yapısal olarak tirozin kinaz bölgesini aktive eden NTRK 1 geninin translokasyonu PTK'da % 5-10 oranında görülür. PTK'ların % 40-45'i MAP kinaz yolağındaki aracı bir iletiyi kodlayan BRAF geninde aktive edici bir mutasyon taşır. RAS mutasyonları ise PTK'da % 10-20 oranında oluşur.<sup>6</sup>

RET veya NTRK 1 genlerindeki kromozomal yeniden düzenlenmeler ve BRAF mutasyonları tiroid epiteli üzerinde gereğinden fazla etkide bulunduğu ve her iki mekanizma da MAP kinaz sinyal yolağının aktivasyonu ile sonuçlandığından PTK bu molekül anormalliklerinden yalnızca birini taşır.<sup>6,9</sup>

### **2.5.1.2. Folliküler Tiroid Kanserlerinde Onkogenler**

Folliküler karsinomda olguların yaklaşık yarısında en yaygını NRAS olmak üzere RAS onkogen ailesinde (H-RAS, N-RAS, K-RAS) mutasyonlar vardır. RAS mutasyonu folliküler adenomda % 20-40 oranında, PTK'da da % 10-20 oranında görülür.<sup>6,8,62</sup>

FTK'da, PTK'dan farklı olarak PAX8 geni (paired box gene 8) ile PPAR-gamma-1 geni (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) arasında kromozomal bir translokasyon tanımlanmıştır. PAX8 tiroid transkripsiyon faktörüdür. PPAR-gamma-1 geni hücrelerin son aşamadaki farklılaşmalarında etkili bir çekirdek hormon reseptörü olan peroksizom çoğaltıcı-aktive olmuş reseptör gamma-1'i kodlayan genidir. (t(2;3)[q13;p25]) translokasyonu PAX8 geninin DNA bağlayıcı segmentinin bir kısmının PPAR-gamma-1 geni ile füzyonuna sebep olur. Füzyon geninin ürünü PPAR-gamma-1 gen aktivitesini bloke ederek, hücre büyümesini stimüle eder, apoptozisi inhibe eder.<sup>7,8,63</sup>

PAX8- PPAR-gamma-1 yeniden düzenlenmesi FTK'larında % 30-40 oranında bulunur. PTK folliküler varyant ve folliküler adenomlarda da çok az oranda

rastlanmıştır. PAX8- PPAR-gamma-1 yeniden düzenlenmesi pozitif FTK'ların daha genç yaşta görüldüğünü, tümör çapının daha küçük olduğunu ve daha erken vasküler invazyon gösterdiğini bildiren çalışmalar vardır.<sup>8,62</sup>

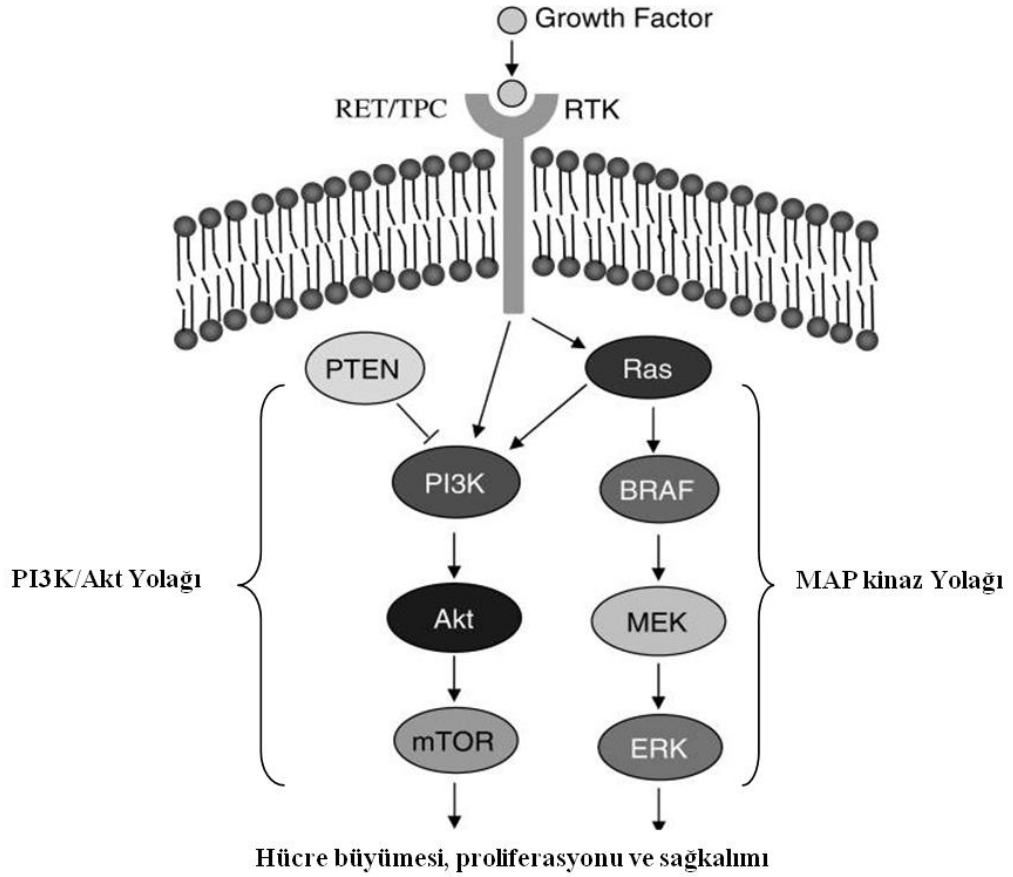
FTK'un birbirinden farklı ve hiçbir şekilde örtüşmeyen en az iki moleküler yolak boyunca ortaya çıktığı görülmektedir. Tümörler ya bir RAS mutasyonunu ya da PAX8- PPAR-gamma-1 füzyonunu taşır; nadiren aynı orguda her iki genetik bozukluk birden görülür.<sup>6,62</sup>

### **2.5.2. Tiroid Kanserinde RAS'ın Tümörögeneziste Yeri**

İnsan Genom Projesi'nin verilerine göre, insan genomundaki yaklaşık 32.000 genin % 20'si sinyal iletiminde görev alan proteinleri kodlamaktadır.<sup>64,65</sup>

Protein kinazlar sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu/aktivasyonunu sağlar. Protein kinazlar membran yerleşimli ve sitoplazmik tirozin kinazlar olarak iki gruba ayrılır. Membran yerleşimli olan proteinlere reseptör tirozin kinazlar (RTK) denilmektedir. RTK süperailesinde 58 transmembran protein bulunmaktadır. Bu reseptörler arasında insülin reseptörü, büyüme faktörleri (VEGF, FGF, EGF, PDGF) yer almaktadır. Bu reseptörler büyüme faktörleri ile bağlandıktan sonra aktif hale geçerler ve sitoplazmadaki hedef proteinler ile etkileşerek sinyal iletimini gerçekleştirirler.<sup>65,66</sup>

Tiroid kanserinde; PI3K/Akt ve MAP kinaz yolları tümörögeneziste önemli yollarıdır. Hücre proliferasyonu esnasında PI3K yolağı, MAPK yolağının tamamlayıcısı olarak gereklidir. Şekil 7'de bu iki yolağın temel elementleri gösterilmiştir.



Şekil 7. Tiroid kanserinde PI3K/Akt ve MAP kinaz yolakları<sup>67</sup>

Reseptör tirozin kinazlar büyüme faktörleri ile aktive olduktan sonra RET/PTC ve RAS her iki yolakta da rol alır. PI3K/Akt yolağı hücre büyümesinin regülasyonu, proliferasyon, sağkalım ve insan tümörögenезisinde temel rol alır.<sup>68,69</sup>

Fosfotidil inozitol 3 kinaz ailesi büyüme ve yaşama sinyallerinin iletiminden sorumlu proteinlerdir. Reseptörün uyarılmasından sonra PI3K, hücre membranında inozitol fosfolipidlerin fosforilasyonunu katalizler. Fosfotidil inozitol trifosfat (PIP3), bu yolla oluşan bir lipid mediatördür. PIP3, PIP3 bağımlı kinazlar (PDK) ve protein kinaz B (PKB)'nin aktivasyonundan sorumludur. PKB, Akt geni tarafından kodlanan bir proteindir.<sup>65</sup> Akt, hücre proliferasyonuna ve apoptozun inhibisyonuna katılır.<sup>6</sup> PKB/Akt uyarısı hücre içinde çeşitli proteinlerin aktivitelerini etkilemektedir. Bunlardan biri, “mammalian target of rapamycin (mTOR)” proteindir. mTOR hücre büyümesi ve translyasyonda etkilidir.

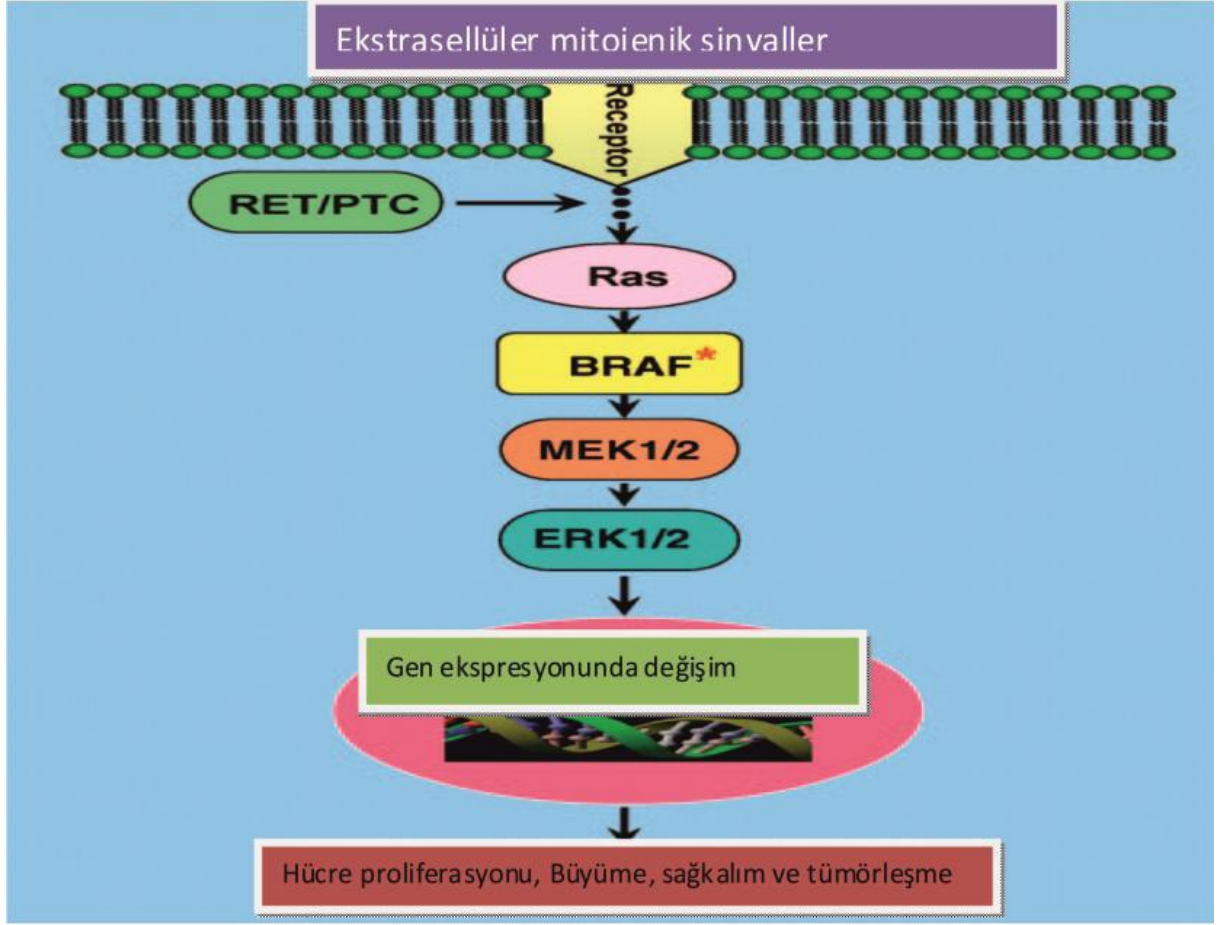
Fosfataz ve tensin homoloğu PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) ise negatif düzenleyici olarak PI3K/Akt yolağında rol almaktadır. PTEN tümör süpresör genidir. PTEN kaybı hücre büyümesi, proliferasyonu ve sağkalımına neden olur.<sup>67</sup>

RTK'lar tarafından RAS aktivasyonu da PI3K/Akt yolağında dolaylı bir aktivasyona yol açabilir. Normal koşullarda VEGF, EGF, PDGF gibi büyüme faktörlerinin PI3K/Akt yolağını uyarmalarında RAS'ın etkinliği minimal düzeydedir. Buna karşılık onkojenik RAS, PI3K yolağının güçlü bir aktivatörüdür. Onkojenik RAS bu yolu aktive ederek apoptozisi baskılar ve karsinogenez sürecinde kritik etkenlerden birini oluşturur.<sup>65</sup>

#### **- MAPK Sinyal Yolağı**

RET/PTC→RAS→RAF→MEK (mitogen extracellular kinase) → MAPK/ERK (MAPK) yolağı hücrede proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve sağkalımda ve aberran olarak aktive olduğunda tümör gelişiminde temel rol oynayan bir intrasellüler sinyal yolağıdır. Bu yolağın fizyolojik aktivasyonu hücre membranındaki reseptörleri sayesinde bir çok büyüme faktörü, hormon ve sitokinlerce tetiklenir. RAS, Tirozin kinaz membran reseptörlerinden kaynaklanan sinyalleri MAPK yolağına nakleder. RAS ve RAF protoonkogendir. Normal hücrelerde RAF kinaz aktivasyonu, membrana bağlı küçük bir G proteini olan GTP (Guanozin trifosfat)bağlı RAS ile direkt etkileşimle olur. Bir serin/threonin protein kinaz olan aktive Raf, hemen altındaki kendisi de bir serin /threonin protein kinaz olan MEK (Mitogen extracellular signal regulating kinase)'i fosforiller ve aktifler, o da ERK (Extracellular signal regulated kinase)'i fosforiller ve aktifler. Aktive ERK çekirdekdeki düzenleyici proteinleri fosforilleyerek gen ekspresyonunu değiştirir ve sonucunda hücrenin biyolojik aktivitelerinde değişme olur (Şekil 8).<sup>65,67</sup>

İnsan tümörlerinin % 30'unda RAS/RAF/MEK/ ERK yolunun aşırı aktivasyonu söz konusudur. Bu oran tümörlerdeki RAS mutasyonu sıklığı ile uyumludur. Mutant RAS proteinleri, aktif RAS-GTP formunda kalırlar; bu nedenle, hücrenin kontrolsüz uyarılmasından sorumlu tutulmaktadırlar.<sup>65</sup>



Şekil 8. MAPK sinyal yolağının şematik görünümü

### 2.5.2.1. RAS Mutasyonları

RAS insan tümörlerinde en sık mutasyona uğramış, guanozin nükleotidlerini bağlayan küçük G protein ailesinin bir üyesi olan protoonkogendir. Bu genlerin sentezlediği 21kDa protein ailesi tümörögenizde önemli rol oynar. Normal RAS proteini uyarılmış sinyal ileten durum ve sessiz durum arasında ileri-geri gider gelir. RAS proteini GDP (guanozin difosfat)'ye bağlandığı zaman inaktiftir; hücrelerin büyüme faktörü ile uyarılması sonucu GDP, GTP'ye dönüşür ve aktif RAS oluşur.<sup>6</sup> Aktif RAS, tirozin kinaz membran reseptörlerinden kaynaklanan sinyalleri MAPK yolağına nakleder. Hücre proliferasyonu, sağkalım ve apoptozisten sorumlu hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder.

Normal RAS proteininin aşırı sinyal salan dönemi kısa sürelidir. Çünkü intrinsik guanozin trifosfataz (GTPaz) aktivitesi GTP'yi GDP'ye hidrolize eder, fosfat grubu

salar ve protein inaktif evreye döner.<sup>10</sup> GTPaz aktivitesi GTPaz aktive edici proteinler (GAP'lar) tarafından hızlandırılır. GAP'lar GTP'nin GDP'ye hızla hidrolizine ve sinyal iletiminin sonlanmasına neden olarak, kontrolsüz RAS aktivitesini engelleyen frenler olarak fonksiyon görürler.<sup>6,34</sup>

. RAS geni sıklıkla nokta mutasyonu ile aktive olur. Onkogenik RAS aktivasyonu exon 1'de GTP bağlayıcı domain (kodon 12 veya 13) veya exon 2'de GTPaz (kodon 61) domainini etkileyen nokta mutasyonlara sebep olur.<sup>8,34</sup> Mutasyonlar RAS genini etkilediğinde GAP'ların fren yaptırıcı etkisine yanıt yavaşlar. Mutant proteinler GTP'ye bağlı uyarılmış formda tutulurlar. Bu da proteinleri aktive halde fikse ederek hedeflerde kronik stimülasyona, genomik instabiliteye, ek mutasyonlara ve malign transformasyona sebep olur.<sup>6</sup>

Pankreatik adenokarsinomlarda, kolanjiokarsinomlarda, kolon, endometrium, tiroid kanserlerinde, akciğer adenokarsinomları ve myeloid lösemilerde RAS nokta mutasyonu tanımlanmıştır.<sup>8,70-72</sup>

#### **2.5.2.2. KRAS**

KRAS bir protoonkogendir. Hücre membranıyla ilişkili bir G proteinidir ve 12. kromozomun kısa kolundaki KRAS geni tarafından kodlanır. "V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog" orijinal ismi ile bilinir. Tıbbi biyolojinin tarihsel gelişimi içerisinde 1960'lı yıllarda Werner Kirsten ve Jennifer Harvey tarafından ratlarda sarkoma yol açan virüsler tespit edilmiş ve Rat Sarcoma virüs olarak adlandırılmıştır. Zamanla Rat sarcoma virüs gen sekanslarının insanda da homologlarının fark edilmesiyle bu genler Kirsten-RAS (KRAS) ve Harvey-RAS (HRAS) olarak anılmaya başlanmıştır. Ardından insan nöroblastoma hücrelerinden üçüncü RAS geni tespit edilmiş ve Nöroblastoma RAS (NRAS) olarak isimlendirilmiştir. Moleküler biyolojideki gelişmeler ışığında otuzun üzerinde değişik RAS geni tespit edilmiş olmakla beraber en önemli üyeler KRAS, HRAS ve NRAS olarak yerini korumaktadır.<sup>73</sup>

Hücre içerisinde birçok metabolik yollarda görevli olan RAS proteini, esas olarak proliferasyon, diferansiyasyon, adezyon, migrasyon ve apoptoziste aktif rol oynayan MAPK yolağının ekstrasellüler sinyallerinin nükleusa iletiminde rol oynar.

Yapılan çalışmalarda tümöre neden olan RAS geni nokta mutasyonları ensık KRAS geninde 12-13. kodonda, NRAS ve HRAS genlerinde 61. kodonda bulunmuştur.<sup>8</sup>

KRAS geninin germline mutasyonları Noonan sendromu ve Kardiyo-Fasio-Kutanöz sendrom ile ilişkili bulunmuşken, somatik mutasyonlarının başlıca kolon, akciğer, pankreas kanseri ve lösemilerle yakın ilişkisi tespit edilmiştir.<sup>74-76</sup>

RAS mutasyonları tiroid folliküler karsinomlarda % 40-50 oranında, folliküler adenomlarda % 20-40 oranında, PTK'larda (özellikle folliküler varyantta) % 10-20 oranında saptanmıştır.<sup>8</sup>

### 2.5.3. BRAF

Serin protein kinaz ailesinden RAF'a ait proteini kodlar. Bu protein, hücre bölünmesi, diferansiyasyonunda önemli olan MAPK sinyal yolağının düzenlenmesinde önemli role sahiptir.<sup>8</sup> Tüm RAF kinazların içinde MAP kinaz yolağının en güçlü aktivatörü BRAF'tır.

BRAF geninde en sık görülen mutasyon T1799A nokta mutasyonudur. T1799A mutasyonu BRAF proteininde V600E aminoasit değişikliğine ve mutant BRAF kinaz'ın onkojenik aktivasyonuna yol açar. Kinaz domainindeki BRAF aktive edici yanlış anlamlı nokta mutasyonları 11. ve 15. ekzonlarında yer alır. T1799A transversiyon mutasyonu BRAF mutasyonlarının % 80'den fazlasından sorumludur.<sup>77</sup> 1799 pozisyonunda Timin→Adenozin transversiyonu sonucunda 600 pozisyonunda valin yerine glutamat geçer. Bu mutasyonun tiroid kanserinde sıklıkla görüldüğü saptanmıştır. V600E mutasyonu BRAF'ı sürekli aktif hale getirir.<sup>8</sup> V600E mutasyonunun aktive edici fosforilasyon bölgesine bitişik negatif yüklü bir kalıntı ekleyerek BRAF'ın aktivasyon segmentinde fosforilasyonu taklit ettiği düşünülmektedir. Bu mutasyonun normalde BRAF'ı inaktif konformasyonda tutan aktivasyon segmentinin ATP- bağlayıcı P loopuyla olan etkileşimini bozarak BRAF'ı katalitik olarak aktif forma dönüştürdüğü sanılmaktadır.<sup>78</sup>

BRAF V600E mutasyonunun onkojenik ve transforme edici etkisi gösterilmiştir.<sup>77</sup> İlk keşfinden bu yana BRAF mutasyonlarının çeşitli insan kanserlerinde değişik sıklıklarda bulunduğu bildirilmiştir. BRAF mutasyonu malign melanomlarda % 40-60 oranında, hairy cell lösemilerde % 100 oranında, pleomorfik ksantoatsrositom'larda yaklaşık % 66 oranında, safra yolları karsinomlarında % 20

oranında, kolorektal karsinomlarda % 10 oranında, akciğer adenokarsinomlarında % 4,6 oranında, bazı over tümörlerinde % 13 oranında saptanmıştır.<sup>79-83</sup>

RAF izoformu olan BRAF papiller tiroid kanserinin patogenezinde de rol almaktadır. Papiller tiroid karsinomunda % 40-45 oranında BRAF mutasyonu olabilir. Folliküler karsinom ve nodül oluşumunda rolü gösterilmemiştir.<sup>8,9</sup>

BRAF V600E mutasyonu, invaziv tümör büyümesi ve folliküler varyant ile ilişkilidir. BRAF mutasyonu olan hastaların olmayanlara göre daha kötü prognoza sahip olduğu ve rekürrens riskinin daha yüksek olduğu farklı çalışmalarda bildirilmiştir.<sup>10</sup>

BRAF mutasyonları olan hastalarda ekstratiroidal invazyon ve lenf nodu metastazının daha sık ve başlangıç cerrahi esnasında daha ileri evreye sahip oldukları iddia edilmektedir. Prognozu belirlemede konvansiyonel histolojik değerlendirme de etkili olsa da bazı lenf nodu metastazları sadece BRAF mutasyonu olanlarda gözlenmektedir.<sup>84,85</sup> BRAF V600E ekspresyonunun tiroid bezinde sodyum-iyot simporter ekspresyonunu ve membrana hedeflenmesini bozarak tedavi amacıyla kullanılacak olan I<sup>131</sup> tutulumunda azalmaya neden olduğu ve bu nedenle papiller tiroid kanserlerinin yüksek tekrarlama riski ile uyumlu bir tanı faktörü olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.<sup>86</sup>

Tiroid hücre kültürlerine selektif BRAF inhibitörlerinin eklenmesi, BRAF mutasyonuna sahip hücre kültürlerinin inhibisyonuna sebep olmaktadır. Buda ilerde papiller karsinom tedavisinde rol alabileceğini göstermektedir.<sup>87,88</sup>

Bazı çalışmalarda PTK'da % 1-2 oranında BRAF K601E (601. pozisyonda lizin yerine glutamik asit geçer) mutasyonu bildirilmiştir.<sup>8,89</sup>

#### **2.5.4. VEGF (Vasküler Endotelial Growth Faktör) Yapısı ve Karsinogenezdeki yeri**

Senger ve ark, 1983 yılında deride damar geçirgenliğini arttıran tümör vasküler permeabilite faktörünü tanımlamışlardır.<sup>90</sup> Ferrara ve Henzel, 1989'da endotel hücre mitojeni olarak tanımladıkları faktörü VEGF olarak isimlendirmişlerdir.<sup>91</sup>

VEGF, 6. kromozomun kısa kolunda (6p12) lokalize, molekül ağırlığı 45 kDA olan bir sitokindir. VEGF ailesi endotelial hücrelerin büyümesini ve tümör ilişkili yeni damar oluşumunu sağlayan büyüme faktörleridir. Bu grup içinde VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve plasental büyüme faktörü (PIGF) bulunmaktadır. VEGF 121,



145, 165, 189 ve 206 aminoasitli 5 farklı izoform halinde bulunmaktadır. Temel olarak anjiogenez, lenfanjiogenez ve damar geçirgenliğini düzenleyen bu faktörlerin VEGF reseptörlerine bağlanma özellikleri farklıdır.<sup>92</sup> VEGF reseptörleri ilk olarak endotel hücrelerinde saptanmıştır.<sup>93</sup> VEGF, hücre dışına salgılanarak 3 tirozin kinaz, 2 nörofilin reseptörüne bağlanır.<sup>93,94</sup>

VEGF reseptör 1'in (VEGFR1) rolü daha az anlaşılmıştır ama endotelial kök hücrelerin mobilizasyonuna yardımcı olabilir. İnflamasyonda da rolü vardır.<sup>6</sup> Endotel hücreleri dışında monositler, osteoblastlar, makrofajlar, perisitler, hemopoetik kök hücreleri, damar düz kas hücrelerinde bulunur.<sup>93</sup>

VEGFR2, VEGF-A'nın mitojenik, anjiyojenik ve vasküler geçirgenlik artışı etkilerinden sorumludur. Endotel hücre büyümesi, farklılaşması, göçü ve tübül oluşumunu düzenler.<sup>6</sup> Endotel hücrelerine ek olarak hemopoetik kök hücrelerde, megakaryositlerde, retina öncü hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde ve bazı tümör hücrelerinde (küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri, nöroblastoma, meme ve mide kanserleri) bulunur.<sup>93</sup>

VEGFR3; Lenfatik damarların oluşumunu uyarmak için lenfatik endotel hücrelerini etkiler.(lenfanjiogenez)<sup>6</sup>

Nörofilin-1; VEGF'nin VEGFR2'ye ilgisini ve bu faktöre bağlı kemotaksisi artırır. Endotel, nöron ve tümör hücrelerinde bulunur.<sup>93</sup>

Nörofilin-2 ; Nörofilin-1'den farklı olarak plasental büyüme faktörünü de bağlar.<sup>93</sup>

VEGF-A; Anjiogenezisle en güçlü ilişkisi olan ve üzerinde en çok çalışma yapılan faktördür, anti-VEGF tedavilerin çoğu bu faktör üzerinde yoğunlaşmaktadır. Genellikle VEGF diye kısaca ifade edilen faktör aslında VEGF-A'dır. VEGFR1 ve VEGFR2 yoluyla etki eder ve hipoksi ile aktive olduğu gösterilen tek VEGF üyesidir.<sup>92</sup>

VEGF-B, VEGFR1'e bağlanarak etki eder, hücre dışı matriks degradasyonu, hücre adezyonu ve göçünde rol oynar. Kalp, iskelet kası ve pankreasta fazla miktarda bulunur, endotel hücre fonksiyonunu düzenler.<sup>93</sup>

VEGF-C ve VEGF-D; VEGFR3'e bağlanarak lenfanjiogenezi düzenler.

Plasental büyüme faktörü, VEGFR1'e bağlanır, anjiogenez, yara iyileşmesi ve inflamatuvar yanıtta rol alır.<sup>93,95</sup>

### - VEGF Fonksiyonları

-Vaskülojenez, anjiogenez, lenfanjiogenezi düzenler. Vasküler geçirgenliği artırır.<sup>6</sup>

- Endotel hücre migrasyonunu uyarır.<sup>6</sup> Endotel hücrelerinin büyüme ve farklılaşması için gereklidir. Ayrıca monositler için kemotaktiktir.<sup>93</sup>

-Endotel plazminojen aktivatörü, plazminojen aktivatör inhibitörü-1, doku faktörü ve interstisyel kollojenaz ekspresyonlarını artırır.<sup>6</sup>

-VEGF'nin yapılan bazı çalışmalarda; endotel hücrelerden ICAM-1, VCAM-1 ve P selektin gibi önemli bazı adezyon moleküllerinin yapımını arttırdığı görülmüştür.<sup>96</sup>

- Nöron koruyucu etkileri vardır. VEGF'ün inaktive edildiği farelerde, nörodejeneratif hastalık gelişmesi, hipoksi ile indüklenen VEGF'ün nöron koruyucu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.<sup>97</sup>

- Pro-inflamatuar etkilidir. VEGF lökositlere bağlanabilir. VEGF reseptörleri, inflammatuar hücrelerde ve trombositlerde gösterilmiştir.<sup>98</sup>

Anti-apoptotik proteinlerin sentezinin artması veya anti-apoptotik sinyal yollarının aktivasyonu, yeni damar oluşumunda yaşamsal rol oynar. VEGF; vasküler endotel hücreleri için potent bir mitojendir. Ancak diğer hücre tipleri için mitojenik aktivitesi yoktur. Megakaryositler, VEGF'nin önemli kaynağıdır ve trombositlerin  $\alpha$  granüllerinde depo edilirler. Bunun yanında VEGF, vücutta değişik hücrelerden (endotel hücreleri, lökositler, megakaryositler, over follikülleri, korpus luteum, akciğer alveoler hücreleri, renal glomerül visseral epitel hücreleri, kardiyak myositler, renal proksimal tübül hücreleri, adrenal korteks hücreleri, leydig hücreleri, aktive makrofajlar, arteriyoller çevreleyen fibroblastlar, bronş epitel hücreleri ve koroid pleksus epitel hücreleri, hepatositler) ve tümör hücrelerinden (karaciğer, mesane, böbrek, over, mide, kolon, beyin ve meme tümörleri) salgılanan hemodinamik bir glikoproteindir.<sup>99,100</sup>

Yararlı etkilerinin yanında, VEGF yapımının artması bazı hastalıkların ilerlemesine de sebep olur. Bunun en önemli örneği, tümör büyümesi ve yayılmasıdır. Büyüme eğiliminde olan solid tümörlerin anjiogeneze bağımlı oldukları ve bu yüzden VEGF salgıladıkları bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, hem tümör hücrelerinde VEGF'ye ait mRNA'ların arttığı, hem de tümöre komşu endotel hücrelerinde VEGF

reseptörlerine ait mRNA'larının arttığı gösterilerek; tümör anjiogenezi, tümör büyümesi ve lenfovasküler yolla yayılmasında VEGF'nin önemli rolü olduğu belirlenmiştir.<sup>101</sup>

#### **2.5.4.1. VEGF-C**

VEGF-benzeri protein olarak da bilinir. VEGF-A ile % 16'sı benzeyen 388 amino asitten oluşmuştur. Lenfatik damarların oluşmasında görev alır. VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotel hücrelerinde mitojenik etki yapar.<sup>102</sup> VEGF-C geni 7 ekson içerir.

Lenfanjiogenez; doku hasarının ve lenfatik damar obstrüksiyonunun ardından oluşan lenfatik damar büyümesidir. Fizyolojik veya patolojik olarak oluşur (yara iyileşmesi, inflamasyon, tümör lenfanjiogenezi ve tümör metastazi).<sup>103,107</sup>

VEGFR-3 lenfanjiogenezde kilit rol oynar. VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'ün fosforilasyonunu sağlayarak lenfatik damarların büyüme ve farklılaşmasını düzenler. VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'e göre VEGFR-2'yi daha az aktive etmesine rağmen anjiogeneze de katkıda bulunur.<sup>6</sup>

VEGF-C, küçük bir öncül molekül olarak üretilir. Daha sonra proteolitik enzimler tarafından N ve C terminal uçları uzaklaştırılarak işleme uğrar.<sup>101</sup> VEGF-C'nin tümörü çevreleyen stromal hücrelerden ve tümör ilişkili makrofajlardan büyük miktarlarda ekspresyonu bildirilmiştir.<sup>104</sup> Son yıllarda yapılan immünohistokimyasal ve insitu hibridizasyon çalışmalarında VEGF-C ve VEGFR-3'ün gastrik adenokarsinom, kolorektal karsinomlar, serviks skuamöz hücreli karsinomları ve papiller tiroid karsinomlarında tümörün lenfatik yayılımı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.<sup>13,14,101,105-109</sup>

#### **2.5.5. Hücre Adezyon Molekülleri**

Adezyon molekülleri, hücre yüzeyinde yapısal olarak var olan yada bazı uyaranlarla (çeşitli kimyasal mediyatörler vs.) hücre yüzeyinde beliren ve hücrelerin birbirine ve ekstraselüler matrikse bağlanmasını sağlayan moleküllerdir. Bu etkileşim sayesinde, hücrelerin birbirleriyle ve çevreleriyle olan ilişkileri sağlanır. Hücrelerin özgün olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve patolojik hallerde; inflamasyon, kanser metastazi, tümör invazyonu gibi olguların düzenlenmesinde de görev alırlar.<sup>16,110</sup>

Endotel ve lökosit arasındaki ilişkide rol oynayan adezyon molekülleri dört sınıfta incelenmektedirler. İntegrinler, Selektinler, İmmünglobulin Süper Ailesine dahil adezyon molekülleri ve Kaderinler. Ayrıca fonksiyonel olarak adezyon görevi gören ama bu gruplar içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri de vardır.<sup>6</sup>

- **Selektinler:** Molekülün N terminalinde lektin benzeri bir yapı olduğu için bu gruba selektinler denilmektedir. Endotel hücresi ve lökositlerin yüzeyinde bulunurlar. Lökositlerin endotel hücrelerine adezyonunu ilk başlatan moleküller selektinlerdir. İnflamasyon bölgesinde lökositlerin damar endoteline yapışma ve geçiş öncesinde yavaşlayıp, yuvarlanma hareketi yapmalarında görevli moleküllerdir. Selektinler buldukları dokulara göre isim alan üç alt grupta incelenir; endotelde bulunan E-Selektin, lökositlerde bulunan L-Selektin, endotel ve trombositlerde bulunan P-Selektin'dir.<sup>6</sup>

- **İntegrinler:** İntegrinler transmembran heterodimerik glikoproteinlerdir. Hücre-hücre, hücre-matriks bağlantılarını sağlar. Non-kovalent olarak bağlı alfa ve beta polipeptid zincirlerinden oluşur. İntegrinler; selektin/ligand ilişkisi sonrası lökositlerin yavaşlayıp endotel hücresi üzerinde yuvarlanmasını takiben lökositlerle endotel hücre yüzeyi arasındaki kuvvetli yapışmada rol oynayan önemli adezyon molekülleridir.<sup>6</sup>

- **Kaderinler:** Kaderinler, yan yana hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı sağlayan yapı ve fonksiyonları açısından kalsiyuma bağımlı olan transmembran proteinlerdir.<sup>10</sup> Embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumludurlar. Bu ailenin aynı hücre tipleri arasındaki etkileşimlerde görev alan yaklaşık 90 üyesi vardır ve üzerinde buldukları dokulara göre isimlendirilirler.<sup>6</sup>

E-kaderinler: Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-kaderinler: Plasentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

V-kaderinler: Endotel hücrelerinde eksprese olurlar.

N-kaderinler: Nöronal dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

H-kaderinler: Kalp kasında eksprese olurlar.<sup>111</sup>

- **Sınıflandırılmayan Adezyon Molekülleri:** Adezyon fonksiyonuna katılan, ancak bu dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleridir. Bunlar; CD44 (Hermes), CD36, Laminin, Fibronektin, OX40 olarak sıralanabilir.<sup>112</sup>

- **İmmünglobulin (Ig) Süper Ailesi:** Yapısal olarak Ig lere benzediği için bu adı almıştır. Yapısal olarak bir transmembran kısım ve sitoplazmik kuyruktan meydana gelirler. Diğer üç grup adezyon moleküllerinin aksine bu grup kalsiyumdan bağımsızdır. Bu aile molekül çeşitliliği bakımından oldukça zengindir. Ailenin her üyesi, değişik miktarlarda Ig benzeri domain içerirler. Antijen tanıma ve hücre adezyonunda önemli rolleri vardır. İmmünglobulin süper ailesinin üyeleri işlev gördükleri yere ve eksprese oldukları hücrelere göre isimlendirilirler.

**ICAM-2 (CD102) :** Endotel hücrelerinde, monositlerde ve lenfositlerde eksprese olur.<sup>110</sup>

**ICAM-3 (CD50) :** Endotel hücrelerinde bulunmaz. Yalnızca lökositlerde bulunur ve T-lenfositlerin adezyonunda rol alır.<sup>110</sup>

**ICAM-4 :** Eritrositlerde bulunur.

**ICAM-5:** Beyne özgüdür.

**VCAM-1 (Vasküler hücre adezyon molekülü-1):** Ig süper ailesinin bir diğer üyesidir ve endotel hücresi, kemik iliği, stromal hücreler, embriyonik doku ve sinovyal dokuda eksprese olur. Uyarılmamış endotelde yapısal olarak bulunmaz. IL-1, IL-4 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin uyarısıyla 2-4 saat sonra hücre yüzeyinde belirir. VCAM molekülleri, damar endotel duvarında lökositlerin göçü ve adezyonunu sağlarlar. ICAM-1 ve VCAM-1'in her ikisi de immün yanıt ve iltihap durumlarında hayati rol oynarlar.

**NCAM (Nöronal hücre adezyon molekülü):** Nöral hücrelerde ve myoblastta eksprese olur. Embiyogenezde normal doku mimarisinin gelişimi ve hücre büyümesi sırasında izlenen kontak inhibisyona katılırlar.

**PECAM-1 (Trombosit- Endotel Hücre Adezyon molekülü):** Lökosit, monosit, trombosit, nötrofil ve endotel hücresi üzerinde eksprese olur. İnflamasyon, integrin aktivasyonu, hücre – hücre adezyonuna aracılık ederler.

**MadCAM-1 (Mukozal Adressin Hücre Adezyon molekülü):** Mukozal endotelin üzerinde eksprese edilir. Normal mukozal dokuya lenfositlerin selektif olarak yerleşmesini sağlar.<sup>110</sup>

**LFA-2 (Lökosit Fonksiyon Antijen-2):** T-hücresi ve Naturel killer(NK) hücresi üzerinde eksprese olurlar. LFA-3'e bağlanarak T hücresinin hedef hücreye adezyonu, T-hücre aktivasyonuna katılırlar.<sup>113</sup>

**LFA-3 (Lökosit Fonksiyon Antijen-3):** Lökosit, eritrosit, endotel ve epitelyal hücreler, fibroblast üzerinde eksprese olurlar. CD2'ye bağlanarak, T-hücresinin hedef hücre ve antijen sunan hücreler ile ilişkisine, eritrositler ile adezyonuna aracılık ederler.<sup>113</sup>

#### **2.5.5.1. ICAM-1 (CD54 intrasellüler adezyon molekülü-1)**

Hücre membranında bulunan bir transmembran glikoproteindir. Endotel hücresi, lenfositler, monositler, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve makrofajlarda eksprese edilen Ig süper ailesinin bir üyesidir.<sup>17,114-116</sup>

Beş Ig benzeri domain içerir. Bu domainlerden ilk ikisi LFA-1 (lenfosit fonksiyonları ile ilişkili antijen-1) için bağlanma bölgesidir. Üçüncü domain ise; MAK-1 (makrofaj antijen-1)'in bağlanma bölgesini oluşturur. Endotel hücrelerinde, ICAM-1 yapısal olarak az miktarlarda eksprese edilmektedir. IL-1 (İnterlökin-1), TNF- $\alpha$  (Tümör Nekroz Faktör), IFN- $\gamma$  (İnterferon), LPS(Lipopolisakkarit) gibi mediyatörlerle endotel hücrelerinin uyarılması sonucu ICAM-1 ekspresyonu artmaktadır.<sup>17,115-117</sup>

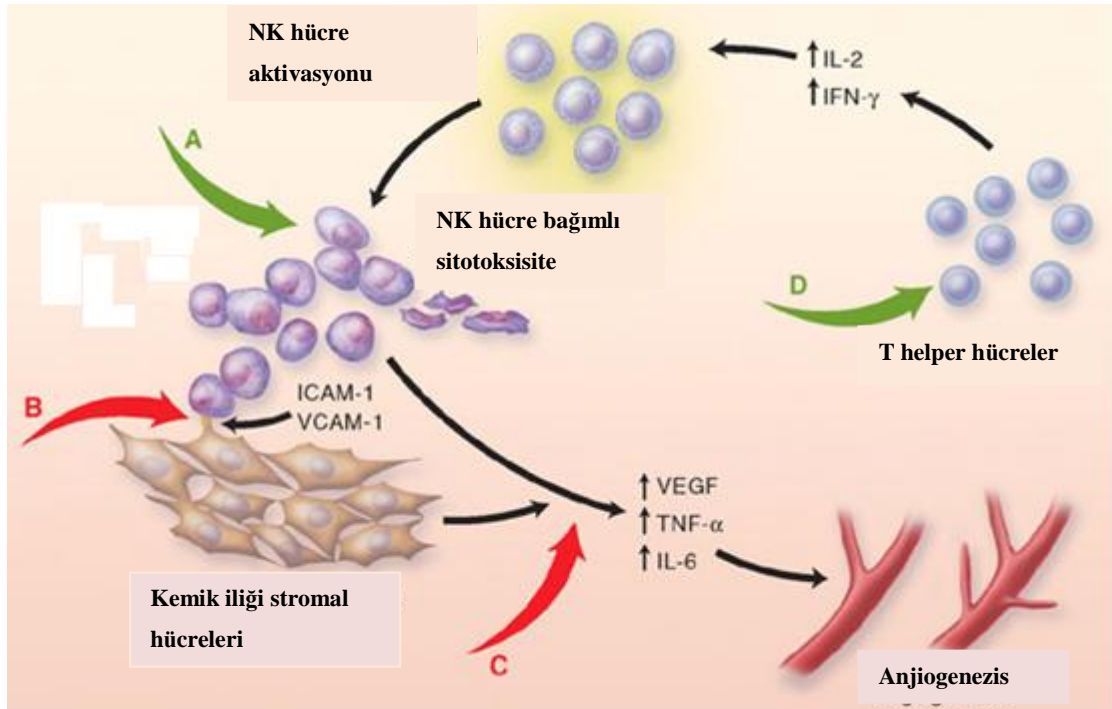
İnflamatuar yanıt sırasında, sitokinler, LFA-1 ve MAK-1, ICAM-1 ekspresyonuna neden olur. Bu şekilde immün hücrelerin hasarlı dokuya migrasyonu sağlanır.<sup>17,116</sup> Bu artış akut ve kronik inflamasyon alanlarında ve tümoral hücrelerde daha çok belirgindir.<sup>110</sup> Uyarı sonucu, ICAM-1'in hücre yüzeyinde belirmesi, 2-4 saatte başlar ve 12-16 saat süreyle plato çizer. Ortamda sitokin varlığında ise, 24-72 saat kadar devam eder. ICAM-1 molekülleri eozinofiller, T lenfositler ve nötrofillerin göçünde önemlidir. ICAM-1'in fonksiyonu; antijen sunan hücreler ve T hücreleri arasındaki ilişkilerde önemli bir sinyal mekanizmasını oluşturmaktadır. Bu nedenle ICAM-1'in karışık ligandı LFA-1 ile ilişkisi çok sayıda inflamatuvar hastalıklarda önemlidir.<sup>118</sup>

Endotel hücreleri tarafından sentezlenen nitrik oksit, sitokinlerin artırdığı ICAM-1 düzeyinde azalmaya neden olur. İskemi ve reperfüzyondan sonra endotel hücrelerinde disfonksiyondan kaynaklanan nitrik oksit sentezinde azalma, ICAM-1 ekspresyonunun yükselmesi etkisiyle aterosklerozda artma olduğu görülmüştür.<sup>117</sup>

ICAM-1 bir çok kanser hücre tiplerinin yüzeyinde eksprese edilir (kolorektal meme, akciğer, böbrek, prostat ve tiroid kanserleri gibi).<sup>114,119-123</sup> Bazı meme ve kanser tiplerinde hasta plazmasında ICAM-1'in çözünebilir formunun arttığı bulunmuştur.<sup>17,119</sup>

ICAM-1'in pek çok tümör tipinde ekspresyonunun saptanması yanı sıra bu molekülün, metastatik kanser hücrelerinin yayılımını kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Pek çok çalışma; ICAM-1'in metastatik ikincil bölgede inflamatuvar hücreleri toplayarak, bu inflamatuvar hücrelerden; proliferasyonu, anjiogenezisi ve tümör invazyonunu stimüle eden büyüme ve damarlanma faktörlerinin salınımını arttırdığını desteklemektedir (Şekil 9).<sup>17</sup>

ICAM-1 ekspresyonunun ve yoğunluk seviyesinin tümör agresifliği ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. PTK'lar için tümör agresifliğini belirleyen özellikler; BRAF mutasyonu, tümör boyutu, ekstratiroidal yayılım ve lenf nodu metastazıdır. Dolayısıyla ICAM-1 ve VEGF-C'nin her ikisinin birden tiroid kanser progresyonunda önemli roller oynadıkları düşünülmektedir.<sup>17</sup>



Şekil 9. ICAM-1'in karsinogenezisteki rolü<sup>17</sup>

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Olgu Seçimi

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2005-2010 yılları arasında tanı alan 94 diferansiye tiroid karsinomu olgusu çalışmaya alındı. Olgulara ait hematoksilen eozin (HE) boyalı preparatlar arşivden çıkarıldı, yeniden gözden geçirildi ve immünohistokimya ve PCR yöntemleri için en uygun parafin bloklar seçildi. Olguların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, tümör boyutu, kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon, ekstra tiroidal yayılım, Hashimoto tiroiditi varlığı, multifokalite gibi parametrelere olgulara ait patoloji raporlarından ulaşılarak kaydedildi.

Olguların anamnez, evre, tanı tarihleri, radyoterapi öyküsü, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz varlığı, uygulanan cerrahi yöntem, aldığı tedaviler hastanemiz otomasyon sisteminden, hasta takip dosyalarından ve telefon aracılığı ile kendilerinden ve yakınlarından öğrenildi.

### 3.2. Etik Kurul

TF 2012 LTP14 protokol numaralı projemiz Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

### 3.3. Yöntem

#### 3.3.1. PCR Yöntemi

Olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitleri 1,5ml. Ependorf tüpüne su sekilde alındı: Önce kesit yapılan mikrotom aleti iyice hipolu gazlı bezle silindi sonra temiz bir gazlı bezle tekrar silindi ve kurulandı. Parafin dokudan 10-20 µm'lik 10-15 adet (yaprak) ince kesit yapıldı. Kesitler bir kürdan yardımı ile 1,5 µl' lik Dnase-Rnase free endorf tüpüne steril bir şekilde alındı ve aşağıdaki işlemler yapıldı.

#### **Dokudan Parafin Uzaklaştırılması:**

1- 25-50 mg formalinle fikse edilmiş parafin bloğa gömülmüş doku örnekleri Mikrotom'la 5µm'lik kesitler halinde 10-15 yaprak ince kesit yapıldı. Bu kesitler steril iğne ucu yardımı ile 1,5µl. lik Dnase-Rnase free endorf tüpüne alındı.



2- Örneklerin bulunduğu tüplerin içine 1ml Ksilen konup 56 °C'de 15 dakika beklendi 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip üstteki sıvı döküldü. Bu işlem 3-4 defa tekrarlandı.

3- Örneklerin üzerine 1 ml % 100 Etanol koyulup 13.000 rpm'de 5 dak. santrifüj edilip üstteki sıvı döküldü.

4- Örneklerin üzerine 1 ml % 80 Etanol koyulup 13.000 rpm'de 5 dak. santrifüj edilip üstteki sıvı döküldü.

5- Örneklerin üzerine 1 ml % 60 Etanol koyulup 13.000 rpm'de 5 dak. santrifüj edilip alkol uzaklaştırıldı.

6- Örneklerin üzerine 1 ml % 40 Etanol koyulup 13.000 rpm'de 5 dak. santrifüj edilip üstteki sıvı döküldü.

7-1ml. çift distile su eklendi ve 13.000 rpm'de 5 dak. santrifüj edildi. Üstteki sıvı pipetle alındı.

#### **DNA izolasyonu:**

Dokudan parafinle uzaklaştırma ve DNA izolasyonu Roche firmasının '*High pure PCR Template Preparation Kit* □-Cat. No.:11796828001'' ile elde edilmiştir.

1- 25-50mgr.'lık dokular üzerine 200µl. Tissue Buffer +40µl Protein K eklendi ve karıştırıldı. 37 °C'de 1 gece bekletildi.

2- Ertesi gün bunun üzerine 20µl proteinaz K koyuldu. 1-2 saat 55°C'de bekletildi.

3- Üzerine 200 µl. 'bağlanma buffer' eklendi ve +70 °C'de 10 dak. bekletildi.

4- Üzerine 100 µl. isopropanol eklendi ve karıştırıldı. Bu karışım filtreli tüplere koyularak 1 dak. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Alt tüp değiştirildi.

5- Filtreli tüpün üzerine 500µl. 'uzaklaştırıcı buffer' eklendi ve alt üst edilerek 1 dak. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Alttaki tüp değiştirildi.

6- Filtreli tüpün üzerine 500µl. 'yıkama buffer' eklendi ve alt üst edilerek 1 dak. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Alttaki tüp değiştirildi.

7- Tekrar filtreli tüpün üzerine 500µl. 'yıkama buffer' eklendi ve alt üst edilerek 1 dak. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Alttaki tüpün içindeki sıvı döküldü ve tekrar filtreli tüpün altına koyuldu ve maksimum hızda 13.000 rpm'de tekrar santrifüj edildi.

**16-** 1.5ml. ependorf tüpünün kapağına numara yazılarak filtrelili tüp bu ependorf tüpünün içine koyuldu .Üzerine 200µl. (+70 °C'de ) ısıtılmış 'sulandırma buffer' eklenerek ve 1 dak. 8000 rpm'de santrifüj edildi.

Bu şekilde elde edilen DNA'lar PCR mixt yapılabilir veya -15/-25 °C'de saklanır.

### **Beta Globin PCR mix hazırlama**

DNA elde edildikten sonra DNA varlığını ispatlamak için Beta Globin PCR yapıldı.

### **PCR Amplifikasyonu:**

β-globilin HindIII-X bölgesine ait 268bp'lik

Primer1(PCO4)=5'-CAA-CTT-CAT-CCA-CGT-TCA-CC-3'

Primer2(GH20)=5'-GAA-GAG-CCA-AGG-ACA-GGT-AC-3'

PCR amplifikasyonu için PCR core kit(Promega M7660) ve yukardaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak, steril 0.2ml.'lik mikrosantrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ekstrasyon örneği (hasta DNA örneği)	= 5µl.(100-200ng/µl)
10XPCR(10mmol/L Tris HCl,pH 8.3, 50mmol/L KCl)	=2,5µl.(Final konsantrasyon 1XPCR buf.)
25Mm MgCl <sub>2</sub>	=3,0µl. (Final konsantrasyon 3 mmol/L)
10 mmol/L dNTP	=0,5µl. (Final konsantrasyon 0.2 mmol/L)
Spermidin	=1,25µl. (Final konsantrasyon 0.01gr/L)
50kU/LTaq DNA Polimerase	=0,125µl.
Upstream(Forward) Primer1(PCO4) (2.0µmol/L)	=0,25µl. ( Final konsantrasyon 5µM)
Upstream(Reverse) Primer2(GH20) (2.0µmol/L)	=0,25µl. ( Final konsantrasyon 5µM)
Distile su	=13,125µl.
Toplam	=25µl

Hazırlanan karışma bir damla mineral oil konup ''Bio-rad my-Cycler system tipi'' termal Cyclerda ilk denatürasyon için

	<u>Saat</u>	<u>dak</u>	<u>sn.</u>
1. basamak 95°C	0	10	0 (Ön denaturasyon)
2. basamak 95°C	0	0	30 (Denature)
3. basamak 55°C	0	0	30
4. basamak 72°C	0	0	30
5. basamak; basamak 2'ye git 40 döngü			
6. basamak 72°C	0	10	0
7. basamak +4°C	24	0	0
8. basamak son olacak şekilde programlandı.			

### **PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi:**

PCR Amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış % 1.5'lik agaroz jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 30-40 dakika yürütüldü. Örneklerde β-globulin HindIII-X bölgesine ait 268bp'lık DNA fragmanlarının varlığı araştırıldı. Jel UV ışığı kullanılarak görüntülenip fotoğraflandı.

### **% 1.5'lik agaroz jel'deki görüntü:Agaroz –Beta Globin**

**Not:**bantlar 268bp

**1-Kuyu:**Marker (100bp DNA Ladder)

**2-Kuyu:**Negatif kontrol

**3-Kuyu:**Pozitif kontrol

**4-Kuyu:**Hasta örneği (pozitif)

**5-Kuyu:**Hasta örneği (pozitif)

**6-Kuyu:**Hasta örneği (pozitif)

**7-Kuyu:**Hasta örneği (pozitif)

**8-Kuyu:**Hasta örneği (pozitif)

**Real Time PCR:** Real Time PCR kiti olarak ENTROGEN marka KRAS kodon 12-13 -61 ve BRAF V600E (Kod no:KRBR-RT50) kullanıldı.

**İn Hause- PCR:** BRAF ekson 11 ve ekson 15 bölgeleri in hause PCR yapıldı.

## A- BRAF Ekson 11 İn Hause PCR hazırlama

### PCR Amplikasyonu:

Braf Exon 11 HindIII-X bölgesine ait 313bp'lik

11F (Forward Primer):5'-tcc-ctc-tca-ggc-ata-agg-taa-3

11R(Reverse Primer):5'-cga-aca-gtg-aat-att-tcc-ttt-gat-3

PCR Amplikasyonu için her tüpe PCR core kit(Promega M7660) ve yukardaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak, steril 0.2ml.'lik mikrosantrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ekstrasyon örneği (hasta DNA örneği)	= 5µl.(100-200ng/µl)
10XPCR(10mmol/L Tris HCl,pH 8.3, 50mmol/L KCl)	= 2,5µl.(Final konsantrasyon 1XPCR buf.)
25Mm MgCl <sub>2</sub>	=3,0µl. (Final konsantrasyon 3 mmol/L)
10 mmol/L dNTP	=0,5µl. (Final konsantrasyon 0.2 mmol/L)
Spermidin	=1,25µl. (Final konsantrasyon 0.01 gr/L)
50kU/LTaq DNA Polimerase	=0,125µl.
Upstream(Forward) Primer1 (2.0µmol/L)	=0,25µl. ( Final konsantrasyon 5µM)
Upstream(Reverse) Primer2 (2.0µmol/L)	=0,25µl. ( Final konsantrasyon 5µM)
Distile su	=13,125µl.
Toplam	=25µl

Hazırlanan karışım bir damla mineral oil konup ‘ ‘ *Bio-rad my-Cycler system tipi* ’ ’ termal Cyclerda ilk denatürasyon için;

	Saat	dak	sn.
1. basamak 95°C	0	10	0 (Ön denaturasyon)
2. basamak 95°C	0	0	30 (Denature)
3. basamak 55°C	0	0	30
4. basamak 72°C	0	0	30
5. basamak; basamak 2'ye git 40 döngü			
6.basamak 72°C	0	10	0
7.basamak +4°C	24	0	0
8. basamak son olacak şekilde programlandı.			

### **PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi:**

PCR Amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış % 1.5'lik agaroz jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 30-40 dakika yürütüldü. Örneklerde BRAF EXON11 HindIII-X bölgesine ait 313bp'lik DNA fragmanlarının varlığı araştırıldı.

### **B-Braf Exon15 İn Hause PCR MİX HAZIRLAMA**

#### **PCR Amplikasyonu:**

Braf Exon 15 HindIII-X bölgesine ait 224bp'lik

15F(Forward Primer): 5'-ggc-caa-aaa-ttt-aat-cag-tgg-a-3

15R(Reverse Primer): 5'-tca taa tgc ttg ctc tga tag ga-3

PCR Amplikasyonu için her tüpe PCR core kit(Promega M7660)ve yukardaki şekilde düzenlenen primerler kullanılarak, steril 0.2ml.'lik mikrosantrifüj tüpünün içine her bir örnek için aşağıda belirtilen miktarlar kullanılarak PCR karışımı hazırlandı.

ekstrasyon örneği (hasta DNA örneği)	= 5µl.(100-200ng/µl)
10XPCR(10mmol/L Tris HCl,pH 8.3, 50mmol/L KCl)	= 2,5µl.(Final konsantrasyon 1XPCR buf.)
25Mm MgCl <sub>2</sub>	=3,0µl. (Final konsantrasyon 3 mmol/L)
10 mmol/L dNTP	=0,5µl.(Final konsantrasyon 0.2 mmol/L)
Spermidin	=1,25µl. (Final konsantrasyon 0.01gr/L)
50kU/LTaq DNA Polimerase	=0,125µl.
Upstream(Forward) Primer1 (2.0µmol/L)	=0,25µl. ( Final konsantrasyon 5µM)
Upstream(Reverse) Primer2 (2.0µmol/L)	=0,25µl. ( Final konsantrasyon 5µM)
Distile su	=13,125µl.
Toplam	=25µl

Hazırlanan karışım ‘‘ Bio-rad my-Cycler system tipi’’ termal Cyclerda ilk denatürasyon için

	Saat	dak	sn.
1. basamak 95°C	0	10	0 (Ön denaturasyon)
2. basamak 95°C	0	0	30 (Denature)
3. basamak 55°C	0	0	30
4. basamak 72°C	0	0	30
5. basamak; basamak 2'ye git 40 döngü			
6. basamak 72°C	0	10	0
7. basamak +4°C	24	0	0
8. basamak son olacak şekilde programlandı.			

**PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi:** PCR Amplikasyonundan sonra 1µl loading buffer +10µl. PCR ürünü 0.5mgr/L etidyum bromid ile boyanmış % 1.5'lik agaroz jelinde uygulanan elektroforez işlemi 100V da 30-40 dakika yürütüldü. Örneklerde BRAF EXON15 HindIII-X bölgesine ait 224bp'lık DNA fragmanlarının varlığı araştırıldı.

### 3.3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi

Olgulara ait hematoksilen eozin boyalı preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Her olgu için uygun parafin bloklar seçildi. Parafin bloklardan immünohistokimyasal çalışma için her lam üzerine Rotary mikrotom cihazı ile 5 mikron kalınlığında özel polilizinli lamlara kesitler alındı. Çalışma grubuna alınan olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitlere Horseradish peroksidase labeled streptavidin- biotin detection system kullanılarak (Scytek Laboratories (USA), SensiTek HRP Anti – Polyvalent kit. Cat no: SHP 125), immünperoksidaz yöntemi ile Polyclonal Rabbit anti-VEGF-C (Clone Z-CVC7, İnvitrogen), CD 54 (ICAM-1) Mouse monoclonal Antibody (Clone 23G12, Leica Microsystem) uygulandı. Hazırlanan örnekler ışık mikroskopunda değerlendirildi.

### Dokuların hazırlanması

Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitler 60 °C'lik ısıda etüvde 30-45 dakika arası sürede üzerindeki parafin eriyene dek bekletildi. Kesitler, aynı etüv içerisindeki ksilollü şale içerisinde 10 dakika tutuldu. Etüvden çıkarılan kesitler oda ısısındaki; içerisinde ksilol bulunan üç ayrı şale sonra % 95 alkol bulunan üç ayrı şalede beşer dakika tutularak distile suda iyice yıkanarak deparafinizasyon işlemi

tamamlandı. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksid)'in distile sudaki solüsyonunda beş dakika inkübe edildi.

### **Boyanma aşamaları :**

Her 2 antikor için ;

1-Lamlar ; içerisinde sitrat buffer solüsyonu (pH 6)bulunan mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde sıralanarak Beko marka 1550 model mikrodalga fırında medium konumunda yedişer dakika üç kez çevrilerek inkübe edildi. Daha sonra oda ısısına alınarak 40-45 dakika soğumaya bırakıldı.

2- pH 7,2-7,4 PBS (0,01M *Phosphate Buffer Saline*)'de 3-5 dakika yıkandı.

3- Doku çevresi silinerek dokular nemli bir ortamda yatay konularak üzerine PAB (*primary antibody*) damlatıldı.

a. VEGF C ( 1/ 150 dilüe ) oda ısısında 1 saat inkübe edildi.

b. CD 54 ( 1/ 50 dilüe ) oda ısısında 1 saat inkübe edildi.

4- PBS'de 3-5 dakika yıkandı.

5- Kesit çevresi silindikten sonra *sekonder antibody* (biotinli) damlatılarak 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.

6- PBS'de 3-5 yıkandı.

7- Kesit çevresi silindikten sonra Peroxidase-strept avidin damlatılarak 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

8- PBS'de 3-5 dakika yıkandı. Kesit çevresi silindi.

9- AEC kromojen damlatıldı. 5-20 dakika sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular çeşme suyuna alındı.

10- Mayer Hematoksilen'de 1-3 dakika zemin boyaması yapıldı ve çeşme suyunda 3-5 dakika yıkandı.

11- Kesit çevresi silindi ve su bazlı kapatma maddesi ile kapatıldı.

### **3.3.3. Değerlendirme**

PCR ürününde jelin çekilen fotoğrafı üzerinden belirlenen band aralıklarında tek veya çift band varlığı pozitif kabul edildi. Band görülmeyen ürünler negatif kabul edildi.

İmmünohistokimyasal yöntemle uygulanan ICAM-1 tümör hücrelerinde membranöz ve/veya sitoplazmik, VEGF-C ise sitoplazmik boyanma gösterdi.

İmmünohistokimyasal boyanmas değerlendirilirken, boyanan hücrelerin tüm tümör hücrelerine oranı ve boyanan hücrelerin boyanma yoğunluğu (soluk ya da kuvvetli olması / membranı tam çevrelemesi) kriter olarak alındı.

Bu değerlendirmeye göre boyanan hücrelerin tümör hücrelerine oranı;

- Boyanma yok= 0
- Tümör hücrelerinde % 1-29 pozitif boyanan hücre = 1
- Tümör hücrelerinde % 30-59 pozitif boyanan hücre = 2
- Tümör hücrelerinin % 60'ından fazlasında boyanma= 3 şeklinde değerlendirildi.

Boyanan hücrelerin boyanma yoğunluğu;

- Boyanma yok = 0
- Zayıf boyanma = 1
- Orta derecede şiddetli boyanma = 2
- Kuvvetli boyanma = 3

Skor = ICAM-1 pozitif tümör alanı yüzdesi x tümör hücrelerinin boyanma şiddeti olarak hesaplandı. Sonuçta skor olarak 0-9 arası veri elde edildi. Skorlamada 4 ve üzeri skor "ekspresyon pozitif" kabul edildi.

Buna göre; ICAM-1; 94 olgunun 42'sinde (% 44,7) pozitif, 52'sinde (% 55,3) negatif, VEGF-C; 94 olgunun 40'ında(% 42,6) pozitif, 54'ünde (% 57,4) negatif bulundu.

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş, normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin analizinde bağımsız gruplarda t testi ve tek yönlü varyans analizi, normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin analizinde ise Mann whitney U veya Kruskall Wallis testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerin analizinde ise Ki-kare, Mc Nemar ve Kappa testi kullanılmıştır. Sağkalım analizinde Kaplan-Meier yöntemi ve grupların karşılaştırılmasında ise log rank testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma, medyan, n ve yüzde olarak ifade edilmiştir. p değerinin <0,05 olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. p< 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. Analizlerde SPSS v 19.0 paket programı kullanılmıştır.



Evre III ve IV grubunda yer alan olgu sayısının az olmasının yapılacak istatistiksel değerlendirmeyi gleştirmesi nedeni ile evre I ve II olan olgular erken evre, evre III ve IV olgular ise ileri evre olarak gruplandırılarak istatistiksel değerlendirmeye alındı.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada 2005-2010 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 94 diferansiye tiroid kanseri olgusu değerlendirildi. Olguların 73'ü (% 77,7) kadın, 21'i (% 22,3) erkek idi. Yaş ortalaması (ortalama yaş±SD) 49,2±11,6 (28-81) idi. Olguların 74'ü (% 78,7) PTK, 20'si (% 21,3) FTK'du. 74 PTK olgusunun 41'i (% 55,4) PKFV tipindeydi. 20 FTK olgusunun 11'i (% 55) minimal invaziv folliküler karsinom, 9'u (% 45) yaygın invaziv folliküler karsinom tipindeydi.

Tanı gruplarına göre hastaların demografik ve klinik özellikleri tablo 3'te görülmektedir. PTK grubunun % 70,7'si kadın, % 20,3'ü erkekti. FTK grubunun % 70'i kadın, % 30'u erkekti. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,354). PTK'lu olguların yaş ortalaması 48,9±10,6 (28-71), FTK'lu olguların yaş ortalaması 50,2±15,2 (28-81) idi (p=0,948). Tüm olguların tümör çapı ortalaması 1,7±1,1 cm idi; PTK'lu olguların ortalama tümör çapı 1,5±1,1 cm iken, FTK'lu olguların ortalama tümör çapı 2,1±1,0 cm idi (p=0,060).

Lenf nodu tutulumu 7 olguda (% 7,4) saptandı. PTK grubunda lenf nodu tutulumu oranı % 8,1 iken FTK'da % 5'di (p=0,639).

Kapsül invazyonu 28 olguda (% 29,8) mevcuttu. PTK grubunda kapsül invazyonu oranı % 17,6 iken FTK grubunda bu oran % 75'di (p=0,001).

Olguların 19'unda (% 20,2) LVİ vardı. FTK grubunda LVİ oranı (% 65) PTK grubuna oranla daha yüksekti (% 8.1) (p=0.001).

Hashimoto tiroiditi 27 (% 28,7) olguya eşlik ediyordu. PTK grubunda HT oranı % 31,1 iken FTK grubunda bu oran % 20 idi (p=0,331).

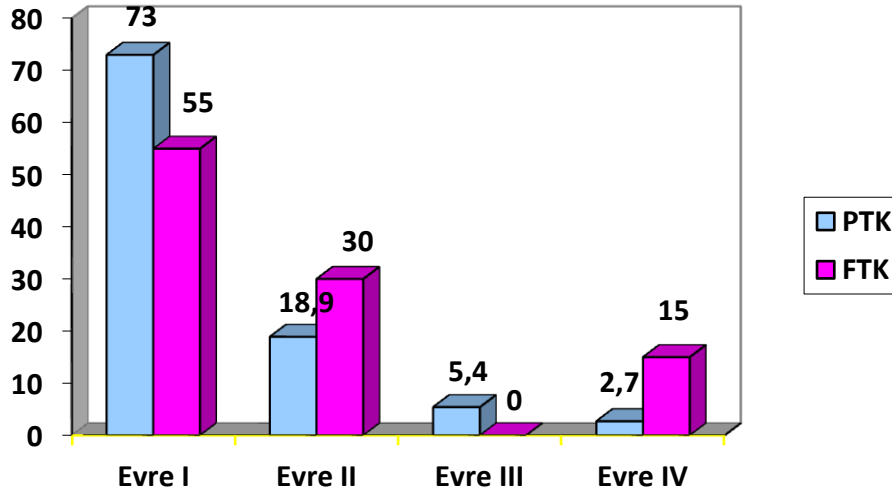
Multifokalite 35 olguda (% 37,2) vardı. PTK grubunda multifokalite oranı (% 44,6) FTK grubuna oranla daha yüksekti (% 10) (p=0,005.)

Ekstra tiroidal yayılım 5 (% 5,3) olguda mevcuttu. PTK grubunda ekstra tiroidal yayılım oranı % 5,4, FTK grubunda % 5'di (p=0,943).

**Tablo 4. Demografik ve Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması**

	PTK	FTK	Toplam	p
Cinsiyet (n,%)				
Kadın	59 (79,7)	14 (70)	73(77,7)	0,354
Erkek	15 (20,3)	6 (30)	21(22,3)	
Yaş (Ort±SD)	48,9±10,6	50,2±15,2	49,2±11,6	0,948
Tümör Boyutu (Ort±SD)	1,5±1,1	2,1±1,0	1,7±1,1	0,060
Lenf Nodu Tutulumu (n,%)	6 (8,1)	1 (5)	7 (7,4)	0,639
Kapsül İnvazyonu (n,%)	13 (17,6)	15 (75)	28 (29,8)	<b>0,001</b>
LVİ (n,%)	6 (8,1)	13 (65)	19 (20,2)	<b>0,001</b>
Hashimato Tiroiditi (n,%)	23 (31,1)	4 (20)	27 (28,7)	0,331
Multifokalite (n,%)	33 (44,6)	2 (10)	35 (37,2)	<b>0,005</b>
Ekstra Tiroidal Yayılım (n,%)	4 (5,4)	1 (5)	5 (5,3)	0,943
Toplam olgu (n,%)	74 (78,7)	20 (21,3)	94(100)	

Tüm olguların 65'i (% 69,1) Evre I, 20'si (% 21,3) Evre II, 4'ü (% 4,3) Evre III, 5'i (% 5,3) Evre IV idi. Tanı gruplarına göre evre dağılımı Şekil 10'da görülmektedir. PTK'ların % 73'ü evre I, % 18,9'u evre II, % 5,4'ü evre III ve % 2,7'si evre IV iken FTK'larda bu oranlar sırası ile % 55, % 30, % 0, % 15'di. Evre ile PTK ve FTK grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı(p=0,066)



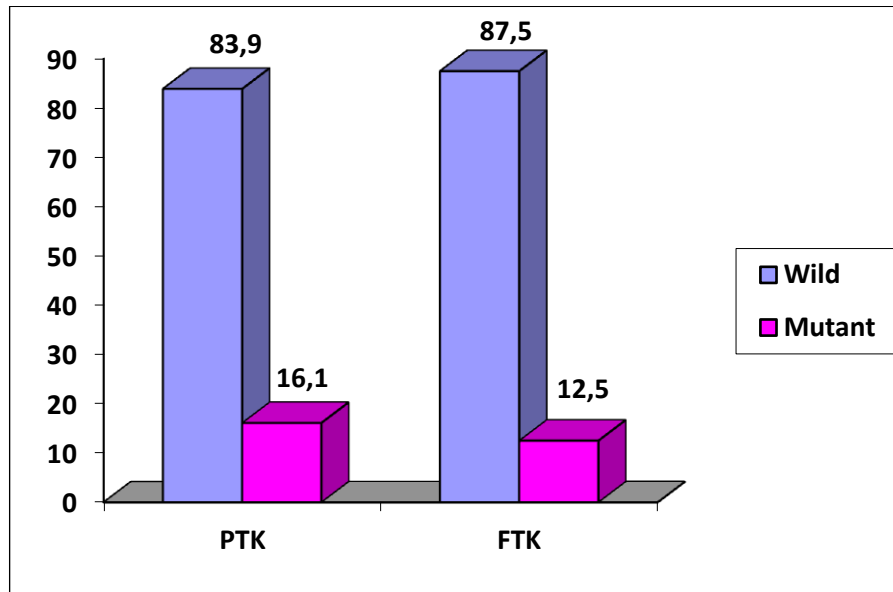
**Şekil 10. Tanı gruplarına göre evre dağılımı**

84 (% 89,4) olguya total tiroidektomi uygulanmıştı ve bunların 64'ü (% 76,2) PTK, 20'si (% 23,8) FTK'du. 10 (% 10,6) olguya subtotal tiroidektomi uygulanmıştı ve

olguların hepsi PTK'du. 7 olguya (% 7,4) boyun disseksiyonu uygulanmıştı ve tüm olgular RAI tedavisi almıştı.

**KRAS Mutasyonu;** 94 olgunun 22'sinde (% 23,4) teknik olarak KRAS mutasyon durumu saptanamadı. Çalışılabilen 72 olgunun 61'inde (% 84,7) mutasyon yokken, 11 olguda (% 15,3) mutasyon saptandı. Mutasyonlar ekzon1'de 12. kodonda yedi olguda, ekzon1'de 13. kodonda üç olguda ve ekzon 2'de 61.kodonda bir olguda saptandı. KRAS ekzon 1'de 12. kodon mutasyonunda üç olguda glisin yerine valin (% 4,1), iki olguda glisin yerine alanin (% 2,7), bir olguda glisin yerine arginin (% 1,3), bir olguda glisin yerine sistein (% 1,3) yer değiştirmişti. KRAS ekzon 1'de 13. kodonda bir olguda glisin yerine sistein (% 1,3), iki olguda glisin yerine asparagin (% 2,7), ekzon 2 kodon 61'de ise glisin yerine histidin (% 2,7) yer değiştirmişti.

PTK'lu olguların 47'sinde (% 83,9) mutasyon izlenmezken, 9'unda (% 16,1) mutasyon saptandı. FTK'lu olguların 14'ünde (% 87,5) mutasyon yokken 2'sinde (% 12,5) mutasyon saptandı (şekil 11). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,726).



Şekil 11. KRAS mutasyonu ile histolojik tip arasındaki korelasyon

Lenfovasküler invazyon ile KRAS mutasyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, mutasyon saptanan 11 olgunun 2'sinde (% 18,2), mutasyon

saptanmayan 61 olgunun 12'sinde(% 19,7) LVI mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,908).

KRAS mutasyonu ile multifokalite arasındaki ilişki incelendiğinde, mutasyon saptanan 11 olgunun 3'ünde (% 27,3), mutasyon saptanmayan 61 olgunun 23'ünde (% 37,7) multifokalite mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.507).

Hashimato tiroiditi mutasyon saptanan 11 olgunun 1'inde (% 9,1), mutasyon saptanmayan 61 olgunun 20'sinde (% 32,8) eşlik ediyordu. KRAS mutasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.111).

Kapsül invazyonu ile KRAS mutasyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, mutasyon saptanan 11 olgunun 2'sinde (% 18,2), mutasyon saptanmayan 61 olgunun 22'sinde (% 36,1) kapsül invazyonu mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,247).

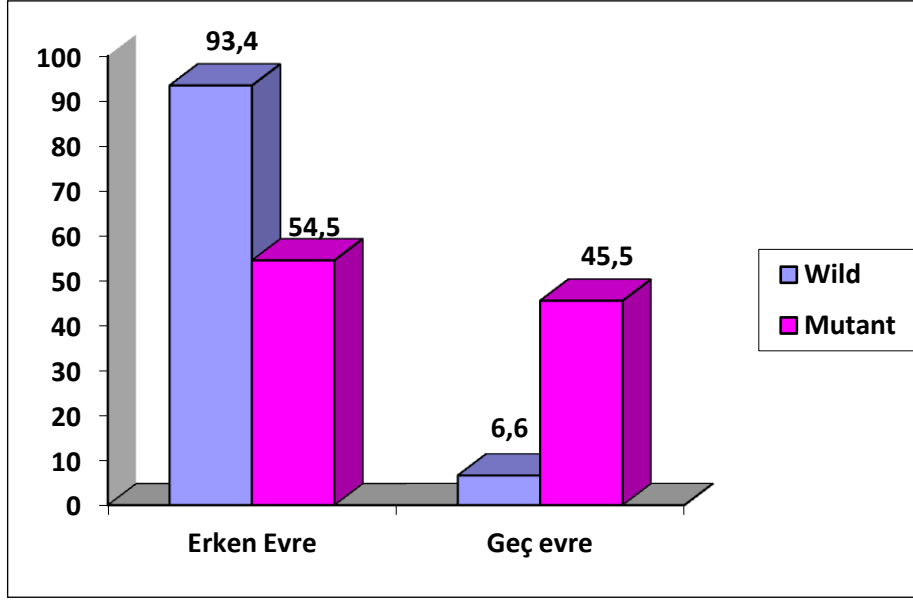
Ekstra tiroidal yayılım ile KRAS mutasyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, mutasyon saptanan 11 olgunun 1'inde (% 9,1), mutasyon saptanmayan 61 olgunun 4'ünde (% 6,6) ekstra tiroidal yayılım mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,761).

Lenf nodu tutulumu ile KRAS mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, mutasyon saptanan 11 olgunun 3'ünde (% 27,3), mutasyon saptanmayan 61 olgunun 4'ünde (% 6,6) lenf nodu tutulumu mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,033). KRAS mutasyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması tablo 4'te belirtilmiştir.

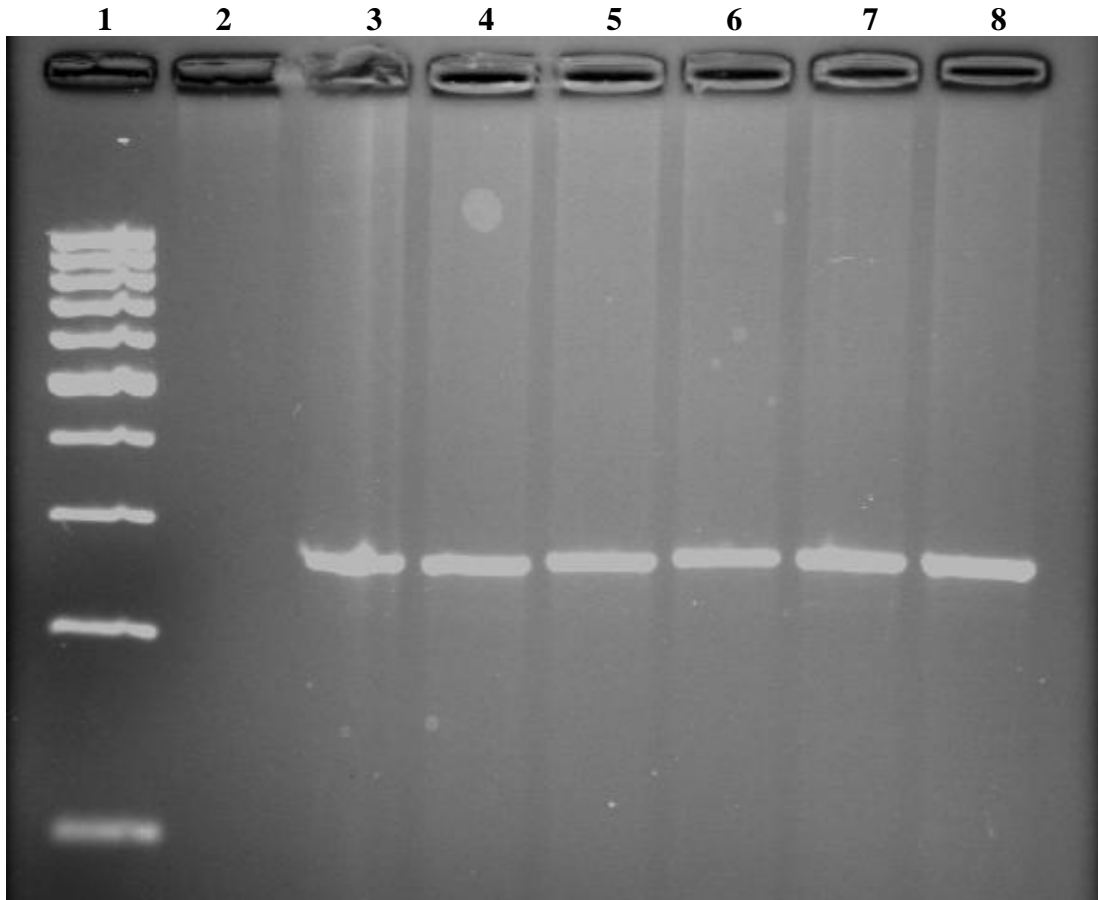
Olgular evrelerine göre değerlendirildiğinde; mutasyon saptanan 11 olgunun 6'sı (% 54,5) erken evrede, 5'i (% 45,5) ileri evrede iken, mutasyon saptanmayan 61 olgunun 57'si (% 93,4) erken evre, 4'ü (% 6,6) ileri evrede idi (şekil 12). KRAS mutasyonu ile ileri evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,001).

**Tablo 5. KRAS Mutasyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması**

	KRAS n(%)		p
	Wild	Mutand	
<b>Lenf Nodu Tutulumu</b>	4 (6,6)	3 (27,3)	<b>0,033</b>
<b>Kapsül İnvazyonu</b>	22 (36,1)	2 (18,2)	0,247
<b>LVI</b>	12 (19,7)	2 (18,2)	0,908
<b>Hashimato Tiroiditi</b>	20 (32,8)	1 (9,1)	0.111
<b>Multifokalite</b>	23 (37,7)	3 (27,3)	0.507
<b>Ekstra Tiroidal Yayılım</b>	4 (6,6)	1 (9,1)	0,761
<b>Toplam</b>	61 (84,7)	11 (15,3)	



Şekil 12. KRAS mutasyonu ile evre arasındaki korelasyon



Şekil 13. PCR ile KRAS mutasyonu (1.kuyu; marker 2. kuyu; negatif kontrol, 3. kuyu; pozitif kontrol, 4.,5.,6.,7. ,8. kuyu; pozitif olgu)

**BRAF Mutasyonu;** 94 olgunun 13'ünde (% 13,8) ekzon11'de, 25'inde (% 26,6) ekzon 15'de mutasyon saptandı. 4 olguda BRAF ekzon 11 ve ekzon 15 mutasyonu birlikte pozitif. Toplam BRAF mutasyon oranı % 36,1 bulundu.

Histolojik alt tiplere göre değerlendirildiğinde; 74 PTK olgusunun 8'inde (% 10,8), 20 FTK olgusunun 5'inde (% 25) ekzon 11'de mutasyon saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,103$ ). 74 PTK olgusunun 18'inde (% 24,3), 20 FTK olgusunun 7'sinde (% 35) ekzon 15'de mutasyon saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,338$ ). BRAF mutasyon oranı PTK'da % 33,8, FTK'da ise % 40 saptandı.

Lenf nodu tutulumu; BRAF ekson 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun 3'ünde (% 23,1), mutasyon saptanmayan 81 olgunun 4'ünde (% 4,9) mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ( $p=0,021$ ). BRAF ekson 15'de mutasyon saptanan 25 olgunun 3'ünde (% 12), mutasyon saptanmayan 69 olgunun 4'ünde (% 5,8) lenf nodu tutulumu saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,311$ ).

BRAF ekson 11 ve ekson 15 mutasyonları ile kapsül invazyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.  $p$  değerleri sırasıyla 0,934, 0,070 bulundu.

Lenfovasküler invazyon ile BRAF mutasyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, ekson 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun 4'ünde (% 30,8), mutasyon saptanmayan 81 olgunun 15'inde (% 18,5) LVİ mevcuttu. Ekson 15'de mutasyon saptanan 25 olgunun 7'sinde (% 28), mutasyon saptanmayan 69 olgunun 12'sinde (% 17,4) LVİ mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.  $p$  değerleri sırasıyla 0,307, 0,258'di.

Hashimato tiroiditi; ekson 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun 1'inde (% 7,7), mutasyon saptanmayan 81 olgunun 26'sında (% 32,1) mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,071$ ). Ekson 15'de mutasyon saptanan 25 olgunun 5'inde (% 20), mutasyon saptanmayan 69 olgunun 22'sinde (% 31,9) Hashimato tiroiditi mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p=0,261$ ).

Multifokalite ile BRAF mutasyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, ekson 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun 5'inde (% 38,5), mutasyon saptanmayan 81 olgunun 30'unda (% 37) multifokalite mevcuttu. Ekson 15'de mutasyon saptanan 25 olgunun 8'inde (% 32), mutasyon saptanmayan 69 olgunun 27'sinde (% 39,1) multifokalite

mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı. p değerleri sırasıyla 0,921, 0,527 olarak saptandı.

Ekstra tiroidal yayılım ile BRAF ekson 11 ve ekson 15 mutasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. p değerleri sırasıyla 0,081, 0,082 bulundu. BRAF ekson 11 ve ekson 15 mutasyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması Tablo 5 ve Tablo 6’da belirtilmiştir.

Olgular evrelerine göre değerlendirildiğinde; BRAF ekson 11 ve ekson 15 mutasyonları ile evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. p değerleri sırasıyla 0,443, 0,755 bulundu.

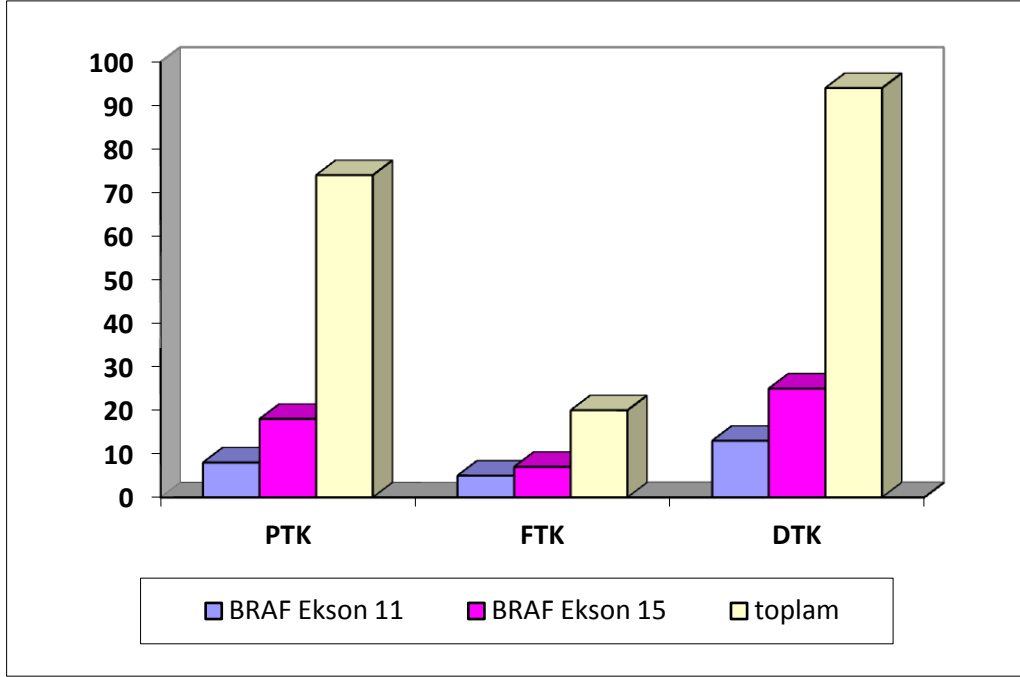
**Tablo 6. BRAF Ekson 11 Mutasyonu İle Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması**

	BRAF ekson 11 Mutasyonu n(%)		p
	Var	Yok	
<b>Lenf Nodu Tutulumu</b>	3 (23,1)	4 (4,9)	<b>0,021</b>
<b>Kapsül İnvazyonu</b>	4 (30,8)	24 (29,6)	0,934
<b>LVI</b>	4 (30,8)	15 (18,5)	0,307
<b>Hashimato Tiroiditi</b>	1 (7,7)	26 (32,1)	0,071
<b>Multifokalite</b>	5 (38,5)	30 (37)	0,921
<b>Ekstra Tiroidal Yayılım</b>	2 (15,4)	3 (3,7)	0,081
<b>Olgu Sayısı</b>	13 (13,8)	81 (86,2)	

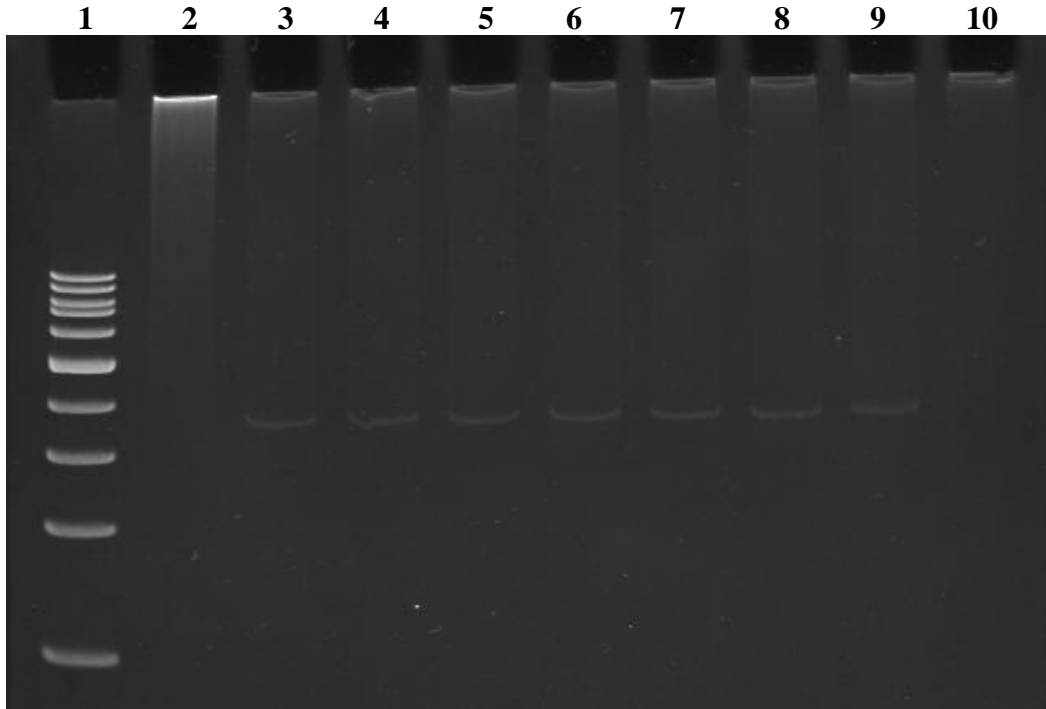
**Tablo 7. BRAF Ekson 15 Mutasyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması**

	BRAF ekson 15 Mutasyonu n(%)		P
	Var	Yok	
<b>Lenf Nodu Tutulumu</b>	3 (12),	4 (5,8)	0,311
<b>Kapsül İnvazyonu</b>	11 (44)	17 (24,6)	0,070
<b>LVI</b>	7 (28)	12 (17,4)	0,258
<b>Hashimato Tiroiditi</b>	5 (20),	22 (31,9)	0,261
<b>Multifokalite</b>	8 (32),	27 (39,1)	0,527
<b>Ekstra Tiroidal Yayılım</b>	3 (12)	2 (2,9)	0,082
<b>Olgu Sayısı</b>	25 (26,6)	69 (73,4)	

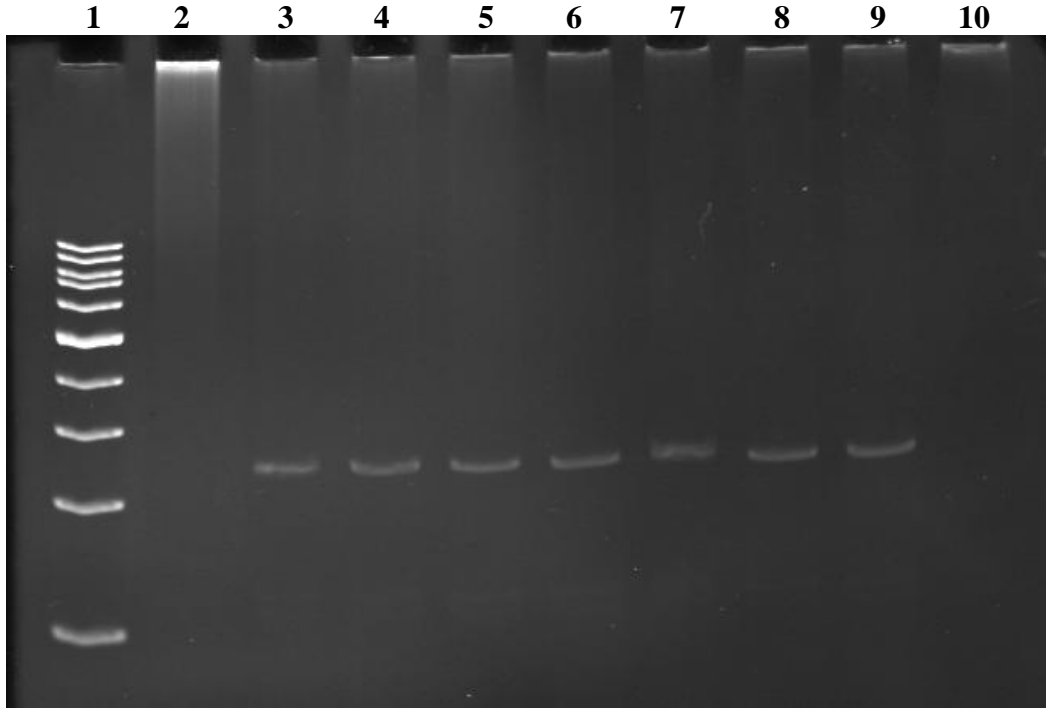




Şekil 14. BRAF mutasyonu ile histolojik tip arasındaki korelasyon

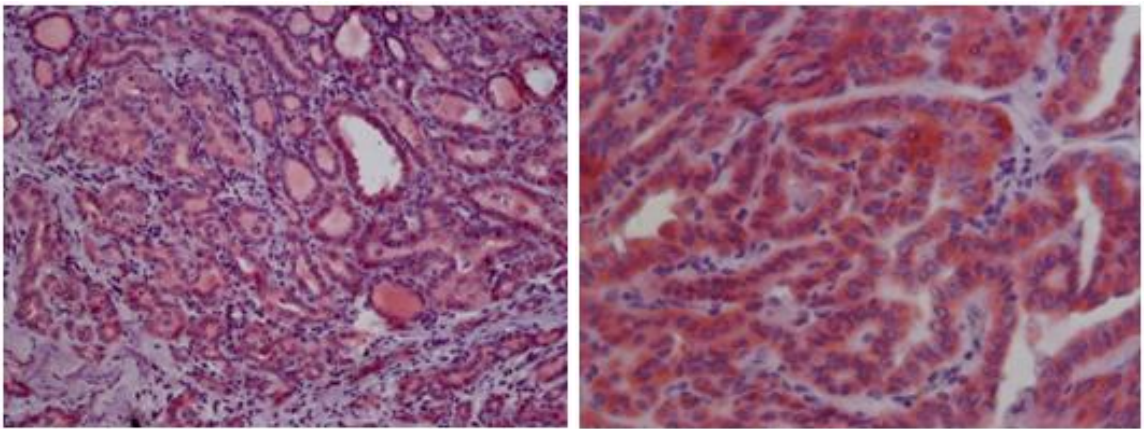


Şekil 15. PCR ile BRAF Ekson 11 mutasyonu. (1.kuyu; marker 2. kuyu; negatif kontrol, 3. kuyu; pozitif kontrol, 4.,5.,6.,7.,8. 9.kuyu; pozitif, 10. kuyu; negatif olgu)

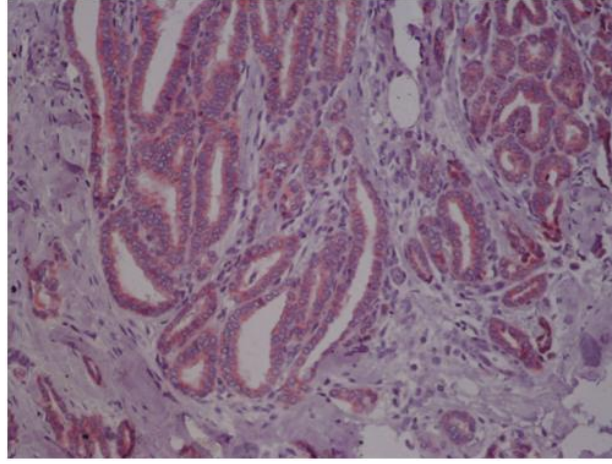


Şekil 16. PCR ile BRAF Ekson 15 mutasyonu. (1.kuyu; marker 2. kuyu; negatif kontrol, 3. kuyu; pozitif kontrol, 4.,5.,6.,7. ,8. 9.kuyu; pozitif, 10. kuyu; negatif olgu)

**VEGF-C**; 94 olgunun 40'ında (% 42,6) pozitif, 54'ünde (% 57,4) negatif bulundu. 74 PTK olgusunun 29'unda (% 39,2) pozitif, 45'inde (% 60,8) negatifti. 20 FTK olgusunun 11'inde (% 55) pozitif, 9'unda (% 45) negatif bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,204$ ).



Şekil 17. Sitoplazmik (+++) pozitif VEGF-C ekspresyonu (İHKx200).



Şekil 18. Tiroid papiller karsinomunda (++) pozitif VEGF-C ekspresyonu (İHKx200).

VEGF-C pozitifliği ile multifokalite, hashimato tiroiditi varlığı, ekstra tiroidal yayılım ve kapsül invazyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. P değerleri sırası ile 0,700, 0,814, 0,082, 0,062 olarak bulundu.

VEGF-C pozitif 40 olgunun 5'inde (% 12,5), VEGF-C negatif 54 olgunun 2'sinde (% 3,7) lenf nodu tutulumu saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (p=0,036).

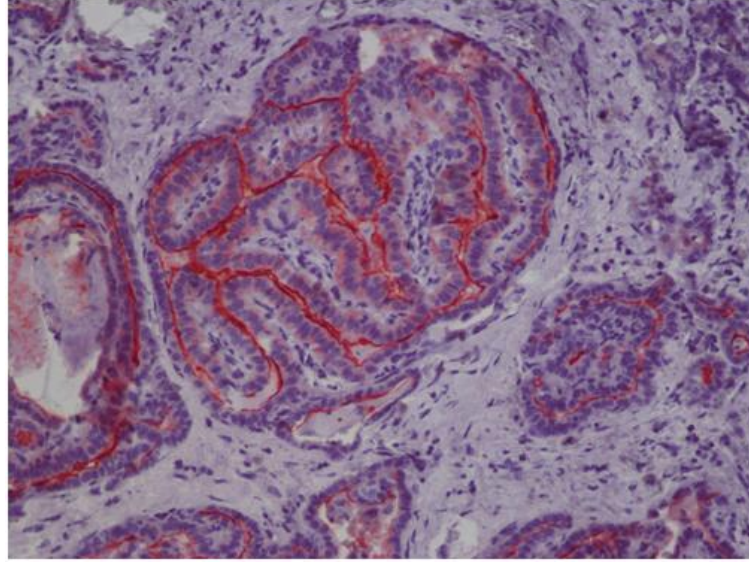
Lenfovasküler invazyon ile VEGF-C arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; VEGF-C pozitif 40 olgunun 12'sinde(% 30) LVİ mevcuttu. VEGF-C negatif 54 olgunun 7'sinde (% 13) LVİ saptandı. Lenfovasküler invazyon ile VEGF-C arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,042). VEGF-C ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması tablo 7'de belirtilmiştir.

Olgular Evrelerine göre değerlendirildiğinde; VEGF-C ekspresyonu ile evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,904).

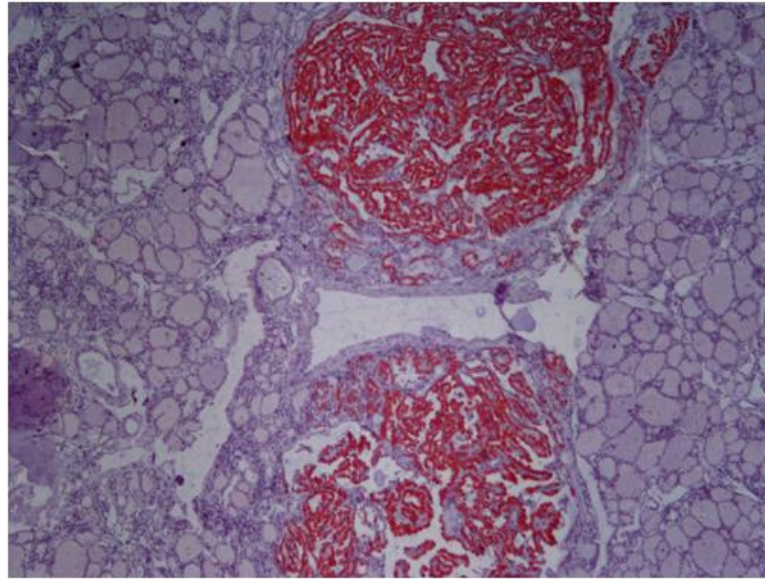
Tablo 8. VEGF-C Ekspresyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması

	VEGF-C n(%)		p değeri
	Pozitif	Negatif	
<b>Lenf Nodu Tutulumu</b>	5 (12,5)	2 (3,7)	<b>0,036</b>
<b>Tiroid Kapsül İnv.</b>	16 (40)	12 (22,2)	0,062
<b>LVİ</b>	12 (30)	7 (13)	<b>0,042</b>
<b>Hashimato Tiroiditi</b>	12 (30)	15 (27,8)	0,814
<b>Multifokalite</b>	14 (35)	21 (38,9)	0,700
<b>EkstraTiroidal Yayılım</b>	4 (10)	1 (1,9)	0,082
<b>Olgu Sayısı</b>	40 (42,6)	54 (57,4)	

**ICAM-1;** 94 olgunun 42'sinde (% 44,7) pozitif, 52'sinde (% 55,3) negatif bulundu. 74 PTK olgusunun 30'unda (% 40,5) pozitif, 44'ünde (% 59,5) negatifti. 20 FTK olgusunun 12'sinde (% 60) pozitif, 8'inde (% 40) negatif bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,120).

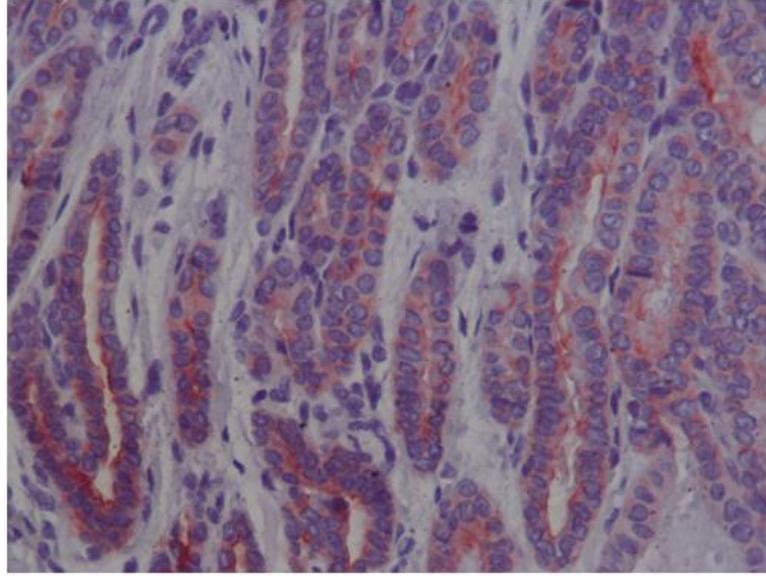


**Şekil 19. Tiroid papiller karsinomunda membranöz ve sitoplazmik (+++) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx200).**

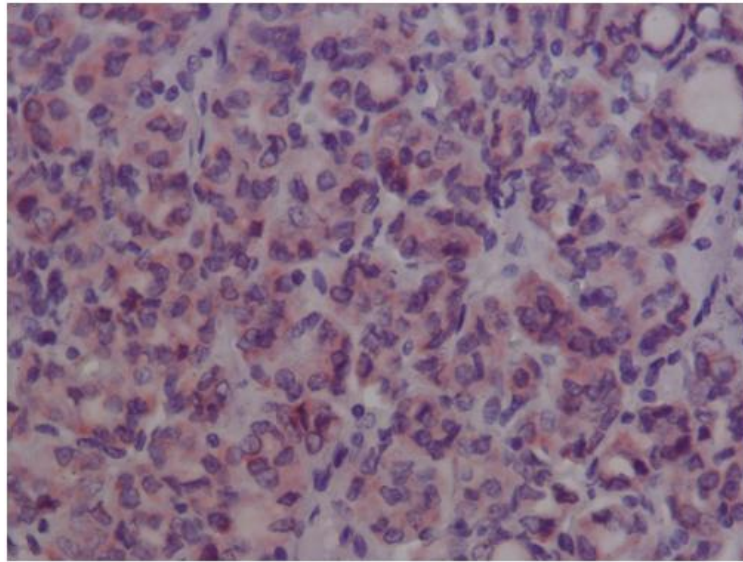


**Şekil 20. Multifokal yerleşimli papiller karsinom onkositik varyantta sitoplazmik (+++) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx40).**





**Şekil 21. Sitoplazmik ve membranöz (++) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx200).**



**Şekil 22. Sitoplazmik (+) pozitif ICAM-1 ekspresyonu (İHKx200).**

Kapsül invazyonu; ICAM-1 pozitif 42 olgunun 18'inde (% 42,9), ICAM-1 negatif 52 olgunun 10'unda (% 19,2) mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,013$ ).

ICAM-1 ile lenfovasküler invazyon, hashimato tiroiditi varlığı ve lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.  $p$  değerleri sırası ile 0,070, 0,344, 0,139 olarak saptandı.

Multifokalite ile ICAM-1 arasındaki ilişki incelendiğinde, ICAM-1 pozitif 42 olgunun 10'unda (% 23,8), ICAM-1 negatif 52 olgunun 25'inde (% 48,1) multifokalite mevcuttu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,016).

Ekstra tiroidal yayılım; ICAM-1 pozitif 42 olgunun 4'ünde (% 9,5), ICAM-1 negatif 52 olgunun 1'inde (% 1,9) mevcuttu. Ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,103). ICAM-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması tablo 8'de belirtilmiştir.

Evrelerine göre değerlendirildiğinde; ICAM-1 ekspresyonu ile evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0,163).

**Tablo 9. ICAM-1 Ekspresyonu ile Histopatolojik Özelliklerin Karşılaştırılması**

	ICAM-1 n(%)		p değeri
	Pozitif	Negatif	
<b>Lenf Nodu Tutulumu</b>	5 (11,9)	2 (3,8)	0,139
<b>Tiroid Kapsül İnv.</b>	18 (42,9)	10 (19,2)	<b>0,013</b>
<b>LVİ</b>	12 (28,6)	7 (13,5)	0,070
<b>Hashimoto Tiroiditi</b>	10 (23,8)	17 (32,7)	0,344
<b>Multifokalite</b>	10 (23,8)	25 (48,1)	<b>0,016</b>
<b>Ekst. Tiroid Yayılım</b>	4 (9,5)	1 (1,9)	0,103
<b>Olgu Sayısı</b>	42 (44,7)	52 (55,3)	

Olguların ortalama takip süresi 61.0±14.6 aydır. PTK grubunda takip süresi 59,5±14,2 (35-96) ay iken FTK grubunda takip süresi 66,2±15,2(37-89) aydır.. Takiplerde üç (% 3,2) olguda nüks saptandı. Nüks gözlenen üç olgunun biri lokal nüks iken, ikisinde uzak metastaz gelişti. Uzak metastazlar akciğere olup iki olgu da FTK tanısı almıştı. Nüks gelişen üç olgunun ikisi FTK, biri PTK olgusuydu. PTK grubunda nüks oranı % 1,4, FTK'da nüks oranı % 10 saptandı. Nüks gelişimi ile tanı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (p=0,05).

KRAS mutasyonu saptanan 11 olgunun ikisinde (% 18,2), mutasyon saptanmayan 61 olgunun birinde (% 1,6) nüks gelişti. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,11).

BRAF ekson 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun ikisinde (% 15,4), mutasyon saptanmayan 81 olgunun birinde (% 1,2) nüks gelişti. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (p=0,007). BRAF ekson 15'de mutasyon saptanan 25 olgunun 1'inde (% 4),

mutasyon saptanmayan 69 olgunun 42'sinde (% 2,9) nüks gelişti. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,788).

Nüks gelişen üç olgunun hepsinde VEGF-C pozitif. Nüks gelişimi ile VEGF-C arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,041).

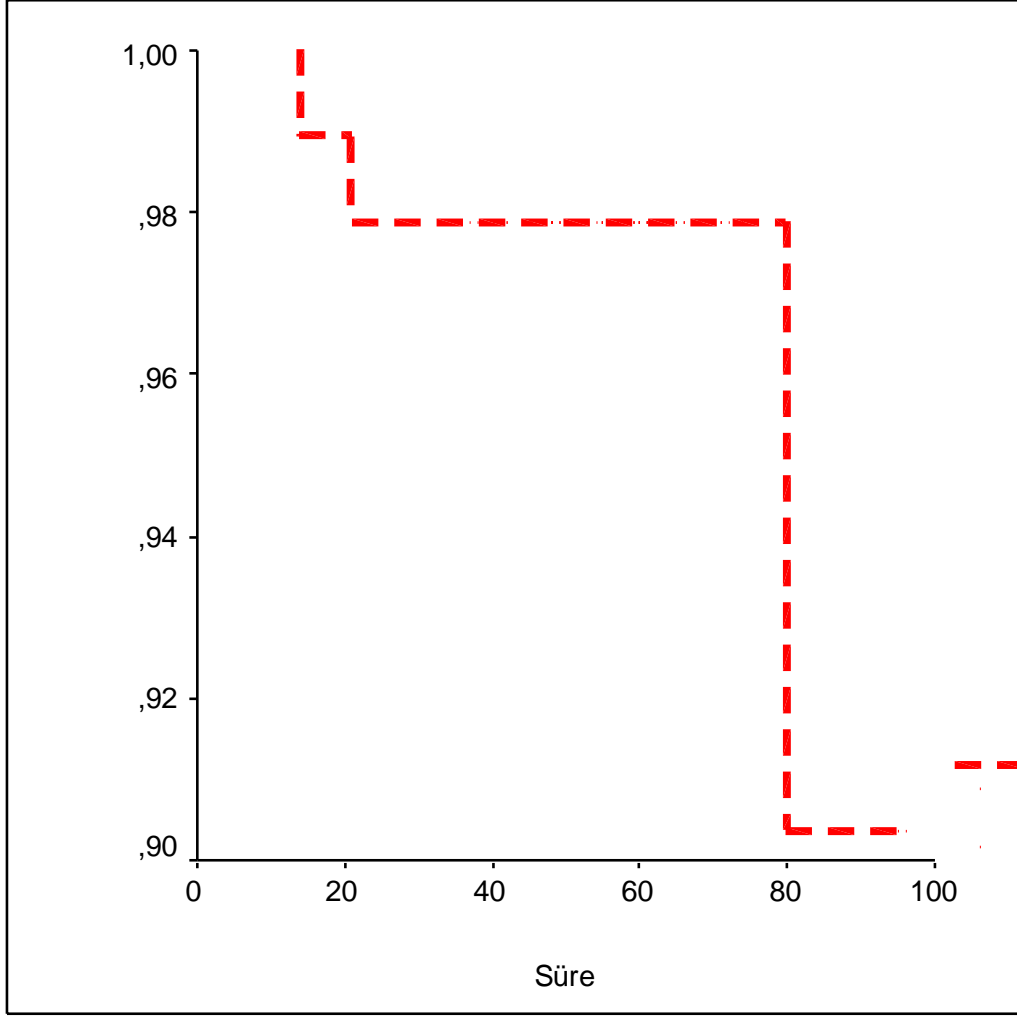
Nüks gelişen üç olgunun hepsinde ICAM-1 pozitif. Nüks gelişimi ile ICAM-1 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,050).

Takiplerde bir olgu FTK tanısı aldıktan 37 ay sonra serviks karsinomu nedeniyle ex olmuştu, diğer tüm olgular yaşıyordu. Bu nedenle olguların genel sağ kalım analizi yapılamadı. Ancak hastaliksız sağkalım analizi yapıldı. Toplam hastaliksız sağ kalım süresi 93 ay bulundu (% 95 güven aralığı). Toplam hastaliksız sağ kalım sonuçları tablo 9'da belirtilmiştir.

**Tablo 10. Toplam Hastaliksız Sağkalım Sonuçları**

		Süre ay				p*
		Total n	Nüks N	Ort	Medyan	
Tanı Grupları	PTK	74	1	95	-	
	FTK	20	2	83	-	0,088
Kapsülinvazyonu	Yok	66	1	95	-	
	Var	28	2	84	-	0,163
LN Tutulumu	Yok	87	2	94	-	
	Var	7	1	63	-	<b>0,016</b>
LVI	Yok	75	2	94	-	
	Var	19	1	84	-	0,514
Evre	Erken	85	1	95	-	
	Geç	9	2	76	80	<b>0,002</b>
KRAS	Negatif	61	1	85	-	
	Pozitif	11	2	75	80	<b>0,050</b>
BRAF11	Negatif	81	1	94	-	
	Pozitif	13	2	82	80	<b>0,008</b>
BRAF 15	Negatif	69	2	94	-	
	Pozitif	25	1	80	80	0,568
VEGF-C	Negatif	54	0	-	-	
	Pozitif	40	3	83	-	<b>0,027</b>
ICAM-1	Negatif	52	-	-	-	
	Pozitif	42	3	83	-	<b>0,031</b>
<b>Toplam hasta</b>		<b>94</b>	<b>3</b>	<b>93</b>	-	

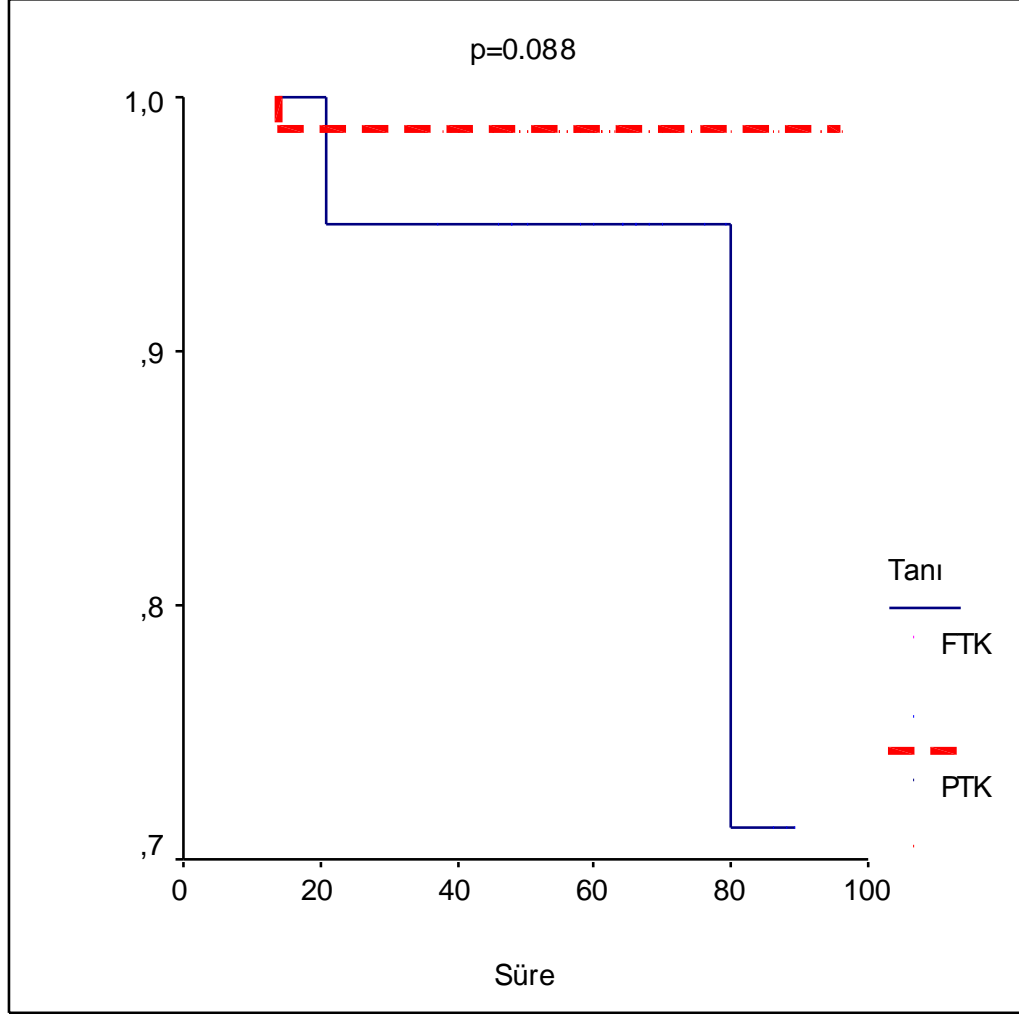
\*Log Rank test



Şekil 23. Tüm hastalarda hastalısız sağkalım eğrisi

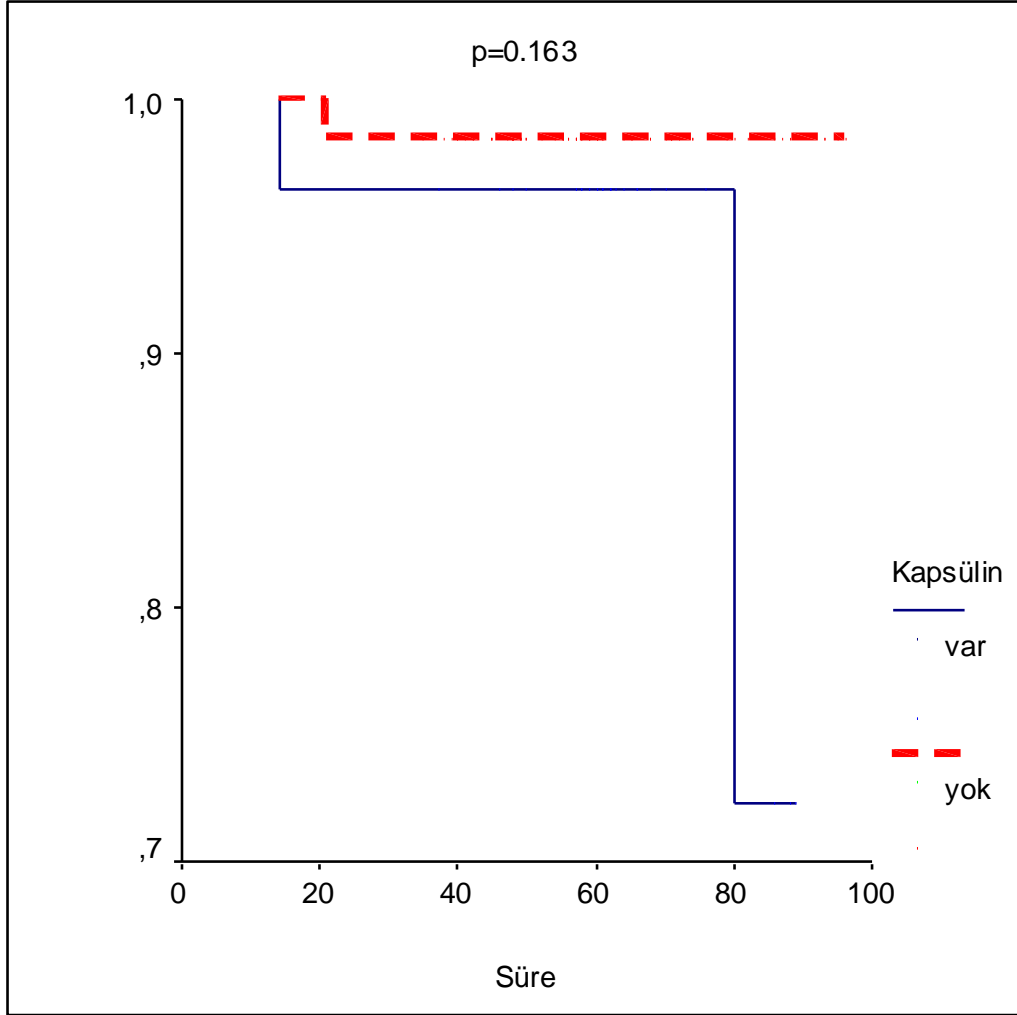


PTK grubunda hastaliksız sağ kalım ortalama 95 ay (% 95 güven aralığı 93-97) saptandı. FTK grubunda hastaliksız sağ kalım ortalama 83 ay (% 95 güven aralığı 76-81) bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,088$ ), (şekil24).



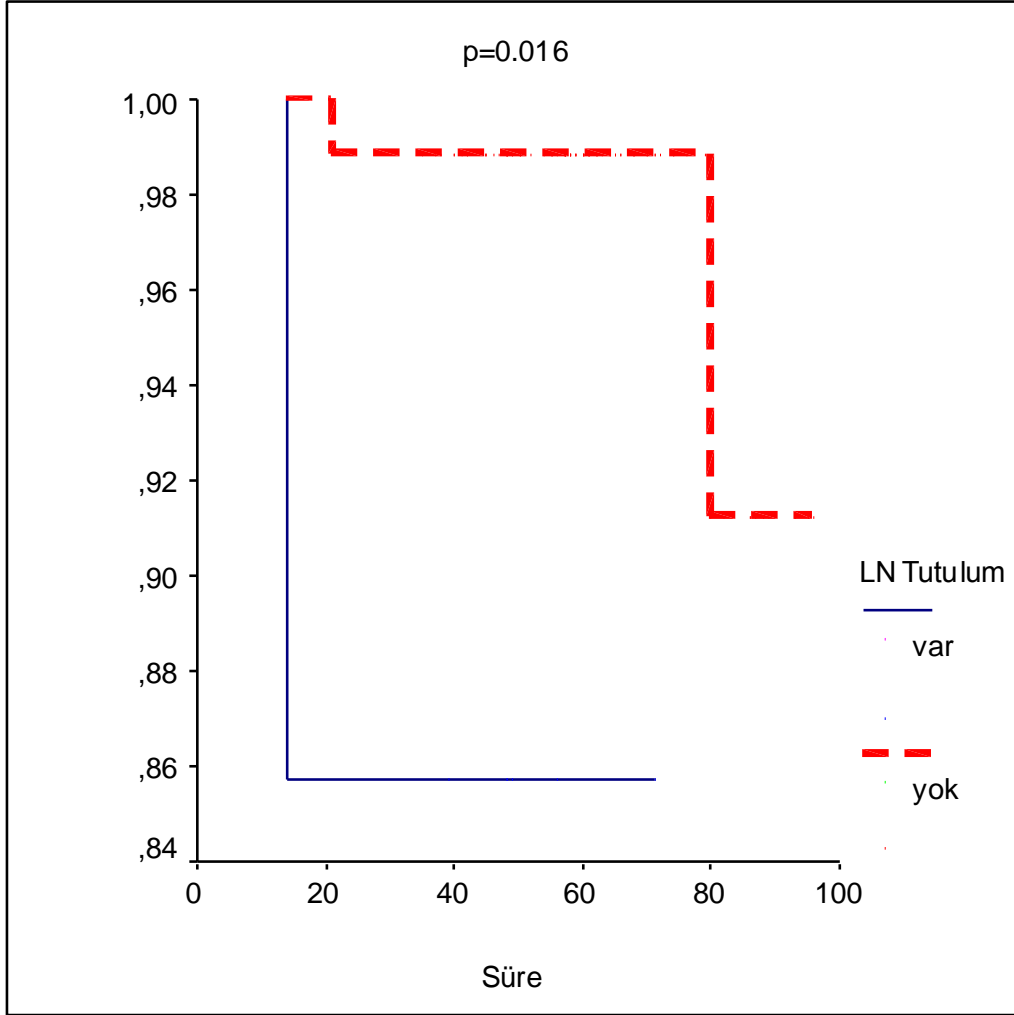
şekil 24. Tanı gruplarına göre hastaliksız sağkalım eğrileri

Kapsül invazyonu olmayan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 95 ay (% 95 güven aralığı 93-97), kapsül invazyonu olan olgularda ise ortalama hastaliksız sağ kalım 84 ay (% 95 güven aralığı 78-90) bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,163$ ) (şekil25).



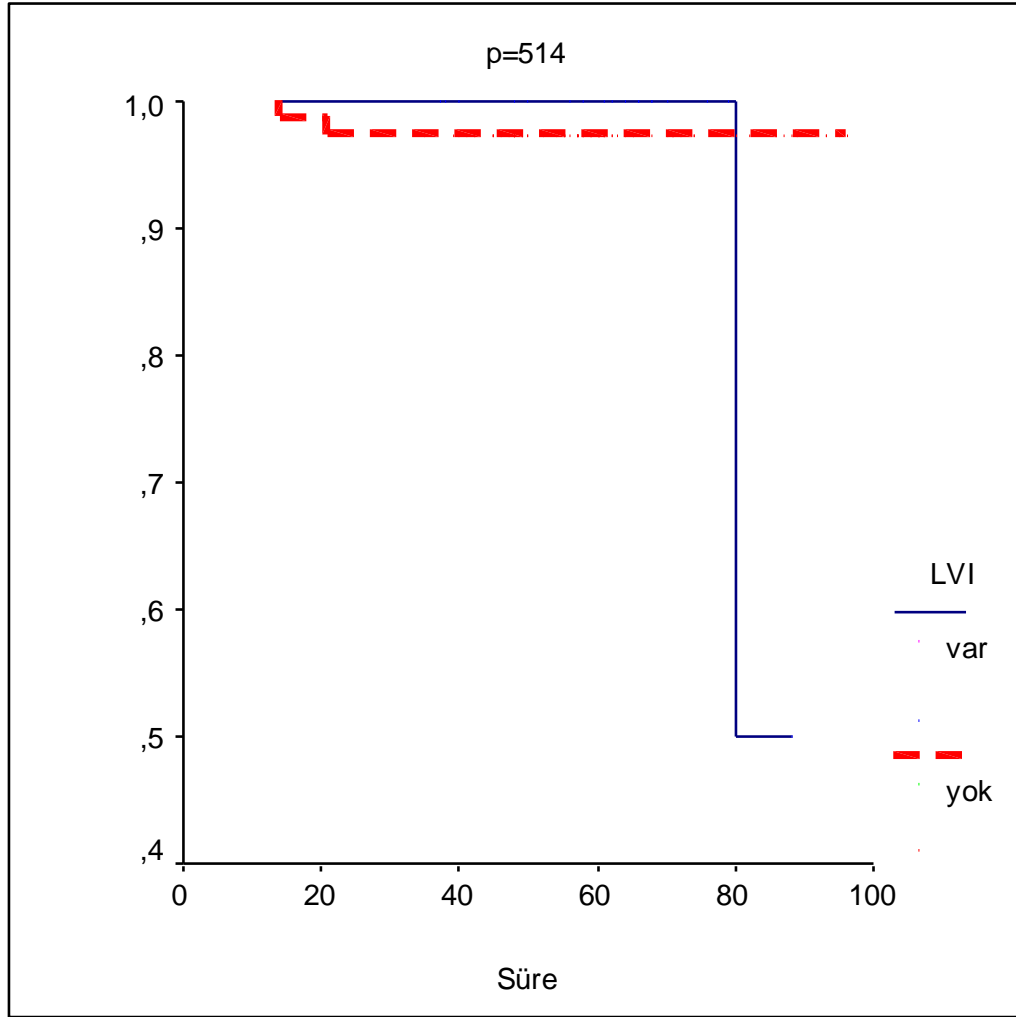
şekil 25. Kapsül invazyonuna göre hastaliksız sağkalım eğrileri

Lenf nodu tutulumu olmayan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 94 ay (% 95 güven aralığı 91-97), lenf nodu tutulumu olan olgularda ise ortalama hastaliksız sağ kalım 63 ay (% 95 güven aralığı 48-78) bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,016$ ) (Şekil26).



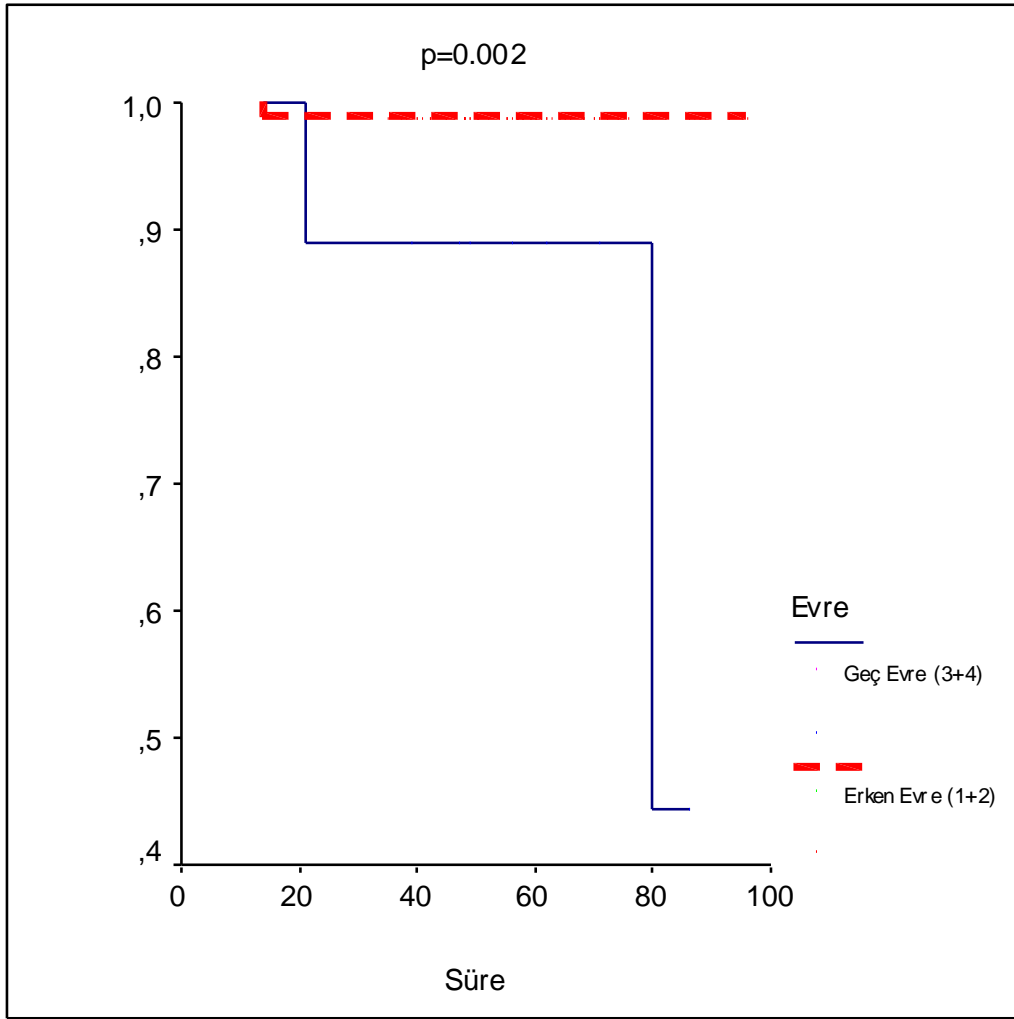
Şekil 26. Lenf nodu tutulumuna göre hastaliksız sağkalım eğrileri

Lenfovasküler invazyon olmayan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 94 ay (% 95 güven aralığı 91-97), lenfovasküler invazyonu olan olgularda ise ortalama hastaliksız sağ kalım 84 ay (% 95 güven aralığı 78-90) bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,514$ ) (Şekil 27).



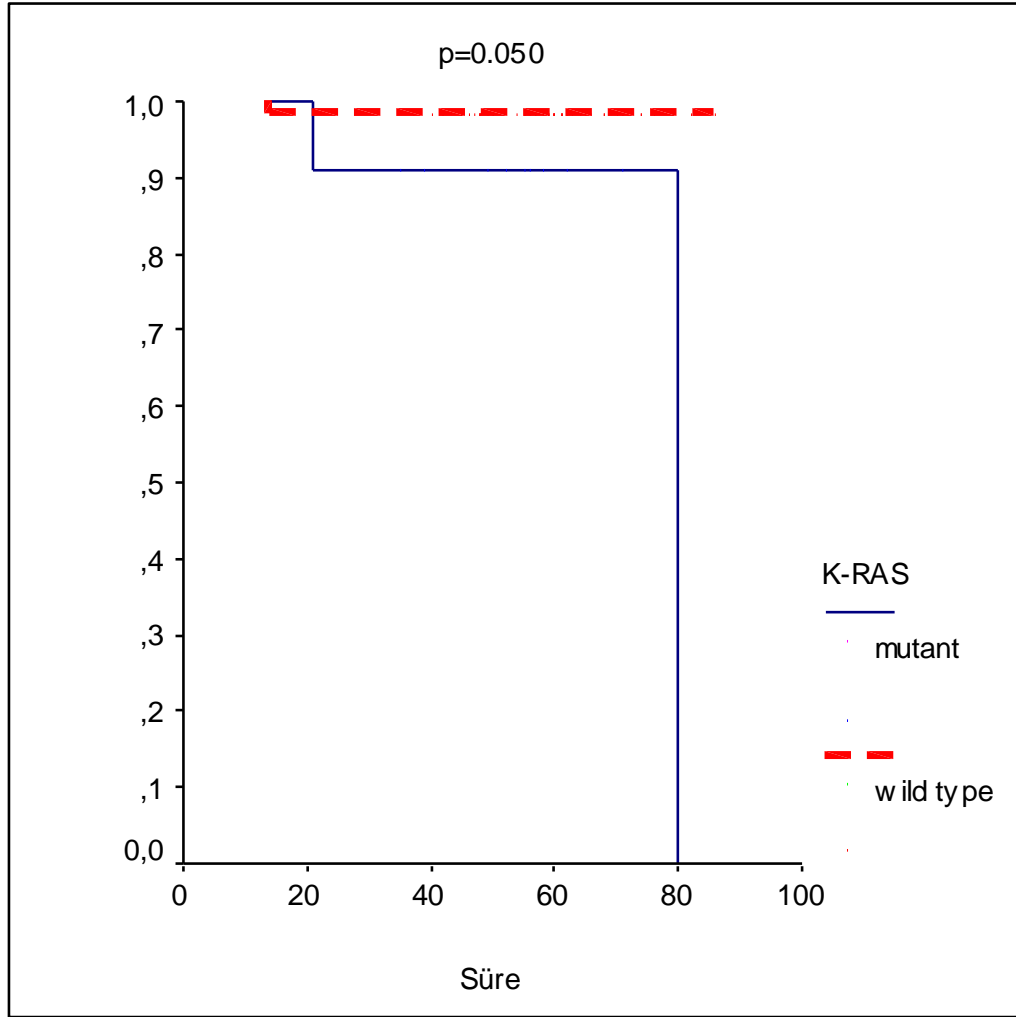
Şekil 27. Lenfovasküler invazyona göre hastaliksız sağkalım eğrileri

Evre ile hastaliksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,002$ ). Erken evre olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 95 ay (% 95 güven aralığı 93-97) iken geç evre olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 76 ay (% 95 güven aralığı 63-89) bulundu (şekil 28).



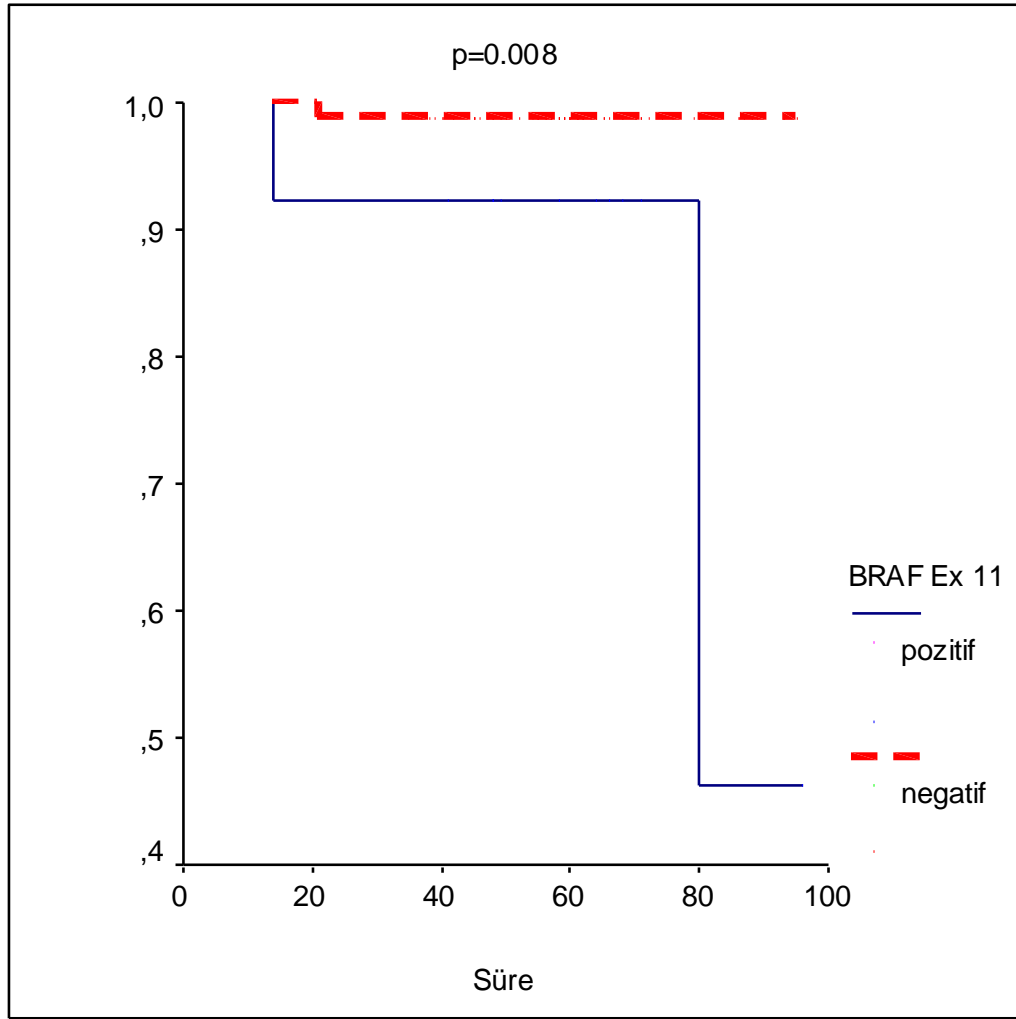
şekil 28. Evre ile hastaliksız sağkalım ilişkisi

KRAS mutasyonu ile hastaliksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,050$ ). KRAS mutasyonu saptanmayan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 85 ay (% 95 güven aralığı 83-87) iken KRAS mutasyonu saptanan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 75 ay (% 95 güven aralığı 60-89) bulundu (şekil 29).



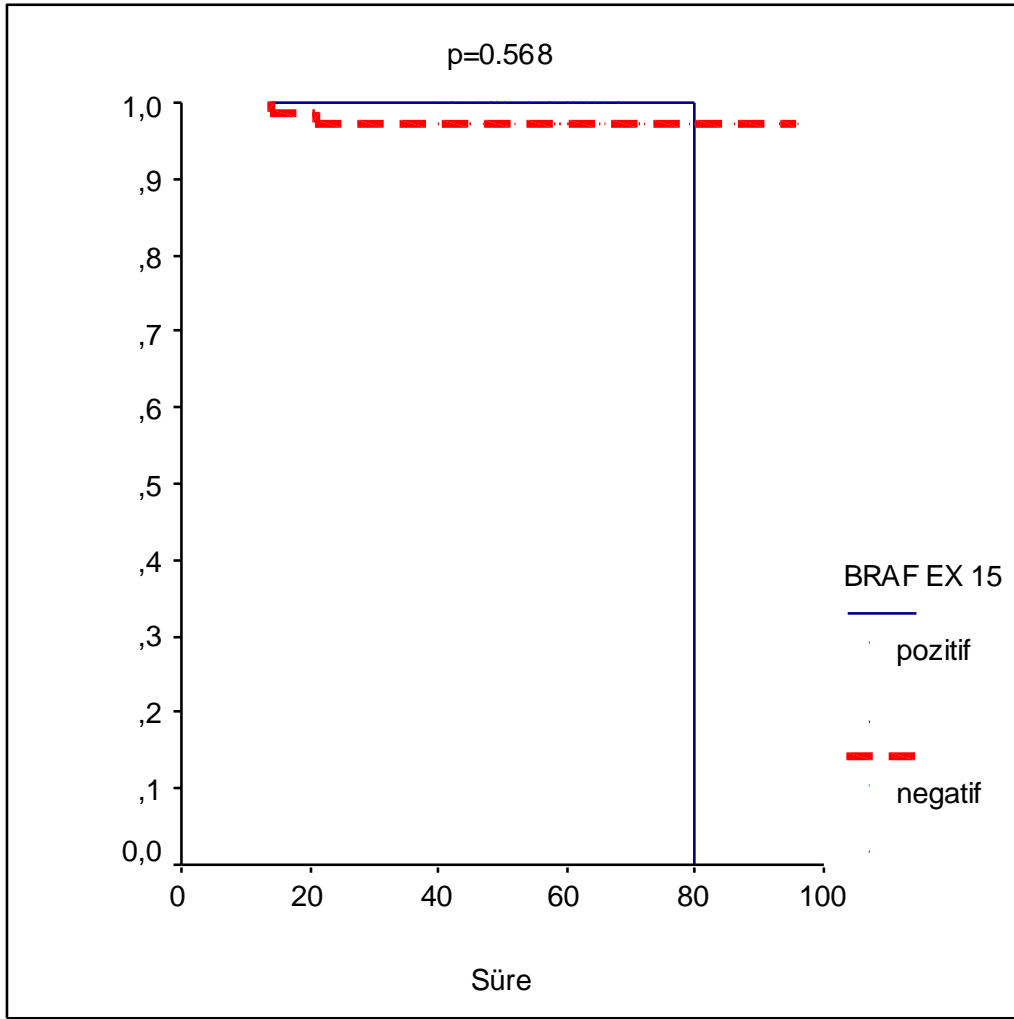
şekil 29. KRAS mutasyonu ile hastaliksız sağkalım ilişkisi

BRAF ekson 11 mutasyonu ile hastaliksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,008$ ). BRAF ekson 11 mutasyonu saptanmayan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 94 ay (% 95 güven aralığı 92-96) iken mutasyon saptanan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 82 ay (% 95 güven aralığı 67-97) bulundu (Şekil 30).



Şekil 30. BRAF ekson 11 mutasyonu ile hastaliksız sağ kalım ilişkisi

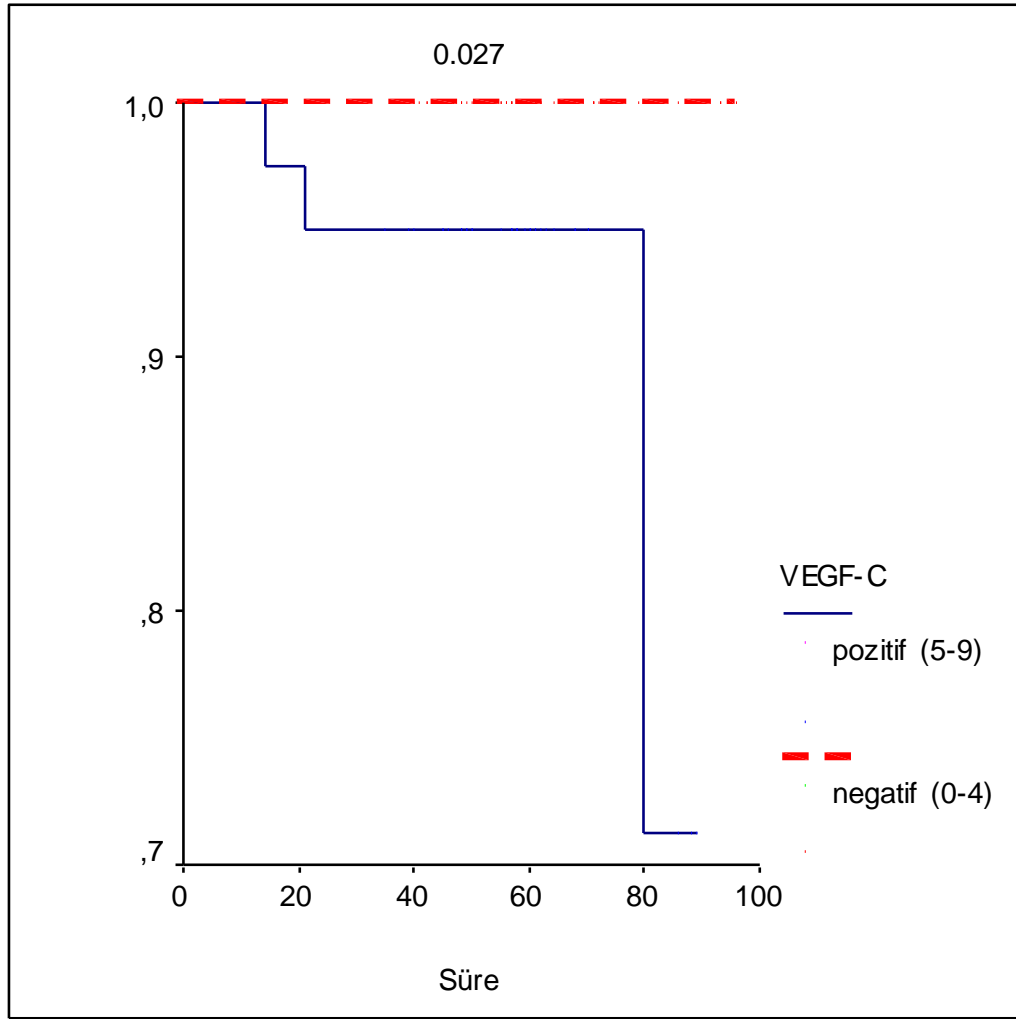
BRAF ekson 15 mutasyonu saptanmayan olgularda ortalama hastalıksız sağ kalım 94 ay (% 95 güven aralığı 91-97) iken mutasyon saptanan olgularda ortalama hastalıksız sağ kalım ise 80 ay (% 95 güven aralığı 80-80) bulundu. BRAF ekson 15 mutasyonu ile hastalıksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,568$ ) (Şekil 31).



Şekil 31. BRAF ekson 15 mutasyonu ile hastalıksız sağkalım ilişkisi

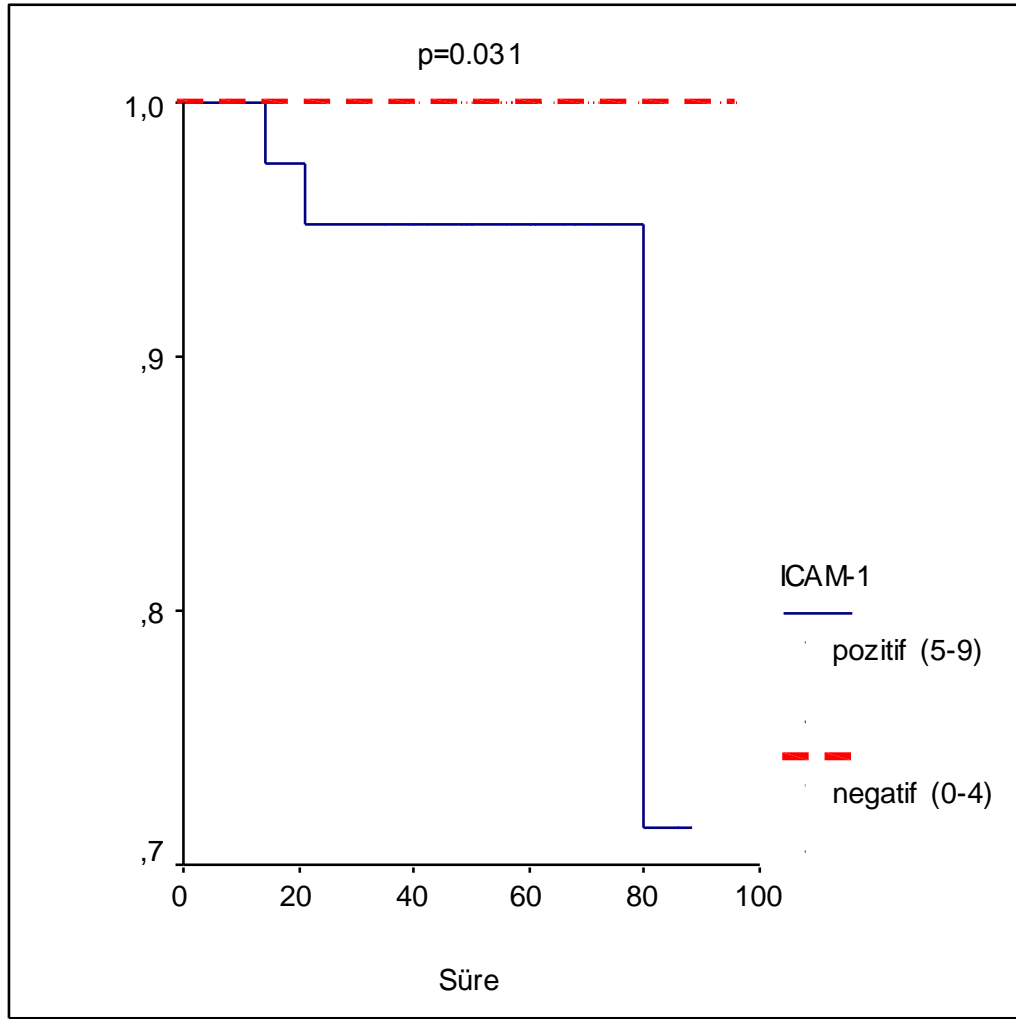


Nüks saptanan olguların 3'ünde de VEGF-C pozitif bulunduğundan VEGF-C negatif saptanan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım verilemedi. VEGF-C pozitif olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 83 ay (% 95 güven aralığı 77-89) bulundu. VEGF-C ekspresyonu ile hastaliksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,027$ ) (Şekil 32).



Şekil 32. VEGF-C ekspresyonu ile hastaliksız sağkalım ilişkisi

Nüks saptanan olguların 3'ünde de ICAM-1 pozitif bulunduğundan ICAM-1 negatif saptanan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım verilemedi. ICAM-1 pozitif olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 83 ay (% 95 güven aralığı 77-88) bulundu. ICAM-1 ekspresyonu ile hastaliksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p=0,031$ ) (Şekil 33).



Çalıştığımız her dört belirtecin (BRAF, KRAS, VEGF-C, ICAM-1) birbiri ile uyum oranı incelendiğinde; hiçbir parametrenin diğeri ile anlamlı bir ilişkisi saptanmadı.

## 5. TARTIŞMA

Tiroid karsinomları en sık görülen endokrin karsinomlardır. Endokrin malignitelerinin % 94'ünden ve endokrin sistem kanserlerindeki ölümlerin % 66'sından sorumludurlar.<sup>1</sup> Tiroid kanserleri gelişmiş ülkelerde daha sık gözlenir. İnsidansı dünyada son 30 yıldır artış göstermektedir.<sup>41</sup> Tiroidde görülen neoplazilerin büyük bölümü primer ve epitelyal kökenli tümörlerdir. Epitelyal tümörler köken aldığı hücre tipine göre; Folliküler hücre kökenli tümörler, C hücre kökenli tümörler, Folliküler ve C hücre kökenli tümörler olmak üzere üç ana gruba ayrılır.<sup>5</sup> Olguların % 95'inden fazlası folliküler hücre kökenlidir. Tiroid tümörlerinin dört temel tipi; Papiller Karsinom, Folliküler Karsinom, Medüller Karsinom ve Anaplastik (Andifferansiye) Karsinom'dur.<sup>6</sup> İyi diferansiye tiroid karsinomlarının % 80-85 'ini papiller, % 15-20'sini folliküler karsinomlar oluşturur.<sup>2</sup>

Tiroid karsinomlarının patogeneğinde eksternal radyasyon maruziyeti, iyot alımının yetersiz ya da fazla olması, otoimmün hastalıklar, hormonal faktörler, genetik sendromlar yer almaktadır.<sup>5,26</sup>

Son yıllarda yapılan çalışmalarda papiller ve folliküler tiroid karsinomların birbirinden farklı moleküler yollardan geçerek ortaya çıktıkları görülmektedir.<sup>6</sup> Genel olarak karsinogenezin temelinde, hücrenin apoptozis, büyümenin kontrolü ve diferansiasyon gibi biyolojik olayları etkileyen mutasyonların aşamalı olarak bir araya gelmesi yer almaktadır. Karsinomların gelişimi sürecinde tümör hücreleri birçok fenotipik özellikler kazanır. Bu değişimler, tümör hücrelerinin hızlı ve sınırsız çoğalmalarına ve çevre dokuya yayılmalarına neden olur. Ayrıca, bu hücreler özgün mikroçevreden bağımsız olarak yaşamını devam ettirme ve metastaz yapma özelliğine sahiptir. Protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin seri mutasyonları farklı mekanizmalar aracılığıyla malign fenotipin oluşumuna katkıda bulunur. Sinyal iletimi yollarını ve sinyal proteinlerini hedef alan onkojenik mutasyonlara sık olarak rastlanmaktadır. Sinyal iletiminde meydana gelen değişimler hücrenin çoğalma ve/veya yaşama işlevlerinin kontrolünü ortadan kaldırır. Böylelikle, onkojenik sinyal iletimi tümör gelişimi ile invazyon/metastaz sürecinde etkin rol oynamaktadır.<sup>6,65</sup>

Karsinogeneziste genomik dengesizlik ve mutasyonlar kadar tümör mikroçevresindeki değişiklikler; anjiogenezis, inflamatuvar hücrelerin tümör alanına

toplanması, immün sistemin yıkıcı etkisinden kaçış ve hücrel enerji mekanizmalarındaki yeniden düzenlenmeleri de rol oynar.<sup>11</sup>

Diferansiye tiroid karsinomlarının patogeneğinde sinyal yollarının rolü oldukça önem kazanmıştır. Biz de bu çalışmada karsinogenezis yolağında birlikte hareket etmeleri nedeniyle KRAS ve BRAF onkogen mutasyonlarını ve VEGF-C ve ICAM-1 ekspresyonlarını, klinik ve histopatolojik verilerle karşılaştırarak, tiroid karsinomlarında bu belirleyicilerin prognozu belirlemedeki rolünü araştırdık.

Tiroid karsinomları ile ilgili birçok çalışma yapılmış, klinikopatolojik prognostik parametreler tanımlanmış ve skorlama sistemleri geliştirilmiştir. AGES (Age, Grade, Extent, Size) ve MACIS (Distant Metastasis, Age, Completeness of Resection, Local Invasion, Size) AJCC-TNM (American Joint Committee on Cancer staging system of tumor size, nodal metastases ,distant metastases) bunlardan bazılarıdır.<sup>50,124,125</sup> Çalışmadan çalışmaya geçmekle birlikte, hastanın yaşı, cinsiyeti, tümör tipi, tümör çapı, tiroid kapsülü dışı yayılım, lenfovasküler invazyon, lenf nodu ve uzak metastaz varlığı klinik ve histopatolojik olarak kullanılan prognostik parametrelerdir.

Tiroid karsinomları kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir.<sup>7</sup> Papiller ve folliküler karsinomun her ikisinde de kadın/erkek oranı 2/1 ile 4/1 arasında değişmektedir.<sup>2</sup> Diferansiye tiroid karsinomlarında ortalama tanı yaşı kadınlarda daha erkendir. Papiller tiroid karsinomunda kadınlarda ortalama tanı yaşı 40-41 iken; erkeklerde 44-45 yaşlarıdır. Folliküler tiroid karsinomunda ortalama tanı yaşı kadınlarda 48 iken erkeklerde 53'tür.<sup>2,126</sup>

Dijkstra ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada 190 tiroid karsinom olgusu değerlendirilmiş, yaş ortalaması 50 bulunmuştur. PTK sıklığı kadınlarda erkeklere göre istatistiksel olarak daha fazla saptanmıştır ( $p=0,001$ )<sup>127</sup>. Çalışma grubumuzda olguların 73'ü (% 77,7) kadın, 21'i (% 22,3) erkek idi. Kadın/erkek oranı 3,4 bulundu. PTK grubunun % 70,7'si kadın, % 20,3'ü erkekti. FTK grubunun % 70'i kadın, % 30'u erkekti. Her iki grupta literatüre uygun olarak kadınlarda daha sık saptandı. Çalışmamızda, olguların yaş ortalaması (ortalama yaş $\pm$ SD) 49,2 $\pm$ 11,6 (28-81) idi. PTK'lu olguların yaş ortalaması 48,9 $\pm$ 10,6 (28-71), FTK'lu olguların yaş ortalaması 50,2 $\pm$ 15,2 (28-81) idi ( $p=0,948$ ).

Merhy ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları çalışmada 1976-1999 yılları arasında tanı almış 117 diferansiye tiroid karsinom olgusu değerlendirilmiş, olgularda ortalama tanı yaşı 49 (16-80) olarak saptanmıştır. Tümör çapı ortalaması 2,5 (1,2-10) cm bulunmuştur. % 16 olguda ekstra tiroidal yayılım, % 44 olguda kapsül invazyonu saptanmıştır.<sup>128</sup> Çalışmamızda tüm olguların tümör çapı ortalaması 1,7±1,1 cm bulunmuştur. PTK'lu olguların ortalama tümör çapı 1,5±1,1 cm iken, FTK'lu olguların ortalama tümör çapı 2,1±1,0 cm'dir.. Tümör çapı ortalaması sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

Papiller karsinom, lenfatiklerle yayılma eğilimindedir. Lenfatik yayılım tümör boyutu çok küçük olsa da papiller tiroid karsinomunun başlangıç bulgusu olabilir. Folliküller tiroid karsinomunda ise kapsül ve/veya damar invazyonu görülür.<sup>2</sup> Machens ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 500 diferansiye tiroid karsinom olgusu değerlendirilmiş ve olguların 366'sının PTK (% 73,2), 134'ünün FTK (% 26,8) olgusu olduğu belirlenmiştir. Lenf nodu metastazı oranı, % 40,2 olan PTK grubunda, FTK grubundan (% 9) anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p=0,001). Ekstra tiroidal yayılım ve multifokalite de PTK grubunda FTK grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p değeri sırası ile 0,001, 0,001).<sup>129</sup>

Çalışmamızda tiroid kapsülü invazyonu 28 olguda (% 29,8) mevcuttur. PTK grubunda kapsül invazyonu oranı % 17,6 iken FTK grubunda bu oran % 75'dir (p=0,001). Multifokalite 35 olguda (% 37,2) saptanmış olup PTK grubunda % 44,6, FTK grubunda % 10'dur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,005). Bir önceki cümlede söz edilen literatüre uygun olarak gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır. Çalışma grubumuzda lenf nodu tutulumu 7 olguda (% 7,4) saptanmıştır. PTK grubunda lenf nodu tutulumu oranı % 8,1 iken FTK grubunda bu oran % 5'dir. Ekstra tiroidal yayılım 5 (% 5,3) olguda mevcuttur. PTK grubunda ekstra tiroidal yayılım oranı % 5,4, FTK grubunda % 5'dir. Lenf nodu tutulumu ve ekstratiroidal yayılım açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p değerleri sırası ile 0,639, 0,943).

Beasley ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 522 diferansiye tiroid karsinom olgusunun ortalama 56 ay takipleri ile elde edilen veriler sunulmuş, lenf nodu tutulumu saptanan olgularda, tutulum olmayan olgulara oranla hastalısız sağ kalım süresinin belirgin olarak daha kısa olduğu vurgulanmıştır.<sup>131</sup> Çalışmamızda da literatüre uygun

olarak lenf nodu tutulumu olmayan olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 94 ay, lenf nodu tutulumu olan olgularda ise ortalama hastaliksız sağ kalım 63 ay olarak saptanmıştır (p=0,016).

Hashimoto tiroiditinin (HT), diferansiye tiroid karsinomları ile özellikle de PTK'ları ile ilişkisi çeşitli klinikler tarafından araştırılmıştır. Literatürde HT ile diferansiye tiroid karsinomu arasında % 29'dan % 45,7'ye varan yüksek beraberlik oranları görülebilmektedir.<sup>130</sup> Cipolla ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada PTK'lu 89 olguyu incelemişler ve PTK'da HT insidansını % 27 olduğunu göstermişlerdir.<sup>132</sup> Çalışmamızda HT 27 (% 28,7) olguya eşlik ediyordu. PTK grubunda HT oranı % 31,1 iken FTK grubunda bu oran % 20 idi (p=0,331). Bulgular literatürle uyumludur.

Çalışma grubumuzda olguların 65'i (% 69,1) Evre I, 20'si (% 21,3) Evre II, 4'ü (% 4,3) Evre III, 5'i (% 5,3) Evre IV'dür. PTK'ların % 73'ü evre I, % 18,9'u evre II, % 5,4'ü evre III ve % 2,7'si evre IV iken FTK'larda bu oranlar sırası ile % 55, % 30, % 0, % 15'dir. Evre ile PTK ve FTK grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır (p=0,066). Erken evre olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 95 ay (93-97) iken geç evre olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 76 ay (63-89) olarak saptanmıştır. Evre ile hastaliksız sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (p=0,002). Yani evre arttıkça sağkalım süresi azalmaktadır.

Tiroid karsinomlarında prognozun değerlendirilmesinde halen önemli ve ön planda olan klinik ve histopatolojik parametreler yanında, yeni teknolojik gelişmeler ışığında tümörün moleküler özelliklerinin de prognoz üzerinde etkileri olduğunu bildiren birçok çalışma bulunmaktadır.

Tiroid kanserinde; PI3K/Akt ve MAP kinaz yolları tümörögenizde önemli yollarlardır. RAS her iki yolda da görev almaktadır. Normal RAS protoonkogeni GDP'ye bağlı halde inaktiftir; hücrelerin büyüme faktörü ile uyarılması sonucu GDP, GTP'ye dönüşür ve aktif RAS oluşur.<sup>6</sup> RAS protoonkogeni sıklıkla nokta mutasyonu ile aktive olur. Mutant RAS protoonkogeni, aktif RAS-GTP formunda kalır. Onkojenik RAS, PI3K/Akt ve MAP kinaz yollarını aktive ederek apoptozisi baskılar, hücrenin kontrolsüz uyarılmasına neden olarak karsinogenez sürecinde kritik etkenlerden birini oluşturur.<sup>65</sup> Genel olarak kanserlerde görülen sıklığı ortalama % 30 civarındadır.

Otuzun üzerinde değişik RAS geni tespit edilmiş olmakla beraber en önemli üyeler KRAS, HRAS ve NRAS'tır.<sup>73</sup> Tiroid kanserinde farklı tipteki RAS mutasyonlarının farklı onkojenik rollerinin olup olmadığı ve farklı sinyal yollarını kullanıp kullanmadığı halen çok net bilinmemektedir.<sup>67</sup> Bhajjee ve arkadaşları 2011'de 513 tiroid karsinomu olgusunun moleküler analizini yaptıkları çalışmada tümöre neden olan RAS geni nokta mutasyonları en sık KRAS geninde 12-13. kodonda, NRAS ve HRAS genlerinde 61. kodonda bulunmuştur.<sup>8</sup>

Nikiforov'da 2011'de yaptığı çalışmada RAS mutasyonunun PTK'da % 10-20, FTK'da % 40-50, folliküler adenomlarda ise % 20-40 olduğunu bildirmiş ve KRAS kodon 12-13 mutasyonu baskın olmak üzere daha az oranda HRAS ve NRAS kodon 61'de mutasyon olduğunu belirtmiştir.<sup>133</sup>

Fakat buna karşın literatürde tiroid karsinomlarında NRAS mutasyonlarının daha sık olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Marina ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada 33 FTK, 23 folliküler adenom olgusu değerlendirilmiş ve RAS mutasyonu, FTK grubunda % 49, folliküler adenom grubunda % 48 bulunmuştur. Mutasyonlarda en sık NRAS kodon 61 mutasyonu, daha az oranda HRAS kodon 61 ve KRAS kodon 12 mutasyonu saptandığı vurgulanmıştır.<sup>62</sup>

Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 31 FTK olgusunun 3'ünde (% 10) RAS mutasyonu pozitifken, 141 PTK olgusunda ve 61 folliküler adenom olgusunda RAS mutasyonu negatif sonuç vermiştir (% 0).<sup>134</sup> Myers ve arkadaşları ise 2012'de yaptıkları çalışmada moleküler karsinogenezis sürecinde RAS mutasyonları içinde en baskın mutasyon grubunun KRAS mutasyonları olduğunu belirtmişler ancak tiroid karsinomu patogeneğinde NRAS mutasyonunun daha sık saptandığını bildirmişlerdir. Tiroid karsinomlarında saptanan KRAS mutasyonunun tümörün agresifliği ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.<sup>135</sup>

Garcia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tiroid karsinomlarında KRAS, NRAS, HRAS mutasyonları değerlendirilmiştir. 49 iyi diferansiye tiroid karsinom olgusunun % 8,2'sinde (n=4) RAS mutasyonu saptanmış. Mutasyon oranı PTK grubunda % 6,7 (n=2), FTK grubunda % 10,5 (n=2) bulunmuştur. İki KRAS kodon 13 mutasyonu (% 50), bir HRAS kodon 13 mutasyonu (% 25) ve bir NRAS kodon 61 mutasyonu (% 25) saptanmıştır.<sup>48</sup>

Çalışmamızda 72 diferansiye tiroid karsinom olgusunun 11'inde (% 15,3) mutasyon pozitifdir. PTK olgularında % 16,1, FTK olgularında % 12,5 oranında KRAS mutasyonu saptanmıştır. Mutasyonlar 7 olguda ekzon1'de 12. kodonda, 3 olguda ekzon1'de 13. kodonda ve 1 olguda ekzon 2'de 61.kodonda saptanmış ve bulgular literatür ile uyumlu oranlardır.

Miller ve arkadaşlarının 2009'da yaptıkları çalışmada RAS mutasyonun tiroid karsinomunun seyrinde kötü prognostik faktör olduğu ve daha agresif seyirle ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>136</sup> Yine Garcia-Rostan ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı çalışmada; hem iyi diferansiye hem de andiferansiye tiroid kanserleri çalışmaya alınmış, üç tip RAS mutasyonu da tüm hastalarda değerlendirilmiştir. RAS mutasyonu saptanan olgularda ekstra tiroidal yayılım oranı % 44,3, lenfovasküler invazyon oranı % 40, nüks oranı % 50 bulunmuş ve bu parametreler ile RAS mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p değerleri sırası ile 0,040, 0,014, 0,014'tür.). KRAS mutasyonu saptanan olgularda ekstra tiroidal yayılım oranı % 31,1, lenfovasküler invazyon oranı % 32, nüks oranı % 44,1 bulunmuştur ( p değerleri sırası ile 0,070, 0,060, 0,020'dir). Bu parametrelerden sadece KRAS mutasyonu ile nüks oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ve RAS mutasyonlarının agresif tümör davranışı ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu ve prognostik belirleyici olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.<sup>48</sup>

Biz de çalışmamızda KRAS mutasyonlarının lenfovasküler invazyon, multifokalite, Hashimoto tiroiditi varlığı, lenf nodu tutulumu, ekstra tiroidal yayılım, kapsül invazyonu, evre, nüks gelişimi gibi önemli prognostik parametrelerle ilişkisini araştırdık ve şu sonuçlara ulaştık; lenf nodu tutulumu KRAS mutasyonu negatif grupta % 6,6 iken, KRAS mutasyonu pozitif grupta % 27,3'tü. Böylece KRAS mutasyonu ile lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,033). Öte yandan KRAS mutasyonu ile multifokalite, Hashimoto tiroiditi varlığı, lenfovasküler invazyon, ekstra tiroidal yayılım, kapsül invazyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırası ile 0,507, 0,111, 0,908, 0,761, 0,247'dir).

Evre ile KRAS mutasyonu arasındaki ilişkiyi incelediğimizde ise mutasyon saptanmayan grupta olguların % 93,4'ü erken evrede iken, % 6,6'sının ileri evrede olduğu görülmüştür. KRAS mutasyonu saptanan grupta ise olguların % 54,5'i erken



evrede iken , % 45,5'i ileri evre olgulardır. Bu da KRAS mutasyonu ile ileri evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir (p=0,001).

Yine çalışmamızda KRAS mutasyonu saptanan olguların % 18,2'sinde mutasyon saptanmayan olguların % 1,6'sında nüks gelişmiştir. Bu ilişki de istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,11).

KRAS mutasyonu ile hastalısız sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,050). KRAS mutasyonu saptanmayan olgularda ortalama hastalısız sağ kalım 85 ay iken KRAS mutasyonu saptanan olgularda ortalama hastalısız sağ kalım ise 75 ay bulunmuştur.

Çalışmamızda saptanan tüm bu bulgular KRAS mutasyonu ile agresif tümör davranışı ve kötü prognoz arasındaki ilişkiyi desteklemektedir.

Tiroid karsinomlarında RAS protoonkogeni kadar BRAF geni de önem kazanmaktadır. Her iki gen de MAP kinaz sinyal yolağı üzerinden etki etmekte ve bu tümörün patogenezinde merkezi rol üstlenmektedir. MAP kinaz sinyal yolağı reseptör aracılı sinyalin hücre membranından alınarak hücre içine iletiminden sorumlu bir kinaz kaskadı olarak çalışmaktadır ve hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozu içeren fizyolojik süreçlerde rol almaktadır. Hormonlar, büyüme faktörleri, farklılaşma faktörleri bu yolağı kullanmaktadır. Sinyal RAS aktivasyonu ile başlar. Aktive olan RAS Raf<sup>1</sup>; Raf 'da diğer kinazları aktive eder ve sinyalin nükleusa ulaşması sağlanır. İnsan tümörlerinin % 30'unda RAS-RAF-MAP kinaz sinyal yolağının aşırı aktivasyonu söz konusudur.<sup>65</sup>

BRAF, RAF kinaz ailesinden bir protoonkogendir. Tüm RAF kinazların içinde MAP kinaz yolağının en güçlü aktivatörü BRAF'tır.<sup>8</sup> Kinaz domainindeki BRAF aktive edici yanlış anlamlı nokta mutasyonları 11. ve 15. ekzonlarında yer alır. T1799A mutasyonu BRAF proteininde V600E aminoasit değişikliğine ve mutant BRAF kinaz'ın onkojenik aktivasyonuna yol açar. T1799A transversiyon mutasyonu BRAF geninde en sık görülen mutasyon olup, BRAF mutasyonlarının % 80'den fazlasından sorumludur.<sup>77</sup> 1799 pozisyonunda Timin→Adenozin transversiyonu sonucunda 600 pozisyonunda valin yerine glutamat geçer. V600E mutasyonu BRAF'ı sürekli aktif hale getirir.<sup>8</sup> Onkojenik hale gelen BRAF, MAP kinaz sinyal yolağının sürekli aktifleyerek hücrenin kontrolsüz uyarılmasını sağlar.

BRAF mutasyonlarının insan kanserlerinde değişik sıklıklarda bulunduğu bildirilmiştir. Davies ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları çalışmada 599 kanser olgusu incelenmiş. Malign melanomlarda % 59, gliomlarda % 11, kolorektal karsinomlarda % 18, akciğer adenokarsinomlarında % 3, sarkomlarda % 9, over karsinomlarında % 4, meme karsinomlarında % 2, hepatosellüler karsinomlarda % 14 BRAF mutasyonları saptanmış, karsinogenezis s¼recinde BRAF protoonkogen mutasyonunun ¼nemi vurgulanmıştır.<sup>77</sup>

BRAF protoonkogeni, papiller tiroid kanserinin patogenezinde de rol almaktadır. Papiller tiroid karsinomunda % 40-45 oranında BRAF mutasyonu bildirilmiş, follik¼ler karsinom ve nod¼l oluşumunda rol¼ gösterilmemiştir.<sup>8,9</sup>

Nikiforov ve arkadaşları yaptıkları çalışmada BRAF mutasyonunu PTK'da % 40 bulmuşlar, FTK'da mutasyon bildirmemişlerdir. alışmalarında en sık BRAF V600E mutasyonu bulmuşlar, olguların yalnızca % 1-2'sinde BRAF K601E nokta mutasyonu saptamışlardır.<sup>133</sup> Kimura ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada 78 PTK olgusu incelenmiş, BRAF mutasyon oranı % 35,8 bulunmuştur.<sup>10</sup>

Bunun yanında literat¼rde tiroid follik¼ler karsinom patogenezinde de BRAF mutasyonunun rol alabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır.<sup>137</sup> Barollo ve arkadaşlarının 2013 yılında İİAS uygulanan 2131 olguda yaptıkları çalışmada malignite tanısı almış olguların % 50'sinde BRAF mutasyonu saptanmış. Çalışmada PTK'da % 30,2, FTK'da % 1,6 (n=34) oranında BRAF mutasyonu bildirilmiştir.<sup>137</sup>

Çalışmamızda olgularımızda BRAF mutasyon oranı % 36,1 bulundu. BRAF mutasyon oranı PTK grubunda % 33,8, FTK grubunda ise % 40 saptandı. FTK'da mutasyon oranındaki bu artış olgu sayısı ile ilişkili olabileceği gibi çevresel veya genetik varyasyonumuza bağlı da farklı sonuç vermiş olabilir. Sonuçlarımızın teknik problemlerle ilişkili olduğunu d¼ř¼nmemekteyiz. Bunun nedeni de, uygulanan PCR y¼nteminin hem "RT-PCR" hem de "in-hause" metod ile çalışılıp sonuçların bire bir eşit bulunmasıdır. Daha net verilere ulaşmak için farklı merkezlerden yapılacak daha geniş serilere gereksinim vardır.

Moses ve arkadaşları çalışmalarında 453 İİAS değerlendirilmiş ve 27 olguya malignite ř¼phesi tanısı verilmiştir. Malignite ř¼pheli olguların yayma preparatlarına uygulanan mutasyon analizinde 10 olguda BRAF V600E mutasyonu, 3 olguda RET/PTC, 2 olguda ise NRAS mutasyonu saptanmıştır. Histopatolojik incelemede ise

olguların 13'ü benign, 14'ü malign (hepsi PTK) tanısı almıştır. Genetik analizinin sensitivitesi % 12, spesifitesi % 98 belirlenmiştir. Sonuç olarak İİAS'de malignite şüpheli olgularda cerrahi öncesi mutasyon analizinden yararlanılabileceği vurgulanmıştır.<sup>138</sup> Bu konu ile ilgili Musholt, Benedetto, Barollo gibi yazarların da benzer sonuçlara ulaştığı görülmektedir.<sup>137,139,140</sup>

Çalışmamızda BRAF ekzon 15 ve 11 mutasyonları ile lenfovasküler invazyon, multifokalite, ekstra tiroidal yayılım, Hashimoto tiroiditi varlığı, evre, nüks gelişimi, hastaliksız sağkalım oranları arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Buna karşın lenf nodu metastazı BRAF ekzon 11 mutasyonu pozitif olgularda % 23,1, negatif olgularda ise % 4,9 bulunmuştur (p=0,021). Yine BRAF ekzon 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun ikisinde (% 15,4), mutasyon saptanmayan 81 olgunun birinde (% 1,2) nüks gelişmiş olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,007). BRAF ekzon 11 mutasyonu ile hastaliksız sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (p=0,008). BRAF ekzon 11 mutasyonu negatif olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım 94 ay iken mutasyon pozitif olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 82 ay'dır.

Literatürde de BRAF mutasyonunun tümör agresifliği ile ilişkisini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Xing ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BRAF mutasyonunun kapsüler invazyon, lenf nodu metastazı ve nüks gelişimi ile ilişkisi belirtilmiş, klinik progresyon açısından önemi vurgulanmıştır.<sup>141</sup> Elisei ve arkadaşlarının 2008 yılındaki çalışmalarında ortalama 15 yıl takip edilen 102 PTK olgusundan 38'inde (% 37,3) BRAF mutasyonu pozitif saptanmıştır. BRAF mutasyon pozitifliğinin yaş, ileri evre, lenfovasküler invazyon ile ilişkisi bulunmuştur. Nüks saptanan ya da ölen PTK olgularında BRAF mutasyon oranı % 68,4 iken, diğer olgularda BRAF mutasyon oranı % 30,1 olarak saptanmıştır (p=0,002). Bu çalışma BRAF mutasyonunun yalnızca kötü prognostik faktörlerle değil azalmış yaşam süresi ile de ilişkisi olduğunu gösteren ilk çalışmadır. Bu açıdan bizim çalışmamızda da saptanan agresif tümör davranışı ile ilişkili parametrelere destek veren önemli bir araştırmadır.<sup>142</sup>

Benzer bir çalışmada Lupi ve arkadaşları 500 PTK olgusunda BRAF V600E ekzon 15 mutasyonunu incelemiş ve % 43,8 oranında mutasyon saptamıştır. BRAF mutasyonu ile ekstra tiroidal yayılım (p=0,0001), multifokalite (p=0,0026), lenf nodu metastazı (p=0,0009), ileri evre (p=0,0006) ve kapsül invazyonu arasında ilişki

bulunmuştur ve BRAF mutasyonunun PTK'da invaziv tümör gelişimi ile ilişkili olduğu yayınlanmıştır.<sup>143</sup>

Diferansiye tiroid karsinomları iyi prognoza ve yüksek yaşam süresi oranlarına sahip olmalarına rağmen bilindiği gibi bu hastalıkların % 10-15'inde başlangıç tedavisi (total tiroidektomi ve cerrahi sonrası I<sup>131</sup> ablasyonu) ile tam kür sağlanamamaktadır. Bu hastalıklarda genellikle daha agresif tedavi planları gerekmektedir.<sup>144</sup> Özellikle "mikrokarsinom" olup rastlantısal olarak saptanan ve bu nedenle daha az önemsenabilen olgularda yüksek risk faktörlerinin erken dönemde belirlenmesi çok önemlidir.

Çalışmamızda BRAFV600E mutasyonunun kötü gidiş ile ilişkisi ortaya konmuştur. Burada 'kötü gidiş' sözü ile belirtmek istediğimiz yalnızca tedaviyi zorlaştıran yüksek risk faktörlerine sahip olmak değil aynı zamanda hastanın yaşam süresinin kısalmasıdır.

Konağın vasküler sistemine girmek ve tümöre kan kaynağı sağlamak, tümör büyümesi ve yayılımı için hız kısıtlayıcı aşamalarıdır. Tümör anjiogenezisi ve lenfanjiogenezisi, malign sürecin en önemli basamaklarını oluşturur ve tümör gelişimi ve yayılımı için gereklidir.

Vasküler endotelial büyüme faktörü ve reseptörleri tümörle ilişkili anjiyogenezde ve lenfanjiogenezde görev alan faktörlerdir. VEGF ailesi, 6. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. Bu grup içinde VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve plasental büyüme faktörü (PIGF) bulunmaktadır.<sup>92</sup> VEGF, hücre dışına salgılanarak 3 tirozin kinaz, 2 nörofilin reseptörüne bağlanır(VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, nörofilin-1, nörofilin-2).<sup>93,94</sup> VEGFR3; lenfatik damarların oluşumunu uyarmak için lenfatik endotel hücrelerini etkiler.<sup>6</sup> VEGF-C ve VEGF-D; VEGFR3'e bağlanarak lenfanjiogenezi düzenler. VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'e göre VEGFR-2'yi daha az aktive etmesine rağmen anjiogenezise de katkıda bulunur.<sup>6</sup> VEGF-C, küçük bir öncül molekül olarak üretilir. Daha sonra proteolitik enzimler tarafından N ve C terminal uçları uzaklaştırılarak işleme uğrar.<sup>101</sup> VEGF-C'nin tümörü çevreleyen stromal hücrelerden ve tümör ilişkili makrofajlardan büyük miktarlarda ekspresyonu bildirilmiştir.<sup>104</sup>

Son yıllarda VEGF-C ve VEGFR-3'ün tümör progresyonu ile ilişkisini inceleyen bir çok çalışma bulunmaktadır. Juttner ve arkadaşlarının 2006 yılındaki

çalışmalarında 91 gastrik adenokarsinom olgusu çalışmaya alınmış, VEGF-C ve VEGF-D ekspresyonu ile tümörün ilişkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda VEGF-C ekspresyonunda artış ile lenf nodu metastazı ve hastaliksız sağ kalım arasında anlamlı ilişkiler saptanmış olup p değerleri sırası ile 0,060, 0,044'tür. VEGF-C pozitifliğinin prognoz ile ilişkisi vurgulanmıştır.<sup>105</sup> Gombos ve arkadaşlarının çalışmasında 111 serviks karsinomu olgusu incelenmiş. VEGF-C ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastaz oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunurken (p değerleri sırası ile 0,001, 0,041), evre ile ilişki saptanmamıştır (p=0,66). Bunun yanısıra çalışmada VEGF-C ekspresyonunun serviks karsinomunda genel sağ kalım ile ilişkisi bildirilmiştir (p=0,013).<sup>14</sup> Duff ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, kolorektal karsinomlarda VEGF-C'nin lenfatik yayılım ve hastanın yaşam süresi ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.<sup>13</sup> Su ve arkadaşları 2006 yılındaki çalışmalarında VEGF-C ekspresyonu ve VEGFR-3 ile mide, meme, akciğer, kolorektal bölge, prostat, endometriyum karsinomları ile baş-boyun skuamöz hücreli karsinom, mezotelyoma, kaposi sarkomu ve lösemiler arasında invazyon kapasitesi ve metastaz ile ilişki olduğunu bildirmişlerdir.<sup>106</sup>

2013 yılında Salajegheh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 136 tiroid karsinom olgusunda VEGF-A ve VEGF-C ekspresyonları değerlendirilmiş, VEGF-A ve VEGF-C ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmuştur (p değeri sırası ile 0,005, 0,0001). Tiroid malignensilerinde bu belirteçlerin metastazı belirlemede önemli oldukları vurgulanmıştır.<sup>108</sup>

Bir başka çalışmada 39 PTK ve 20 benign tiroid nodülünde VEGF-C ekspresyonunu karşılaştırılmış. VEGF-C ekspresyonunu PTK'da % 69, benign tiroid nodülünde % 5 pozitif olduğu bulunmuştur. PTK grubunda ise metastatik olgularda daha fazla VEGF-C ekspresyonu olduğunu bildirilmiştir (p=0,004). PTK ile multifokalite, ekstratiroidal yayılım, evre, uzak metastaz arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (p değerleri sırası ile 0,551, 0,119, 0,193, 0,091). Öte yandan lenfovasküler yayılım (p=0,001) ve lenf nodu tutulumu (p=0,004) ile VEGF-C ekspresyonu arasında güçlü bir ilişki olduğu vurgulanmıştır.<sup>109</sup>

Liangh ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada, 113 tiroid karsinom olgusunda VEGF-C'nin de içinde olduğu 16 farklı protein ekspresyonu incelenerek, metastaz ile ilişkileri araştırılmıştır. Olguların 63'ü metastatik (34 PTK, 20 FTK, 9

andiferansiye) iken, 50'sinde metastaz bulunamamıştır (36 PTK, 14 FTK). Ancak VEGF-C'nin lenfatik yayılım ile ilişkisi saptanmıştır. Çalışma sonucunda tiroid karsinomunda VEGF-C'nin metastatik tümör ayırımında erken bir belirteç olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır.<sup>145</sup>

Bizim çalışmamızda VEGF-C ekspresyonu 94 olgunun 40'ında (% 42,6) pozitif, 54'ünde (% 57,4) negatif bulunmuştur. PTK ve FTK olgularında, tanı ile VEGF-C ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $p=0,204$ ). VEGF-C pozitif olgularda lenf nodu tutulumu % 12,5 iken VEGF-C negatiflerde % 3,7 lenf nodu tutulumu saptanmıştır. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,036$ ). Lenfovasküler invazyon ile VEGF-C arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; VEGF-C pozitif olgularda LVİ'nun % 30, VEGF-C negatif olgularda ise bu oranın % 13 olduğu saptanmıştır. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı olup ( $p=0,042$ ), bulgular literatür ile uyumludur. Böylece VEGF-C'nin yüksek ekspresyonunun saptandığı olgularda lenfovasküler invazyon varlığı araştırılırken daha umutlu olunabilir.

Araştırmalar tiroid tümörlerinde VEGF-C ekspresyonunun nodal tutulumu olan olgularda daha yüksek olduğu göstermiş ancak diğer klinik parametrelerle açık bir ilişki bulunamamıştır. Tanaka ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları çalışmada 61 tiroid karsinom olgusunda VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D ekspresyonları klinik ve histopatolojik bulgular ile karşılaştırılmıştır. Yalnızca VEGF-C ile lenf nodu metastazı arasında ilişki bulunmuştur ( $p=0,044$ ). Diğer parametreler (evre, ekstra tiroidal yayılım, yaş, cinsiyet, tümör çapı gibi) ve diğer belirteçler arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır.<sup>146</sup>

Bizim çalışmamızda da, VEGF-C ekspresyonu ile multifokalite ( $p=0,700$ ), Hashimoto tiroiditi varlığı ( $p=0,814$ ), ekstra tiroidal yayılım ( $p=0,082$ ), kapsül invazyonu ( $p=0,062$ ) ve evre ( $p=0,904$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda, nüks gelişen 3 olgunun hepsinde VEGF-C ekspresyonu pozitif bulunması nüks gelişimi ile VEGF-C arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki ortaya çıkarmıştır ( $p=0,041$ ). Yine VEGF-C ekspresyonu ile hastaliksız sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmüştür ( $p=0,027$ ). Bulgularımız literatür ile uyumludur.

Çalışmamızda incelenen bir diğer belirteç son yıllarda çeşitli karsinomlarda agresif gidiş ile ilişkisi pek çok araştırmaya konu olan ICAM-1'dir. ICAM-1'i de inceledik. ICAM-1 bir transmembran glikoprotein olup immünglobulin süper ailesinden bir adezyon molekülüdür. Lökositler, fibroblastlar, endotelial hücrelerden eksprese edilebilir. Ekspresyonu TNF, IF-gamma, IL-2, IL-6 gibi sitokinler tarafından uyarılır. Ayrıca inflamatuvar yanıt sırasında LFA-1 ve MAC-1'de ICAM-1 ekspresyonuna neden olur.<sup>17</sup>

Brooks ve arkadaşlarının 2008 yılındaki çalışmalarında ICAM-1'in meme, prostat, akciğer ve pankreas karsinomlarında tümör yüzeyinde ekspresyonlarının arttığı bulunmuştur. Tümör agresivitesini önlemek ve tedavi amaçlı hedef protein olarak kullanılabilineceği vurgulanmıştır.<sup>123</sup> Yine Hayes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada özellikle solunum, gastrointestinal sistem, üriner sistem ve cilt tümörlerinde, metastaz durumunda ICAM-1 ekspresyonunda artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ICAM-1'in, metastatik kanser hücrelerinin immün hücrelerce lizisini önleyerek kanser metastazında önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Anti-ICAM-1 hedef tedavisinin araştırılması gerektiği vurgulanmıştır.<sup>115</sup>

Buitrago ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları tiroid serisi çalışmasında 74 olguda ( 8 normal tiroid, 5 HT, 14 benign, 39 PTK, 8 lenf nodu metastazı yapmış PTK olgusu) ICAM-1 gen ekspresyonu ve histopatolojik bulgular karşılaştırılmıştır. ICAM-1 ekspresyonu benign lezyonlara oranla malign tümörde belirgin yüksek bulunmuş, lenf nodu metastazı ve ekstra tiroidal yayılım gibi agresif tümör belirteçleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (p değerleri sırası ile 0,01, 0,01). Multifokalite, lenfovasküler invazyon ile ilişki bulunmamıştır (p değerleri sırası ile 0,88, 0,63).<sup>17</sup> Yine Buitrago ve arkadaşları çalışmalarında, tümörde ICAM-1 seviyesinde artış ile hücre yüzeyinde ICAM-1 reseptörlerinin arttığını ve artan ICAM-1 reseptörlerinin hücre yüzeyinde NK reseptörleri ile yarışmaya girdiğini bildirmişlerdir. Bu şekilde ICAM-1 artışının, hücrenin NK maruziyetini azaltarak tümörün progresyonunda rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.<sup>17</sup>

Literatürde tiroid tümörlerinde ICAM-1 ekspresyonu ile ilgili çok fazla araştırmaya rastlanmamıştır. Bizde bu konu ile ilgili kendi sonuçlarımızı saptamayı amaçladık. Çalışmamızda, kapsül invazyonu; ICAM-1 pozitif olgularda % 42,9 iken ICAM-1 negatif olgularda % 19,2 oranında bulunmuştur. Sonuçlar istatistiksel olarak

anlamlıdır ( $p=0,013$ ). Literatür ile benzer şekilde biz de ICAM-1 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon, Hashimoto tiroiditi varlığı, ekstra tiroidal yayılım, lenf nodu tutulumu ve evre arasında anlamlı ilişki belirlemedik. Ancak multifokalite ile ICAM-1 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur  $p=0,016$ . ICAM-1 pozitif olgularda multifokalite % 23,8, ICAM-1 negatif olgularda % 48,1 oranındadır.

Nüks gelişen olgu sayısı 3 olmakla birlikte, bunların hepsinde ICAM-1 ekspresyonu saptanması istatistiksel olarak anlamlı sonuca neden olmuştur ( $p=0,050$ ). ICAM-1 pozitif olgularda hastalısız sağ kalım süresinin daha kısa (83 ay) saptanması da literatür ile uyumlu şekilde, istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,031$ ).

İnsan sağlığı için günümüzün en büyük problemlerinden biri olan karsinogenezis konusunda gün geçtikçe sayıları artan bilimsel çalışmalar yapılmaktadır. Genetik mutasyonlar yanı sıra tümör hücrelerinde ve tümör ile mikroçevresi arasındaki moleküler değişikliklerin ortaya çıkarılması tedavi fırsatları için yol göstericidir.

Çalıştığımız her dört moleküler belirtecin hastalısız sağ kalım, lenfovasküler invazyon, Hashimoto tiroiditi varlığı, ekstra tiroidal yayılım, lenf nodu tutulumu, multifokalite, evre gibi prognostik faktörlerle anlamlı ilişkilerini saptamak, bu çalışmanın da literatürde yer alan benzer araştırmalar ile birlikte DTK ile ilgili gelecekte planlanacak yeni araştırmalara ışık tutabileceğini ve hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarını planlanmada yararlı olabileceğini düşündürmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmaya 94 diferansiye tiroid karsinomu olgusu dahil edilmiştir.
2. Olguların 73'ü (% 77,7) kadın, 21'i (% 22,3) erkektir ve kadın/erkek oranı 3,4'dür.
3. En genç olgu 28, en yaşlı olgu 81 yaşında olup , yaş ortalaması  $49,2 \pm 11,6$ 'dır.
4. Olguların 74'ü (% 78,7) PTK, 20'si (% 21,3) FTK'dur.
5. Tüm olguların 65'i (% 69,1) Evre I, 20'si (% 21,3) Evre II, 4'ü (% 4,3) Evre III, 5'i (% 5,3) Evre IV olup evre ile PTK ve FTK grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ( $p=0,066$ ).
6. PTK ve FTK grupları arasında yaş, cinsiyet, tümör boyutu, lenf nodu tutulumu, Hashimoto tiroiditi varlığı ve ekstra tiroidal yayılım parametreleri ile anlamlı ilişki saptanmamıştır.
7. Olguların 19'unda (% 20,2) LVI olup FTK grubunda LVI oranı (% 65) PTK grubuna oranla daha yüksektir (% 8.1) ( $p=0.001$ ).
8. Olguların % 37,2'sinde multifokalite vardır. Multifokalite PTK grubunda % 44,6, FTK grubunda % 10 bulunmuş ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,005$ ).
9. Kapsül invazyonu 28 olguda (% 29,8) mevcuttur. PTK grubunda tümör kapsül invazyonu oranı % 17,6 iken FTK grubunda bu oran % 75'dir. İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ( $p=0,001$ ).
10. % 89,4 olguya total tiroidektomi ve % 10,6 olguya subtotal tiroidektomi uygulanmıştır. Subtotal tiroidektomi uygulanan olguların hepsi PTK olgusudur. Olguların % 7,4'üne boyun disseksiyonu uygulanmıştır ve tüm olgular RAI tedavisi almıştır.
11. KRAS mutasyonu, çalışılabilen 72 olgunun 11'inde (% 15,3) bulunmuştur. Mutasyonlar ekzon1'de 12. kodonda 7 olguda, ekzon1'de 13. kodonda 3 olguda ve ekzon 2'de 61.kodonda 1 olguda saptanmıştır.
12. PTK'lu olguların % 16,1'inde, FTK'lu olguların % 12,5'inde KRAS mutasyonu saptanmıştır ( $p=0,726$ ).
13. KRAS ekzon 1'de 12. kodon mutasyonunda, % 4,1 oranda glisin yerine valin, % 2,7 oranda glisin yerine alanin, % 1,3 oranda glisin yerine arginin ve glisin

yerine sistein yer değiştirmesi saptandı. KRAS ekzon 1'de 13. kodonda % 1,3 oranda glisin yerine sistein, % 2,7 oranda glisin yerine asparagin ve ekzon 2 kodon 61'de ise glisin yerine histidin (% 2,7) yer değiştirmesi bulunmuştur.

14. Lenf nodu tutulumu KRAS mutasyonu negatif grupta % 6,6 iken, KRAS mutasyonu pozitif grupta % 27,3 bulunmuştur. KRAS mutasyonu ile lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,033).

15. KRAS mutasyonu ile multifokalite, Hashimoto tiroiditi varlığı, lenfovasküler invazyon, ekstra tiroidal yayılım, kapsül invazyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırası ile 0,507, 0,111, 0,908, 0,761, 0,247).

16. KRAS mutasyon pozitifliği ile ileri evre (p=0,001) ve nüks gelişimi (p=0,11) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

17. KRAS mutasyonu ile hastalıksız sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,050). KRAS mutasyonu saptanmayan olgularda ortalama hastalıksız sağ kalım 85 ay iken KRAS mutasyonu saptanan olgularda ortalama hastalıksız sağ kalım ise 75 ay bulunmuştur.

18. Olgularımızda BRAF mutasyon oranı % 36,1 bulunmuştur. BRAF mutasyon oranı PTK grubunda % 33,8, FTK grubunda ise % 40 saptanmıştır.

19. BRAF ekzon 15 mutasyonu ile lenfovasküler invazyon, multifokalite, ekstra tiroidal yayılım, Hashimoto tiroiditi varlığı, evre, nüks gelişimi, hastalıksız sağkalım oranları arasında bir ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırası ile 0,258, 0,527, 0,082, 0,261,0,07, 0,755, 0,788, 0,568).

20. BRAF ekzon 11 mutasyonu ile lenfovasküler invazyon, multifokalite, ekstra tiroidal yayılım, Hashimoto tiroiditi varlığı, evre arasında bir ilişki saptanmamıştır (p değerleri sırası ile 0,307, 0,921, 0,081, 0,071, 0,443).

21. Lenf nodu metastazı BRAF ekzon 11 mutasyonu negatif olgularda % 4,9, pozitif olgularda ise % 23,1 bulunmuştur (p=0,021). Yine BRAF ekzon 11'de mutasyon saptanan 13 olgunun 2'sinde (% 15,4), mutasyon saptanmayan 81 olgunun 1'inde (% 1,2) nüks gelişmiştir. Bu sonuç, istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,007).

22. BRAF ekzon 11 mutasyonu ile hastalıksız sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,008). BRAF ekzon 11 mutasyonu negatif olgularda ortalama hastalıksız sağ kalım 94 ay (% 95 güven aralığı 92-96) iken

mutasyon pozitif olgularda ortalama hastaliksız sağ kalım ise 82 ay (% 95 güven aralığı 67-97) bulunmuştur.

23. Çalışmamızda VEGF-C ekspresyonu % 42,6 pozitif, % 57,4 negatif bulundu. PTK ve FTK olgularında, tanı ile VEGF-C ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (0,204).

24. VEGF-C ekspresyonu ile lenf nodu tutulumu ( $p=0,036$ ) ve lenfovasküler invazyon ( $p=0,042$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur.

25. Çalışmamızda da, VEGF-C ekspresyonu ile multifokalite, Hashimoto tiroiditi varlığı, ekstra tiroidal yayılım ve kapsül invazyonu, evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

26. VEGF-C ekspresyonu ile nüks gelişimi ( $p=0,041$ ) , hastaliksız sağ kalım arasında ( $p=0,027$ ) da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

27. ICAM-1 pozitifliği ile lenfovasküler invazyon, Hashimoto tiroiditi varlığı, ekstra tiroidal yayılım, lenf nodu tutulumu ve evre arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

28. ICAM-1pozitifliği ile kapsül invazyonu ( $p=0,013$ ), multifokalite ( $p=0,016$ ), nüks gelişimi ( $p=0,050$ ) ve hastaliksız sağ kalım ( $p=0,031$ ). arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

## KAYNAKLAR

1. **American Cancer Society.** Cancer Facts and Figures, Atlanta: American. *Cancer Society* **2007**.
2. **Wells SA.** Cancer of the Endocrine System. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds.: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8<sup>th</sup> Ed., Philadelphia Lippincott Williams&Wilkins, **2008**. ch 44 pp 1655-82.
3. **Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E.** Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*. **2010** Sep-Oct;60(5):277-300.
4. **Eser S, Yakut C, Özdemir R, Karakiliç H, Özalan S, Marshall SF, Karaoğlanoğlu O, Anbarcioğlu Z, Üçüncü N, Akin Ü, Özen E, Özgül N.** Cancer incidence rates in Turkey in 2006: a detailed registry based estimation. *Asian Pac J Cancer Prev*. **2010**; 11(6):1731-9.
5. **Rosai J.** Thyroid gland. In: Juan Rosai Editors. Ackerman`s Surgical Pathology. Vol 1 Ninth Edition. Pp:529-568, **2004**.
6. **Kumar V, Abbas AK, Fausto N.** *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* **2009** 0-7216-0187-1.
7. **Delellis RA, Williams ED. Tumours of the thyroid and parathyroid. In: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C.** Editors Pathology and Genetics of Tumours of Endokrine Organs, IARC Press, Lyon, **2004**: 49-133.
8. **Bhajjee F, Nikiforov E.** Molecular Analysis of Thyroid Tumors Springer Science+Business Media, LLC **2011** *Endocr Pathol* 22(3):126-33-12022-011-9170.
9. **Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, et al.** High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* **2003**; 63:1454.
10. **Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, Carson KA, Vasko V, Larin A, Tallini G, Tolaney S, Holt EH, Hui P, Umbricht CB, Basaria S, Ewertz M, Tufaro AP, Califano JA, Ringel MD, Zeiger MA, Sidransky D, Ladenson PW.** BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* **2005**; 90:6373.
11. **Hanahan D, Weinberg RA.** Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. **2011**:02:013
12. **Juttner S, Wissmann C, Jons T, Vieth M, Hertel J, Gretschel S, et al.** Vascular endothelial growth factor-D and its receptor VEGF-3: Two novel independent prognostic markers in gastric adenocarcinoma. *J Clin Oncol* **2006**; 24:228–240.
13. **Duff SE, Jeziorska M, Rosa DD, Kumar S, Haboubi N, Sherlock D, et al.** Vascular endothelial growth factors and receptors incolorectal cancer: Implication for anti-angiogenic therapy. *Eur J Cancer* **2006**; 42:112–117.
14. **Gombos Z, Xu X, Chu CS, Zhang PJ, Acs G.** Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res* **2005**; 11:8364–8371.
15. **JEN-DER LIN.** *Papillary thyroid carcinoma with lymph node metastases* Growth Factors, February **2007**; 25(1): 41–49
16. **Feldman M.** Intercellular adhesion molecules. In: Roitt I, Brastaff J, Male D, eds. *Immunology*. Barselona: Mosby, **1996**; 143-5.

- 17. Buitrago D, Keutgen X M, Crowley M,** Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) is Upregulated in Aggressive Papillary Thyroid Carcinoma *Ann Surg Oncol* **2012** 19:973–980 DOI 10.1245/s10434-011-2029-0
- 18. Dere F.** Glandula Thyroidea ve Parathyroidea. *Anatomi* **1990**; 497-502.
- 19. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ.** Anatomy of the thyroid gland. *In Surgical Anatomy and Technique*. Springer-Verlag .New York.**1995**;31-44.
- 20. Emirzeoğlu M, Sancak R.** Anatomy of thyroid gland.. *Exp. Clin. Med* **2012**; 29:S273-S275.
- 21. Gökmen, F.G.** *Sistematik Anatomi*. İzmir Güven Kitabevi, İzmir, **2003**;602-605.
- 22. Yılmaz C.** *Embriyoloji*. Yılmaz C (ed). Tiroit, Paratiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1. baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi; **2005**; 6-8.
- 23. Henry JF.** Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and rekürrent and external laryngeal nerves. Clark OH, Duh QY(ed). *Textbook of 63 Endocrine Surgery*. WB Saunders. Philadelphia.**1997**; 2: 8-14.
- 24. Davies L, Welch HG.** Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA* **2006**; 295:2164.
- 25. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov).** SEER Stat Database: Incidence - SEER 9 Regs Public-Use, Nov 2005 Sub (1973-2003), National Cancer Institute, DCCPS, *Surveillance Research Program, Cancer Statistics Branch*, released April **2006**.
- 26. Mills SE.** *Steinberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 5th ed. Steinberg. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health, Lipincott Williams & Wilkins **2010**; 493-507.
- 27. Tuttle RM, Lukes Y, Onstad Lynn, et al.** Ret/PTC activation is not associated with individual radiation dose estimates in a pilot study of neoplastic thyroid nodules arising in Russian children and adults exposed to Chernobyl fallout. *Thyroid* **2008**; 18:839-846.
- 28. Reiners C, Demidchik YE, Drozd VM, et al.** Tiroid cancer in infants and adolescents after Chernobyl. *Minerva Endokrinol* **2008**; 33:381-95.
- 29. Silverberg SG, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR.** *Silverberg's principles and practice of Surgical Pathology and Cytopathology* volume 2 **2006**; 2119-2145.
- 30. Wenig BM, Heffess CS.** *Atlas of head and neck pathology*, Second Edition **2008**; 882-965.
- 31. Lee ML, Chen GG, Vlantis AC, et al.** Induction of thyroid papillary carcinoma cell proliferation by estrogen is associated with altered expression of bcl-xL. *Cancer J* **2005**; 11:113-121.
- 32. Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E.** Papillary Thyroid Carcinoma Variants, *Head and Neck Pathol* **2011** 5:51–56 DOI 10.1007/s12105-010-0236-9
- 33. Ries, LAG, Melbert, D, Krapcho, M, et al.** (Eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005, *National Cancer Institute*, Bethesda, MD **2008**.
- 34. Coyne C, Nikiforov YE.** RAS mutation-positive follicular variant of papillary thyroid carcinoma arising in a struma ovarii. *Endocr Pathol*. **2010**; Jun;21(2):144-7.
- 35. I. Adalet, A. Mudun, S. Ünal.** *Nükleer Tıp Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Yayın No: 5041 I S B N **2012** No: 978-975-404-902-2

36. **Cibas ES, Ali SZ.** The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. **2009**; 19: 1159-65.
37. Yassa L, **Cibas ES**, Benson CB **et al.** Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. *Cancer*. **2007**; 25;111(6):508-16.
38. **Yang J, Schnadig V, Logrono R, Wasserman PG.** Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. *Cancer*. **2007**; 25;111(5):306-15.
39. **Fletcher DM.** *Diagnostic Histopathology of Tumors*. 3rd ed. Churchill Livingstone Elsevier **2010**; 997-1015.
40. **Ricardo V. Lloyd.** *Endocrine Pathology Differential Diagnosis and Molecular Advances* **2010** DOI 10.1007/978-1-4419-1069-1.
41. **Nikiforov YE, Otori NP.** Papillary carcinoma. In: *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid*. Nikiforov YE, Biddinger PW, Thomson LDR, eds. First edition. China: Lippincott Williams&Wilkins, **2009**; 160-213.
42. **Baloch ZW, Livolsi VA.** Microcarcinoma of the thyroid. *Adv Anat Pathol* **2006**; 13:69-75.
43. **Khoo MC, Beasley NP, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL.** Overexpression of Cyclin D1 and Underexpression of p27 Predict Lymph Node Metastases in Papillary Thyroid Carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Copyright © **2002** by The Endocrine Society 87(4):1814–1818.
44. **Akslen LA, Livolsi VA.** Prognostic significance of histologic grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. *Cancer* **2008**; 8:1902-1904.
45. **Hayes SH, Seigel GM.** Immunoreactivity of ICAM-1 in human tumors, metastases and normal tissues. *Int J Clin Exp Pathol*. **2009**; 2:553–60.
46. **Foppiani L, Tancredi M, Ansaldo GL, Ceppa P, Auriati L, Torre GC, Minuto F, Giusti M.** Absence of histological malignancy in a patient cohort with follicular lesions on fine-needle aspiration. *J Endocrinol Invest*. **2003** Jan;26(1):29-34.
47. **Goldstein RE, Netterville JL, Burkey B, Johnson JE.** Implications of follicular neoplasms, atypia, and lesions suspicious for malignancy diagnosed by fine-needle aspiration of thyroid nodules. *Ann Surg*. **2002** May; 235(5):656-62; discussion 662-4.
48. **Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, et al.** Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *J Clin Oncol*. **2003** Sep 1;21(17):3226-35.
49. **Gökhan Adas ve ark.,** Tiroid Kanseri, *Okmeydanı Tıp Dergisi* 28 (Ek sayı 1) **2012**; 26-34
50. **AJCC Cancer Staging Manual. 7th edition.** New York: Springer-Verlag; 2010. Reproduced by permission from: Cancer Control: Journal of the Moffitt Cancer Center. Dean, DS, Hay, ID. Prognostic indicators in differentiated thyroid carcinoma. *Cancer Control*. **2000**; 7(3)229-239
51. **British Thyroid Association and Royal College of Physicians.** *Guidelines for the management of thyroid cancer in adults*, London **2002**.
52. **American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, Cooper DS, Doherty GM, et al.** Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* **2009**; 19:1167.

- 53. Fogelfeld L, Wiviott MB, Freedman SE, et al.** Recurrence of thyroid nodules after surgical removal in patients irradiated in childhood for benign conditions. *N Engl J Med* **1989**; 320:835.
- 54. Stojadinovic A, Ghossein RA, Hoos A, et al.** Hürthle cell carcinoma: a critical histopathologic appraisal. *J Clin Oncol* **2001**; 19:2616.
- 55. Zetoune T, Keutgen X, Buitrago D, et al.** Prophylactic central neck dissection and local recurrence in papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* **2010**; 17:3287.
- 56. Richmond BK, Eads K, Flaherty S, et al.** Complications of thyroidectomy and parathyroidectomy in the rural community hospital setting. *Am Surg* **2007**; 73:332.
- 57. Lo CY, Kwok KF, Yuen PW.** Prospective evaluation of recurrent laryngeal nerve paralysis during thyroidectomy. *Arch Surg* **2000**; 135:204.
- 58. Spitzweg C, Harrington KJ, Pinke LA, et al.** Clinical review 132: The sodium iodide symporter and its potential role in cancer therapy. *J Clin Endocrinol Metab* **2001**; 86:3327.
- 59. Rubino C, de Vathaire F, Dottorini ME, et al.** Second primary malignancies in thyroid cancer patients. *Br J Cancer* **2003** Nov 3;89(9):1638-44.
- 60. Rabes HM, Demidchik EP, Sidorow JD, et al.** Pattern of radiation-induced RET and NTRK1 rearrangements in 191 post-chernobyl papillary thyroid carcinomas: biological, phenotypic, and clinical implications. *Clin Cancer Res.* **2000** Mar;6(3):1093-103.
- 61. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, et al.** Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am J Surg Pathol.* **2006** Feb; 30(2):216-22.
- 62. Nikiforova MN, Lynch LA, Biddinger PW, Alexander EK, Tallini G, Kroll TG, Nikiforov YE.** RAS Point Mutations and PAX8-PPAR<sub>γ</sub> Rearrangement in Thyroid Tumors: Evidence for Distinct Molecular Pathways in Thyroid Follicular Carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2003**; 88(5):2318-26.
- 63. Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, et al.** PAX8-PPAR<sub>γ</sub> fusion oncogene in human thyroid carcinoma. *Science* **2000**; 289:1357.
- 64. Blume JP, Hunter T.** Oncogenic kinase signaling. *Nature* **2001**; 411:355-64.
- 65. Doğan A, Güç D.** Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser *Hacettepe Tıp Dergisi* **2004**; 35:34-42.
- 66. Pawson T.** Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. *Eur J Cancer* **2002**; 38:3-10.
- 67. Xing M.** Genetic alterations in the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *Thyroid.* **2010**; 20(7):697-706.
- 68. Mian C, Barollo S, Pennelli G, et al.** Molecular characteristics in papillary thyroid cancers (PTCs) with no <sup>131</sup>I uptake. *Clin Endocrinol (Oxf).* **2008**; 68(1):108-16.
- 69. Vivanco I, Sawyers CL.** The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer.* **2002**; 2(7):489-501.
- 70. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF.** Focus on lung cancer. *Cancer cell* **2002**; 1:49
- 71. Markowitz SD, Dawson DM, Willis J, Willson JK.** Focus on colon cancer. *Cancer cell* **2002**; 1:233.
- 72. Jaffee EM, Hruban RH, Canto M, Kern SE.** Focus on pancreas cancer. *Cancer cell* **2002**; 2:25.

- 73. Bos J.** Ras oncogenes in human cancer. *Cancer Res* **1989**; 49(17): 4682-9.
- 74. Niihori T, Aoki Y, Narumi Y, et al.** Germline KRAS and BRAF mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Nat. Genet* **2006**; 38 (3): 294-6.
- 75. Burmer GC, Loeb LA.** Mutations in the KRAS2 oncogene during progressive stages of human colon carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **1989**; 86 (7): 2403-7.
- 76. Tam IY, Chung LP, Suen WS, Wang E, Wong MC, Ho KK, Lam WK, Chiu SW, Girard L.** Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features *Clin. Cancer Res* **2006**; 12 (5):1647-53.
- 77. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et. al.** Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* **2000**; 2417: 949-954.
- 78. Dhillon AS & Kolch W.** Oncogenic BRAF mutations: crystal clear at last. *Cancer Cell* **2004**;5:303-304.
- 79. Routhier CA, Mochel MC, Lynch K, Dias SD, Louis DN, Hoang MP.** Comparison of 2 monoclonal antibodies for immunohistochemical detection of BRAF V600E mutation in malignant melanoma, pulmonary carcinoma, gastrointestinal carcinoma, thyroid carcinoma, and gliomas *Human Pathology* **2013**,44(11):2563-70.
- 80. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al.** BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* **2011**; 364:2305-15.
- 81. Schindler G, Capper D, Meyer J, et al.** Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytomas, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* **2011**; 121: 397-405.
- 82. Tannapfel A, Sommerer F, Benicke M, et al.** Mutations of the BRAF gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma. *Gut* **2003**; 52:706-12.
- 83. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al.** Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol* **2011**; 29:3574-9
- 84. Vasko V, Hu S, Wu G, et al.** High prevalence and possible de novo formation of BRAF mutation in metastasized papillary thyroid cancer in lymph nodes. *J Clin Endocrinol Metab* **2005**; 90:5265.
- 85. Oler G, Ebina KN, Michaluart P Jr, et al.** Investigation of BRAF mutation in a series of papillary thyroid carcinoma and matched-lymph node metastasis reveals a new mutation in metastasis. *Clin Endocrinol (Oxf)* **2005**; 62:509.
- 86. Riesco EG, Gutiérrez MP, García MA, Nistal M, Santisteban P.** The oncogene BRAFV600E is associated with a high risk of recurrence and less differentiated papillary thyroid carcinoma due to the impairment of Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> targeting to the membrane. *Endocrine-Related Cancer* **2006**; 13:257-269
- 87. Ball DW.** Selectively targeting mutant BRAF in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* **2010**; 95:60.
- 88. Salerno P, De Falco V, Tamburrino A, et al.** Cytostatic activity of adenosine triphosphate-competitive kinase inhibitors in BRAF mutant thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* **2010**; 95:450.
- 89. Trovisco V, Vieira de Castro I, Soares P, et al.** BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *J Pathol* **2004**; 202; 247-251.



- 90. Senger DR, Gali SJ, Dvorak AM, et al.** Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. **1983**; 219:983-985.
- 91. Ferrara N, Henzel WJ.** Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. **1989**; 161:851-858.
- 92. Kerbel RS.** Tumor angiogenesis. *N Engl J Med* **2008**; 358:2039-2049
- 93. Byrne AM, Bouchier DJ, Harmey JH.** Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med*. **2005**; 9:777-794.
- 94. Ferrara N.** Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* **2004**; 25:581-611.
- 95. Roskoski RJ.** Sunitinib: a VEGF and PDGF receptor protein kinase and angiogenesis inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* **2007**;356:323-328
- 96. Kim I, Moon S, Kim HS, Kim HJ, Koh YS, Koh GY.** VEGF Expression of ICAM-1, VCAM-1, and P-selectin through nuclear factor-KB activation in endothelial cells. *J Biol Chem* **2001**; 276:7614-20.
- 97. Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, et al.** Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet*. **2001**; 28:131-138.
- 98. Ng YS, Krilleke D, Shima DT.** VEGF function in vascular pathogenesis. *Exp Cell Res*. **2006**;312:527-537.
- 99. Zachary I, Gliki G.** Signalling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res* **2001**;49:568-81.
- 100. Yamaguchi R, Yano H, Lemura A, Ogasawara S, Haramaki M, Kojiro M.** Expression of vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **1998**; 28:68-77.
- 101. Robert Roskoski Jr. et al.** Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **2007**: 62(3);179-213
- 102. Ferrara N, Gerber HP, Le Coutier J.** The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* **2003**; 9: 669-676
- 103. Korpelainen E, Alitalo K.** Signaling angiogenesis and lymphangiogenesis. *Curr Opin Cell Biol*. **1998**; 10:159-4.
- 104. Schoppmann S, Birner P, Stockl J, Kalt R, Ullrich R, Caucig C et al.** Tumor associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. *Am J Pathol* **2004**; 161:947-6.
- 105. Juttner S, Wissmann C, Jons T, Vieth M, Hertel J, Gretschel S, et al.** Vascular endothelial growth factor-D and its receptor VEGF-3: Two novel independent prognostic markers in gastric adenocarcinoma. *J Clin Oncol* **2006**; 24:228-240.
- 106. Su JL, Yen CJ, Chen PS, Chuang SE, Hong CC, Kuo IH, Chen HY, Hung MC, Kuo ML.** The role of the VEGF-C/VEGFR-3 axis in cancer progression *Br J Cancer*. **2007** Feb 26; 96(4):541-5
- 107. Pepper M.** Lymphangiogenesis and tumor metastasis: myth or reality? *Clin Cancer Res*. **2001**; 7:462-8.

- 108. Salajegheh A, Pakneshan S, Rahman A, Dolan-Evans E, Zhang S, Kwong E, Gopalan V, Lo CY, Smith RA, Lam AK.** Co-regulatory potential of vascular endothelial growth factor-A and vascular endothelial growth factor-C in thyroid carcinoma. *Hum Pathol.* **2013** Oct;44(10):2204-12.
- 109. Yu XM, Lo Cy, Chan WF, Lam KY, Leung P, Luk JM.** Increased expression of vascular endothelial growth factor C in papillary thyroid carcinoma correlates with cervical lymph node metastases. *Clin Cancer Res.* **2005**; 11(22):8063–8069.
- 110. Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-part I. *N Engl J Med* **1996**: 334:1527-9.
- 111. Alattia JR, Tong KI, Takeichi M, Ikura M.** Cadherins. *Methods Mol Biol.* 2002;172:199-210.
- 112. G. Dicle.** Adezyon Molekülleri *ANKEM Derg* **2004**; 18 (Ek 2):158-163.
- 113. Ozaki H, Ishii K, Horiuchi H, Arai H, Kawamoto T, Okawa K, Iwamatsu A, Kita T.** Cutting edge: Combined treatment of TNF and IFN- $\gamma$  causes redistribution of junctional adhesion molecule in human endothelial cells. *J Immunol.* **1999**;15;163(2):553-7.
- 114. Wilson GA.** Cell Adhesion Molecules Fundamental Facts, R&D Systems, **1996**.
- 115. Hayes SH, Seigel GM.** Immunoreactivity of ICAM-1 in human tumors, metastases and normal tissues. *Int J Clin Exp Pathol.* **2009**;2:553–60
- 116. Yang L, Froio RM, Sciuto TE, Dvorak AM, Alon R, Luscinskas FW.** ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF-alpha-activated vascular endothelium under flow. *Blood.* **2005**;106:584–92.
- 117. Hope SA, Meredith IT.** Cellular adhesion molecules and cardiovascular disease. Part I. Their expression and role in atherogenesis. *Intern Med J.* **2003**; 33(8):380-6.
- 118. Tanaka S, Sakata Y, Morimoto K, Tambe Y, Watanabe Y, Honda G, Tabata M, Oshima T, masuda T, Umezawa T, Shimada M, Nagakura N, Kamisako W, Kashiwadw Y, Ikeshiro Y.** Influence of naturel and synthetic compounds on cell surface expression of cell adhesion molecules, ICAM-1 and VCAM-1. *Planta Med* **2001**; 67(2):108-13.
- 119. Basoglu M, Atamanalp SS, Yildirgan MI, Aydinli B, Ozturk G, Akcay F, Oren D.** Correlation between the serum values of soluble intercellular adhesion molecule-1 and total sialic acid levels in patients with breast cancer. *Eur Surg Res.* **2007**; 39:136-140.
- 120. Dymicka-Piekarska V, Kemona H.** Does colorectal cancer clinical advancement affect adhesion molecules (sP- selectin, sE- selectin and ICAM-1) concentration? *Thromb Res.* **2009**; 124(1):80-3.
- 121. Dowlati A, Gray R, Sandler AB, Schiller JH, Johnson DH.** Cell adhesion molecules, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in patients with non-small cell lung cancer treated with chemotherapy with or without bevacizumab--an Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Clin Cancer Res* **2008**; 14:1407-1412.
- 122. Hemmerlein B, Scherbening J, Kugler A, Radzun HJ.** Expression of VCAM-1, ICAM-1, E- and P-selectin and tumour-associated macrophages in renal cell carcinoma. *Histopathology* **2000**; 37:78-83.
- 123. Brooks KJ, Coleman EJ, Vitetta ES.** The antitumor activity of an anti-CD54 antibody in SCID mice xenographed with human breast, prostate, non-small cell lung, and pancreatic tumor cell lines. *Int J Cancer* **2008**;123: 2438-2445.
- 124. Hay, ID, Grant, CS, Taylor, WF, et al.** Ipsilateral lobectomy versus bilateral lobar resection in papilliary thyroid carcinoma: a retrospective analysis of surgical outcome using a novel prognostic scoring system. *Surgery* **1987**; 102(6):1088-95.

125. Hay ID, Bergstralh EJ, Goellner JR, et al. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. *Surgery* **1993**; 114(6):1050-7 [discussion: 1057-8].
126. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer*. **1998** Dec 15;83(12):2638-48.
127. Dijkstra B, Prichard RS, Lee A, et. al: Changing patterns of thyroid carcinoma *Ir J Med Sci*. 176(2):87-90, 2007
128. Merhy J, Driscoll HK, Leidy JW, Chertow BS Increasing incidence and characteristics of differentiated thyroid cancer in Huntington, West Virginia. *Thyroid*. **2001** Nov;11(11):1063-9.
129. Machens A, Holzhausen HJ, Dralle H. The prognostic value of primary tumor size in papillary and follicular thyroid carcinoma. *Cancer* **2005**, 103(11):2269-2273.
130. Replinger D, Bargren A, Zhang YW et al. Is Hashimoto's thyroiditis a risk factor for papillary thyroid cancer. *J Surg Res* **2008**; 150: 49-52.30, 31
131. Beasley NJ, Lee J, Eski S, Walfish P, Witterick I, Freeman JL. Impact of nodal metastases on prognosis in patients with well-differentiated thyroid cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **2002**; 128(7):825-828.
132. Cipolla C, Sandonato L, Graceffa G, et al. Hashimoto thyroiditis coexistent with papillary thyroid carcinoma. *Am Surg* **2005**;71:874-8.
133. Nikiforov YE. Molecular Diagnostics of Thyroid Tumors *Arch Pathol Lab Med*. **2011**;135:569-577.
134. Wang Y, Hou P, Yu H, et al. High prevalence and mutual exclusivity of genetic alterations in the phosphatidylinositol-3-kinase/akt pathway in thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. **2007** Jun;92(6):2387-90.
135. Myers MB, McKim KL, Parsons BL A Subset of Papillary Thyroid Carcinomas Contain KRAS Mutant Subpopulations at Levels Above Normal Thyroid. *Molecular Carcinogenesis* **2012** DOI 10.1002/mc.21953
136. Miller KA, Yeager N, Baker K, Liao XH, Refetoff S, Di Cristofano A. Oncogenic Kras requires simultaneous PI3K signaling to induce ERK activation and transform thyroid epithelial cells in vivo. *Cancer Res*. **2009** Apr 15;69(8):3689-94.
137. Barollo S, Pezzani R, Cristiani A, Redaelli M, Zamboni L, Rubin B, Bertazza L, Zane M, Mucignat-Caretta C, Bulfone A, Pennelli G, Casal Ide E, Pelizzo MR, Mantero F, Moro S, Mian C. The prevalence, the tumorigenic role and the biochemical implications of rare BRAF alterations. *Thyroid*. **2013** Dec 2. 10.1089/thy.2013.0403.
138. Moses W, Weng J, Sansano I, Peng M, Khanafshar E, Ljung BM, Duh QY, Clark OH, Kebebew E. Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy. *World J Surg*. 2010 Nov;34(11):2589-94.
139. Benedetto G, Fabozzi A, Rinaldi C, Rinaldi CR. BRAF Test and Cytological Diagnosis with a Single Fine Needle Cytology Sample *Acta Cytologica* **2013**;57:337-340
140. Musholt TJ, Fottner C, Weber MM, Eichhorn W, Pohlenz J, Musholt PB, Springer E, Schad A. Detection of papillary thyroid carcinoma by analysis of BRAF and RET/PTC1 mutations in fine-needle aspiration biopsies of thyroid nodules. *World J Surg*. **2010** Nov;34(11):2595-603.

141. **Xing M.** Epub 2007 Oct 16. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev.* **2007** Dec;28(7):742-62.
142. **Elisei R, Ugolini C, Viola D, Lupi C, Biagini A, Giannini R, Romei C, Miccoli P, Pinchera A, Basolo F.** BRAF(V600E) mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: a 15-year median follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab.* **2008** Oct;93(10):3943-9.
143. **Lupi C, Giannini R, Ugolini C, Proietti A, Berti P, Minuto M, Materazzi G, Elisei R, Santoro M, Miccoli P, Basolo F.** Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* **2007** Nov;92(11):4085-90.
144. **Schlumberger M, Lacroix L, Russo D, Filetti S, Bidart JM.** Defects in iodide metabolism in thyroid cancer and implications for the follow-up and treatment of patients. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* **2007** Mar;3(3):260-9.
145. **Liang H, Zhong Y, Luo Z, Huang Y, Lin H, Zhan S, Xie K, Li QQ.** Diagnostic value of 16 cellular tumor markers for metastatic thyroid cancer: an immunohistochemical study. *Anticancer Res.* **2011** Oct; 31(10):3433-40.
146. **Tanaka K, Kurebayashi J, Sonoo H, Otsuki T, Yamamoto Y, Ohkubo S, Yamamoto S, Shimozuma K.** Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Family Messenger RNA in Diseased Thyroid, *Tissues Surg Today* **2002**; 32:761–768

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Berna TOTAN ATEŞ  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 20.12.1975- Adana  
**Medeni Durumu** : Evli  
**Adres** : Yenibaraj Mah. 68065 Sok. Bekir Özsoy Apt. 8/10  
Seyhan/ADANA  
**Telefon** : 0 (505) 523 54 83  
**E-posta** : bernatotanates@hotmail.com  
**Mezun Olduğu Tıp Fakültesi** : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
**Görev Yerleri** : Bulanık Devlet Hastanesi-Muş  
Düziçi 1 No'lu Sağlık Ocağı-Osmaniye  
Göztepe Sağlık Ocağı-Malatya  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fak. Patoloji A.D.  
**Yabancı Dil** : İngilizce  
**Dernek Üyelikleri** : Çukurova Patoloji Derneği  
Patoloji Dernekleri Federasyonu  
Türk Tabipler Birliği Adana Tabip Odası