



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MALİGN TİROİD NODÜLLERİNİ BELİRMEDE
DOLAŞIMDAKİ MikroRNA'LAR DUYARLI BİR
BELİRTEÇ OLABİLİR Mİ?**

UZMANLIK TEZİ

DR. ELİF DUYGU TOPAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL

AYDIN-2018

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MALİGN TİROİD NODÜLLERİNİ BELİRMEDE
DOLAŞIMDAKİ MikroRNA'LAR DUYARLI BİR
BELİRTEÇ OLABİLİR Mİ?**

UZMANLIK TEZİ

DR. ELİF DUYGU TOPAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL

AYDIN-2018

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından **TPF-17021** no'lu proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince büyük emekleri ve katkıları olan, bilgi ve deneyimleri ile her zaman yol gösteren, her aşamada yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, kendisiyle çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL'a, iç hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emekleri bulunan değerli ve saygıdeğer hocalarımdan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sabri BARUTÇA olmak üzere Prof. Dr. A. Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK, Prof. Dr. M.Hadi YAŞA, Prof. Dr. Engin GÜNEY, Prof. Dr. A.Vahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Prof. Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Prof. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU, Doç. Dr. Adil ÇOŞKUN, Doç. Dr. Hakan AKDAM, Doç. Dr. Hilal BEKTAŞ UYSAL, Dr. Öğr. Üyesi Altay KANDEMİR, Dr. Öğr. Üyesi Songül ÇILDAĞ, Dr. Öğr. Üyesi Özlem OLTULU, Dr. Öğr. Üyesi Esin OKTAY, Dr. Öğr. Üyesi Gökhan SARGIN'a,

Tezimde büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof.Dr. İmran KURT ÖMÜRLÜ'ye, Doç. Dr. Aykut SOYDER ve Dr. Öğr. Üyesi M.Gökhan ÜNSAL'a,

Tez boyunca bana destek olan ve karşılaştığım sorunlarda bana yardımını esirgemeyen sevgili eşim Dr. Ahmet Erdal Topan'a,

Tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini her daim hissettiğim canım aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Elif Duygu TOPAN

Aydın, 2018

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| TEŞEKKÜR | i |
| TABLO DİZİNİ..... | iv |
| ŞEKİL DİZİNİ..... | v |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | vi |
| EKLER DİZİNİ | viii |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Tiroid Bezinin Embriyolojisi..... | 3 |
| 2.2. Tiroid Bezinin Anatomisi | 3 |
| 2.3. Tiroid Bezinin Fizyolojisi..... | 4 |
| 2.4. Tiroid Nodülleri..... | 4 |
| 2.4.1. Anamnez ve Fizik Muayene | 5 |
| 2.4.2. Tiroid Fonksiyon Testleri (TFT) | 6 |
| 2.4.3. Görüntüleme | 7 |
| 2.4.3.1. Tiroid ultrasonografisi | 7 |
| 2.4.3.2. Tiroid sintigrafisi | 9 |
| 2.4.3.3. Florodeoksiglukoz - Pozitron Emisyon Tomografisi (FDG-PET) | 10 |
| 2.4.4. Tiroid İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi..... | 10 |
| 2.5. Tiroid Kanserleri..... | 15 |
| 2.5.1. Papiller Tiroid Kanseri | 16 |
| 2.5.2. Folliküler Tiroid Kanseri | 17 |
| 2.5.3. Medüller Tiroid Kanseri | 18 |
| 2.5.4. Anaplastik Tiroid Kanseri | 19 |
| 2.5.5. Primer Tiroid Lenfoması | 19 |
| 2.6. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde Tedavi | 20 |

| | |
|--|----|
| 2.6.1. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde TNM Sınıflaması | 21 |
| 2.7. MikroRNA..... | 22 |
| 2.7.1. miRNA Biyosentezi..... | 23 |
| 2.7.2. miRNA ve Tiroid Kanseri | 24 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 27 |
| 3.1. Hasta Grubu Seçimi..... | 27 |
| 3.2. Çalışma Protokolü ve Testler | 27 |
| 3.2.1. Hasta Alımı..... | 27 |
| 3.2.2. Kan Örneklerinden Genomik miRNA İzolasyonu | 27 |
| 3.2.3. Mikro-RNA'lar için Complementary DNA Elde Edilmesi..... | 29 |
| 3.2.4. Real Time PCR..... | 30 |
| 3.3. İstatistiksel Analiz | 30 |
| 4. BULGULAR | 31 |
| 5. TARTIŞMA..... | 37 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 46 |
| ÖZET | 48 |
| SUMMARY..... | 49 |
| KAYNAKLAR..... | 50 |
| EKLER | 77 |

TABLO DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo I. Tiroid ultrasonografi raporlarında saptanan nodüller için belirtilmesi gereken özellikler | 8 |
| Tablo II. Tiroid nodüllerinin ultrasonografik karakterlerine göre malignite belirteçleri | 9 |
| Tablo III. Lenf nodlarında malign tutulum düşündürülen USG özellikleri | 9 |
| Tablo IV. Sonografik özelliklere göre tahmini malignite riski ve İİAB önerileri | 12 |
| Tablo V. Tiroid sitopatolojisi raporunda Bethesda sınıflaması: tanısal kategoriler ve malignite riski | 12 |
| Tablo VI. 2004 yılı Dünya Sağlık Örgütü tiroid tümörleri sınıflaması | 16 |
| Tablo VII. Diferansiye tiroid kanserlerinde TNM sınıflaması | 22 |
| Tablo VIII. Diferansiye tiroid kanserlerinde evreleme | 22 |
| Tablo IX. WizScript™ cDNA Synthesis Kit (High Capacity) W2211 bileşenleri | 29 |
| Tablo X. cDNA reaksiyon şartları | 30 |
| Tablo XI. Real time PCR bileşenleri | 30 |
| Tablo XII. Real time PCR koşulları | 30 |
| Tablo XIII. TİİAB sonuçları | 31 |
| Tablo XIV. Tiroid kanseri olan ve olmayan grup arasında sayısal verilerin karşılaştırılması | 33 |
| Tablo XV. Diferansiye tiroid kanseri alt grupları ile benign tiroid nodüllerinin miRNA düzeyleri ile karşılaştırılması | 33 |
| Tablo XVI. Önemi belirsiz atipi veya önemi belirlenemeyen foliküler lezyon ve foliküler neoplazm veya foliküler neoplazm şüphesi olan hastalarda miRNA'ların karşılaştırılması | 35 |
| Tablo XVII. Patoloji sonucunda maligniteyi öngörecektir değişkenlerin lojistik regresyon analizi | 36 |

ŞEKİL DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. miRNA 25-3p'nin diferansiye tiroid kanserini öngörebilmesi açısından ROC eğrisi..... | 34 |
| Şekil 2. miRNA 146b-5p'nin diferansiye tiroid kanserini öngörebilmesi açısından ROC eğrisi..... | 35 |



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|------------------|---|
| Ago | : Argonaute |
| AUC | : Eğri altında kalan alan (Area under the curve) |
| Cdna | : Complementary DNA |
| DGCR8 | : DiGeorge syndrome critical region gene 8 |
| DNA | : Deoksi ribonükleik asit |
| FDG-PET | : Florodeoksiglukoz - pozitron emisyon tomografisi |
| FN | : Folliküler neoplazi |
| FTK | : Folliküler tiroid kanserleri |
| İİAB | : İnce iğne aspirasyon biyopsisi |
| LAP | : Lenfadenopati |
| M | : Uzak metastaz |
| MEN | : Multipl endokrin neoplazi |
| miR-miRNA | : MikroRNA |
| mRNA | : mesajcı RNA |
| MTK | : Medüller tiroid kanseri |
| N | : Bölgesel lenf nodu tutulumu |
| NIFT | : Papilla benzeri nükleer özellikler gösteren invaziv olmayan foliküler tümör |
| ÖBA | : Önemi belirsiz atipi |
| PCR | : Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction) |
| pre-miRNA | : Prekürsör miRNA |
| pri-miRNA | : Primer miRNA |
| PTK | : Papiller tiroid kanseri |
| RAI | : Radyoaktif iyot |
| RAR | : Retinoik asit reseptörü |
| RISC | : RNA indüklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex) |

| | |
|--------------|---|
| RNA | : Ribonükleik asit |
| T | : Tümör boyutu |
| T3 | : Triiodotironin |
| T4 | : Tiroksin |
| TFT | : Tiroid fonksiyon testleri |
| TiİAB | : Tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi |
| TSH | : Tiroid stimule edici hormon |
| USG | : Ultrasonografi |

EKLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Ek 1. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı | 77 |
|--|----|



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid nodülleri sık görülen bir durum olup, ultrasonografide tespit edilen nodül sıklığı %19 ila 68 arasında rapor edilmektedir (1, 2). Bir tiroid nodülü saptandığında en önemli yaklaşım nodülün benign ya da malign olduğunun tespit edilmesidir. Nodüllerde malignite görülme ihtimali %7-15'tir (3). Tiroid nodüllerinin benign ve malign ayırımında tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi ile değerlendirme yapılmaktadır. Farklılaşmış tiroid kanserlerini benign tiroid nodüllerinden ayırt edebilecek güvenilir bir biyobelirteç şu an için bulunmamaktadır (4, 5).

MikroRNA (miRNA)'lar küçük, protein kodlamayan RNA molekülleridir. Bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak gelişim, farklılaşma, çoğalma, hücre ölümü gibi süreçlerde rol oynarlar (6). miRNA'lar protein kodlayan genlerin eksonik ve intronik bölgelerinde ve genler arası bölgelerde bulunabilirler. miRNA genlerinin %50'sinden fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş genom üzerindeki bölgelerde veya kırılğan bölgelerde bulunur; bu durum da miRNA'ların neoplazi patojenezinde önemli rolleri olduğuna işaret etmektedir (7). Pek çok kanserde bazı miRNA'ların onkogen, bazılarının ise tümör baskılayıcı gen gibi işlev görmesi, tümör ilerlemesi, metastazı ve invazyonunda miRNA'ların düzenleyici olduğunu göstermektedir (8). MiRNA'ların karsinogenezde etkili olabileceklerinin anlaşılmasıyla birlikte, farklı kanser türlerinde spesifik hücre tiplerinde miRNA'ların ekspresyon seviyelerindeki değişimler incelenmiş, miRNA'ların normal ve patolojik dokular arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilen miRNA'ların kanser hücrelerindeki seviyelerinin normal hücrelerle karşılaştırılması kanserin tanı, takip ve tedavisinde önem kazanmıştır (9-11). Farklı tümör tiplerinin, köken aldığı hücre tipine bağımlı olarak miRNA ekspresyonunun değişebildiği gösterilmiştir (12). Diferansiye tiroid kanseri olan ve olmayan hastalar arasında miRNA düzeylerinin TİİAB materyalinde, patoloji piyeslerindeki doku örneklerinde düzeylerinin karşılaştırıldığı farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda tiroid kanser dokusunun miRNA ekspresyonları gösterilmiştir (13-21). Ancak tiroid kanserli hastaların dolaşımdaki miRNA düzeylerinin değerlendirildiği çalışma sayısı sınırlıdır (22-27). Li M. ve ark. Larının (23) çalışmasında (56 papiller tiroid kanserli, 95 benign tiroid nodüllü olgu) malign tiroid nodülü olan hastalarda plazma miR-25-3p, miR-451a, miR-140-3p düzeyleri, benign tiroid nodülü olan hastalara göre yüksek saptanmıştır. Kore'de yapılan farklı bir çalışmada 70 tiroid kanserli olgu ile 19 benign tiroid nodüllü hasta miR-146b ve miR-155 seviyeleri

açısından karşılaştırılmış, miRNA'ların tiroid kanserli olgularda ayırd edici özellikte yüksek olduğu saptanmıştır (24). Lee JC. ve ark.nın (25) çalışmasında da miR-222 ve miR-146b papiller tiroid kanseri rekürensi ile ilişkili bulunmuştur.

Yu S. ve ark.nın (26) çalışmasında 106 papiller tiroid Ca'lı hasta, 95 benign nodüllü hasta ve 44 sağlıklı kontrol çalışmaya alınmış. Serum let-7e, miR-151-5p ve miR-222 malign hastalarda yüksek saptanmış.

ATA 2015 tiroid nodül ve tiroid kanseri kılavuzunda; belirsiz sitolojinin tüm vakalarında kesin olarak maligniteye hükmedebilecek ya da ekarte edebilecek tek bir optimal moleküler testin olmadığı ve klinik faydayı ispat eden uzun vadeli sonuç verilere ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (28). Dolaşımdaki miRNA düzeylerinin malign tiroid nodüllerini tanımadaki duyarlılığının artması, rutin kullanılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Bu amaçla, çalışmamızda, benign ve malign tiroid nodülü ayırımında potansiyel bir biyobelirteç olarak dolaşımdaki mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroid Bezinin Embriyolojisi

Tiroid bezi, gebeliğin yaklaşık 24. gününde, vücudun endokrin bezlerinin ilk oluşandır. Tiroid, iki ana yapıdan kaynaklanır: primitif farenks ve nöral krest. Rudimenter lateral tiroid, nöral krest hücrelerinden gelişirken, bezin büyük kısmını oluşturan median tiroid, primitif farinksden kaynaklanır (29, 30).

5. haftada 4. brankial poşun nöroektodermal orijinli ultimobranşial cisimlerinden köken alan tiroidin kalsitonin salgılayan C hücreleri lateral tiroid primordiumuna katılır. Embriyolojik gelişmenin 7. Haftasına kadar tiroid bezi, normal bir yetişkinde olduğu gibi, trakea önüne ulaşır (31, 32).

Gebeliğin 10. haftasının sonunda tiroitte foliküller oluşmaya başlar, 12. haftanın sonunda da tiroid iyot tutmaya ve kolloid üretmeye başlar. 13. haftadan itibaren hipofiz ve serumda tiroid stimule edici hormon (TSH) belirlenebilir. Doğumdan birkaç hafta sonra tiroid hormonları erişkindeki normal düzeye ulaşır (33, 34).

2.2. Tiroid Bezinin Anatomisi

Erişkin tiroid bezi ortalama 15-20 gr ağırlığındadır. Sağ ve sol iki lob ve bunları birleştiren istmustan oluşmaktadır. Gevşek bağ dokusu yapısındaki derin servikal fasyanın anterior ve posterior yaprakları ile sarılmıştır. Ayrıca %50-80 sıklıkla ilave olarak istmustan yukarıya doğru uzanan ve tiroglossal kanalın kalıntısı olan piramidal lob bulunur. Genellikle orta hattın biraz solunda ve tiroid kıkırdağına kadar uzanır. Tipik olarak C5-T1 vertebral seviyelerine denk gelen laringeal tiroid kıkırdağın altındadır. Tiroid, trakeaya lateral suspensory ligament veya Berry'nin ligamenti olarak adlandırılan bağ dokusunun birleştirilmesiyle bağlanır. Bu bağ tiroid loblarının her birini trakeaya bağlar (29, 35).

Tiroid bezi yüzeyelden derine doğru; deri, yüzeyel fasya, derin boyun fasyasının yüzeyel tabakası ve bu tabakanın örttüğü sternokleidomastoid, omohyoid, sternohyoid ve sternotiroid kasları (strap kasları) tarafından örtülür. Arka medialde özofagus ve trakea tarafından sınırlanmıştır. Lobların lateral kısımlarının posterosüperiorunda süperior, posteroinferiorunda inferior paratiroidler yerleşmiştir (36, 37).

2.3. Tiroid Bezinin Fizyolojisi

Tiroid bezi insan organizmasında metabolizma hızı üzerinde büyük etkisi olan iki hormon salgılar. Tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3), ayrıca kalsiyum metabolizmasında önemli rolü olan kalsitonin hormonunu salgılar. Tiroid hormon sekresyonu başlıca hipofiz ön lobundan salgılanan tiroid stimüle edici hormon (TSH) tarafından kontrol edilir. TSH, tiroidin morfolojisini ve fonksiyonunu etkileyen bir hormondur. TSH, tirositlerin gelişmesini kontrol eder ve tirositlerde tiroid peroksidaz ve tiroglobulin yapımını, tiroglobulin proteolizisini, iyodun tutulmasını ve organifikasyonunu, iyodotirozinlerin yapımını, tiroid hormonlarının yapım ve salınmasını kontrol eder. Tüm bu fonksiyonlar; TSH'nın tirosit membranındaki TSH reseptörüne bağlanmasıyla ortaya çıkar. TSH; T3 ve T4 salınımını uyarırken, kandaki T3 ve T4 artışı hipofizden TSH salınımını suprese eder (negatif feedback) (38).

Tiroid hormonları tirozin aminoasitlerinin iyodinasyonu sonucu monoiodotirozin ve diiodotirozin den oluşur. Monoiodotirozin ve diiodotirozin tiroglobuline bağlı olarak foliküldeki kolloid içerisinde bulunur. Tiroid stimüle edici hormonun uyarısıyla tiroglobulin ile beraber T4 ve T3 salınımı olur (39).

Plazmaya geçen T3 ve T4'ün büyük kısmı plazma proteinlerine bağlı olarak taşınır. T3 ve T4'ün sırasıyla % 0,2'lik ve % 0,02'lik kısmı plazmada serbest halde bulunur ve dokuda etkin olan esas kısmı oluşturur. Tiroid hormonları albümin, transtiretin (tiroksin bağlayan prealbümin) ve tiroksin bağlayan globulin ile taşınır. Tiroid hormonlarının taşınmasında afinitesi en yüksek olan taşıyıcı protein tiroksin bağlayan globulindir. T3'ün tiroksin bağlayan globuline bağlanma afinitesi T4'e göre daha azdır. T3 dokuya T4'e göre daha çabuk geçer ve dokuda etkin kısmı oluşturur (40).

2.4. Tiroid Nodülleri

Tiroid nodülleri, tiroid bezinde palpasyon ya da USG ile çevre dokudan ayrılabilen lezyonlardır. Tiroid bezinin en sık hastalık grubunu oluştururlar. Tiroid nodülleri, sağlıklı kişilerde yapılan tarama amaçlı ultrasonografi değerlendirmelerinde %50-%60 oranında saptanabilmektedir (41). Nodül sıklığının yaşla arttığı, 50 yaş üzerinde sonografik sıklığın %50'leri bulunduğu bilinmektedir. Ülkemizde, 18-65 yaş arasındaki sonografik prevalans %23,5 iken, 65 yaşın üzerinde bu sıklığın %37,4'leri bulunduğu saptanmıştır (42). Epidemiyolojik çalışmalarda, palpabl tiroid nodülü prevalansı, yeterli

iyot alımının olduğu yerlerde yaşayan kadınlarda yaklaşık %5, erkeklerde de %1 olarak belirtilmektedir (43, 44). Tiroid nodülleri tek olabileceği gibi sıklıkla birden fazladır. Tiroid nodülleri solid, kistik veya karışık yapıda, fonksiyonlu ya da fonksiyonsuz olabilir. Boyutları değişkenlik gösterir ve küçük insidentalomalardan semptomatik büyük kitlelere kadar değişik boyutlarda saptanabilir (45).

Tiroid nodülleri çoğunlukla ötiroid kişilerde görülür. Bası semptomlarına ya da kozmetik problemlere sebep olmaz. Öncelikli yaklaşım, nodüllerin yaklaşık %5'inde var olan kanser riskinin dışlanmasıdır. Tiroid nodüllü hastaların çoğu asemptomatiktir, ancak semptomların olmaması maligniteyi ekarte ettirmez (45). Tek nodüllü ya da çok nodül içeren guatr da malignite prevalansı benzerdir (46). Çocuklarda, eksternal ışınlama ya da kontaminasyonla iyonize radyasyona maruz kalmış kişilerde, ailede tiroid kanseri varlığında mevcut nodülün malign olma ihtimali artar (47, 48). Tiroid nodülünde etyolojik nedenler: Benign nodüler guatr , basit veya hemorajik kistler, folliküler adenom, fokal tiroidit alanları, papiller karsinom, folliküler karsinom, hurthle hücreli karsinom, kötü diferansiye karsinom, medüller karsinom, anaplastik karsinom, primer tiroid lenfoması, nadir primer maligniteler (sarkom, teratom ve diğer tümörler), metastatik tümörler (45).

Nodül saptanan bir hastada yapılması gerekli tanısal işlemler şunlardır:

- Anamnez ve fizik muayene
- Tiroid fonksiyon testleri
- Görüntüleme
 - Tiroid ultrasonografisi
 - Tiroid sintigrafisi (yalnızca TSH baskılı ve >1,3 cm nodülü olanlarda önerilir).
- Tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi (TİİAB) (riskli nodüllere)

2.4.1. Anamnez ve Fizik Muayene

Tiroid nodülü tespit edilen hastalarda ayrıntılı öykü ve tiroid bezi ile boyundaki lenfadenopatilere yönelik muayene yapılmalıdır. Tiroid nodülü saptanan her hastada hikâyede sorgulanması gereken noktalar; çocukluk döneminde baş-boyun bölgesine radyoterapi uygulanması, tüm vücut ışınlanması (49), ailede tiroid kanseri hikâyesi (medüller veya differansiye) veya birinci derece akrabaların birinde tiroid kanser sendromu

hikâyesi (örn; Cowden Sendromu, familyal polipozis, Gardner Sendromu, Carney kompleksi, multipl endokrin neoplazi-MEN, Werner sendromu) (48), akromegali öyküsü, çocukluk ya da adölesan dönemde iyonize radyasyona (nükleer kazalar) maruziyettir (28). Ayrıca; nodülün hızlı büyümesi ve ses kısıklığı, nefes darlığı, yutma güçlüğü ve öksürük gibi bası bulguları araştırılmalıdır. Nodül saptanan hastanın yaşı ve cinsiyeti önemlidir. Çocukluk veya adölesan dönemde (<20 yaş) saptanan nodüllerin malignite riski üç dört kat yüksektir (50). Ayrıca, erkek cins ve ileri yaş da risk faktörleridir (3). Hızlı büyüyen kitle maligniteyi düşündürmelidir, ancak tiroid malignitelerinin çoğunun da yıllarca bez içerisinde sessiz nodül olarak kaldığı unutulmamalıdır (45).

Fizik muayenede tiroid bezi ve servikal lenf nodları dikkatlice incelenmelidir. Palpe edilemeyen nodüller de, aynı büyüklükteki sonografik olarak kanıtlanmış palpe edilebilen nodüller gibi, aynı malignite riskine sahiptir (51). Nodül ya da nodüllerin kıvamı, yeri ve boyutları saptanmalı ve kaydedilmelidir. Sert, çevre dokulara fiske nodül, vokal kord paralizisi, servikal lateral lenfadenopati (LAP) varlığı, bası bulguları maligniteyi düşündürmelidir. Tiroid tümörleri yavaş büyür ve ağrı, hassasiyet, solunum yollarının sıkışması, yutma güçlüğü gibi sorunlar nadirdir (45). Klasik inflamatuvar özellikler (nodülün üzerindeki cildin ağrı, ısı ve kızarıklığı) nodülle birlikteyse, o zaman süperatif tiroidit çok olasıdır. Malign nodül nadiren ağrılı olabilirse de tiroide ağrı ve hassasiyetin sık nedenleri, benign nodüller içine kanama ve subakut tiroiditlerdir (52). Fizik muayenede mukozal nörinomlar ve marfanoid yapı gibi bulgular MEN 2B'yi akla getirmelidir (45, 53).

2.4.2. Tiroid Fonksiyon Testleri (TFT)

Tiroid nodülü olan bir hastanın ilk değerlendirmesi sırasında serum TSH düzeyi ölçülmelidir. TSH düzeyine göre hipotiroidi veya hipertiroidi için ileri değerlendirme yapılmalıdır. TSH düşük olan vakalarda hiperfonksiyone nodül varlığı göz önünde bulundurulmalıdır. TSH düşük ve özellikle nodül 1,3 cm üzerinde ise nodülün fonksiyonunu belirlemek için radyonüklid tiroid sintigrafisi yapılmalıdır. Nodülün hiperaktif olması durumunda, bu nodüllerde nadiren malignite gelişebileceğinden TİİAB yapılması gerekmez (54). Yüksek TSH düzeylerine sahip hastalarda, tiroid nodül incelemesi ötiroid hastalara benzerdir ve değerlendirmeler bu doğrultuda yapılmalıdır (55, 56).

Serum tiroglobülin düzeyi, nodül değerlendirmede tümör belirteci olarak kullanılmamalıdır. Çoğu tiroid hastalıklarında serum tiroglobulin düzeyleri yükselebilir ve tiroid kanseri için duyarlı olmayan, spesifik olmayan bir testtir (57-59).

Tiroid nodüllerinin takibinde kalsitonin ölçümü şüpheli biyopsilerde, tekrarlayan yetersiz biyopsilerde ve tiroid cerrahisi öncesinde sitolojik tanı bilinmiyorsa yararlıdır. Medüller tiroid kanseri (MTK) veya MEN 2 şüphesi varsa kalsitonin ölçümü mutlaka yapılmalıdır. Kalsitonin düzeyi yüksek bulunursa tekrarlanmalıdır. Kalsitonin düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunması MTK açısından tanısal öneme sahiptir (28).

2.4.3. Görüntüleme

2.4.3.1. Tiroid ultrasonografisi

Tiroid nodülünden şüphelenilen, nodüler guatrı veya radyolojik bulgusu (Bilgisarlı tomografide, manyetik rezoans görüntülemeye veya pozitron emisyon tomografisinde saptanan insidental nodülleri) olan tüm hastalara tanısal tiroid ultrasonografisi (USG) yapılmalıdır. Yüksek çözünürlüklü tiroid USG'si, nodüllerinin tespitinde en hassas yöntemdir (45).

Tiroid USG; tiroid bezinde bir nodüler yapının varlığını, yerini, büyüklüğünü, nodül bileşimi (solid/kistik ayrımı veya süngerimsi yapı), ekojenitesi, sınır özellikleri, kalsifikasyon varlığı ve tipini, vaskülarizasyonunu, nodüle eşlik eden servikal bir LAP olup olmadığını değerlendirebilir (60, 61). Tablo I'de tiroid ultrasonografisinde nodüller için belirtilmesi gereken özellikler verilmiştir (60).

Birçok çalışmada birbiriyle uyumlu şekilde ultrasonografi incelemesindeki birçok özelliğin, özellikle papiller tiroid kanseri (PTK) olmak üzere, tiroid kanseriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Mikrokalsifikasyon varlığı, nodül hipoekojenitesi, düzensiz infiltratif veya multilobüle sınırlar ve transvers kesitte uzunlamasına görünüm tiroid kanseri için riskli özellikler arasında yer almaktadır. Tiroid kanseri için özgüllüğü en yüksek olan USG bulguları (medyan > %90) mikrokalsifikasyon varlığı, düzensiz sınır ve transvers kesitte uzunlamasına görünümüdür ancak her bir özellik için duyarlılık anlamlı düzeyde düşüktür (62-69). Benign nodüllerin %55 kadarı tiroid parankimiyle kıyaslandığında hipoekoik olarak bulunduğu için hipoekojenite özgüllüğü daha düşük bir parametredir (63).

Çok değişkenli analizler, mikrolobüle sınırı olan veya mikrokalsifikasyon içeren nodüllerde malignite olasılığının bu özellikleri göstermeyen hipoekoik nodüllerden daha yüksek olduğunu göstermiştir (62). Nodül içeriğindeki mikrokalsifikasyonlarla kombine makrokalsifikasyonlar, yalnızca mikrokalsifikasyon gösteren nodüllerle aynı malignite riskini taşır (62, 66). Ancak, tek başına intranodüler makrokalsifikasyon varlığı tiroid kanseriyle ilişkilendirilmemektedir (70). Öte yandan, bölünmüş periferik kalsifikasyonlarla birlikte kalsifikasyon çevresinde yumuşak doku halkası içeren nodüller büyük olasılıkla maligndir ve bölünmüş/bozulmuş kalsifikasyon alanları tümör invazyonunun göstergesi olabilir (71, 72)

Tablo I. Tiroid ultrasonografi raporlarında saptanan nodüller için belirtilmesi gereken özellikler

| | |
|--|---------------------------------------|
| Boyut (3 eksen veya her zaman longitudinal ölçümden iki eksen mm olarak) Lokalizasyon (sağ, sol, isthmus, üst, orta, alt) Biçim (Düzenli değil, oval, yuvarlak) | Kalsifikasyonlar |
| | Yok |
| | Mikrokalsifikasyon |
| | Makrokalsifikasyon |
| | Yumurta kabuğu kalsifikasyon-çizgisel |
| Yapısı | Halo |
| Solid | Yok |
| Kistik | Kalın ya da ince |
| Kalın ya da ince | Sürekli |
| Ekojenite | Kesintiye uğramış |
| Hiperekoik | Doppler sonuçları |
| İzoekoik | Avasküler-Tip I |
| Hipoekoik | Çevresel belirgin-Tip II |
| Belirgin hipoekoik | Santral belirgin-Tip III |
| Kenarlar | Uzunluk > genişlik |
| İyi sınırlı ve regüler | Mevcut |
| Bozulmuş ve irregüler | Yok |

Ultrasonografik olarak folliküler tiroid kanserleri (FTK), PTK'dan farklı olarak intranodüler damarlanma artışı (bunun PTK'da bağımsız prediktif değer taşımadığı gösterilmiştir), daha izo/hiperekoik olma, non-kalsifiye, yuvarlak (transvers boyutu anteroposterior boyuttan daha büyük) olma ve daha düzenli sınırlara sahip olma eğilimindedir (73).

Ito ve ark.(74)'nın gerçekleştirdikleri çalışmaya istinaden 'yüksek düzeyde şüphe' içeren ancak sonografik olarak <1 cm şüpheli bir tiroid nodülünde tiroid dışı yayılım ve lenf nodu tutulumu yoksa hemen İİAB yapmak yerine, nodül ve lenf nodlarının yakın sonografik takibi tercih edilebileceği bildirilmiştir. Hasta yaşı ve tercihi de bu kararı şekillendirebilir.

Tiroid nodülü tespit edildiğinde, ön servikal lenf nodlarının (servikal ve bilateral) sonografik incelemesi yapılmalıdır. Eğer USG’de süpheli bir lenf nodu saptanırsa bu lenf noduna İİAB yapılmalı ve gerekli ise yıkama (wash-out) tekniği ile tiroglobulin ölçümü yapılmalıdır. Ayrıca böyle bir durumda sonografik özellikleri primer tümöre işaret edebileceği düşünülen <1 cm nodüllere de USG altında İİAB yapılmalıdır (28, 75).

Elastografi, noninvaziv yollarla kanser riskinin değerlendirilmesinde umut verici bir yöntem olmakla birlikte, performansın kişiye ve hastaya göre değişken olması nedeniyle henüz rutin kullanımda yeri yoktur (28). Tablo II’de tiroid nodüllerinin malignite düşündürülen ultrasonografik bulguları (28, 75) ile Tablo III’de lenf nodlarında malign tutulum düşündürülen USG bulguları (28, 76) verilmiştir.

Tablo II. Tiroid nodüllerinin ultrasonografik karakterlerine göre malignite belirteçleri

| Malign özellikler | Benign özellikler |
|---|--|
| Solid hipoekoik nodül veya kısmen kistik nodülün solid hipoekoik bileşeni | Hiperekojenite, izoekojenite |
| Mikrokalsifikasyon veya kesintili kenar kalsifikasyonu | Kenar bütünlüğü korunmuş kesintisiz yumurta kabuğu kalsifikasyon |
| Düzensiz sınırlar (infiltratif,mikrolobüle) | Süngerimsi (spongiform) nodül |
| Halo yokluğu veya inkomplet halo | Halo varlığı ya da pürüzsüz kenar |
| Yükseklik>genişlik (transvers kesitte) | Pür kistik nodül |
| Patolojik servikal LAP varlığı | Reaktif özellikli servikal LAP |
| Ekstratiroidal uzanım | |

Tablo III. Lenf nodlarında malign tutulum düşündürülen USG özellikleri

| | Duyarlılık (%) | Özgüllük (%) |
|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| Mikrokalsifikasyonlar | 5–69 | 93–100 |
| Kistik görünüm | 10–34 | 91–100 |
| Periferik vaskülarite | 40–86 | 57–93 |
| Hiperekojenite | 30–87 | 43–95 |
| Yuvarlak şekil | 37 | 70 |

2.4.3.2. Tiroid sintigrafisi

Tiroid sintigrafisi, USG’de nodül saptanan, TSH baskılı olan hastalarda fonksiyonite belirlemek için kullanılır. Ekstranodüler uptake supresyonu olsun veya olmasın bir fonksiyone nodül hemen her zaman benignedir. Buna karşın nodüllerin %90’ını oluşturan nonfonksiyone bir nodül, %5 oranında malignite riskine sahiptir. Bu nedenle TSH baskılı hastalarda fonksiyone bir nodül varsa İİAB yapılmasına ihtiyaç yoktur. Bir nodülün boyutunu ölçmek için kullanılmaz (3).

2.4.3.3. Florodeoksiglukoz - Pozitron Emisyon Tomografisi (FDG-PET)

FDG-PET, malign ve malign olmayan hastalıkların değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Yeni saptanan tiroid nodülleri veya tiroidal hastalığı olan hastaların değerlendirilmesinde 18FDG-PET görüntüleme önerilmemekle birlikte, anormal tiroid tutulumunun tesadüfi olarak saptanması da mümkündür. Tiroid bezindeki tesadüfi FDG-PET tutulumu fokal veya diffüz olabilir (77-79). Sonografik olarak doğrulanmış bir tiroid nodülünde fokal FDG-PET tutulumu artmış tiroid kanser riskinin göstergesidir ve >1 cm nodüllerde İİAB önerilir. Kronik lenfositik tiroiditin klinik ve sonografik kanıtlarıyla beraber diffüz FDG-PET tutulumu olması halinde ileri görüntüleme ve İİAB'ye gerek yoktur (28).

2.4.4. Tiroid İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi

TİİAB, klinik endikasyonun varlığında tiroid nodüllerinin değerlendirilmesinde en doğru ve maliyet-etkin yöntemdir. TİİAB, tiroid nodüllerinin benign/malign ayırımında altın standart testtir. USG rehberliğinde yapılan TİİAB, palpasyon ile yapılan TİİAB ile karşılaştırıldığında hem tanı ölçütleri hem de yanlış negatif sitoloji oranlarını daha düşük saptanmıştır (4, 5).

Tiroid nodüllerine İİAB şu durumlarda önerilir :

- Güçlü şüphe uyandıran sonografik görünüme sahip en geniş çapı >1 cm nodüller
- Orta düzeyde şüphe uyandıran sonografik görünüme sahip en geniş çapı >1 cm nodüller
- Düşük düzeyde şüphe uyandıran sonografik görünüme sahip en geniş çapı >1.5 cm nodüller
- Çok düşük düzeyde şüphe uyandıran sonografik görünüme sahip (Örn: spongioform) >2 cm

Şu durumlarda tanısal amaçlı İİAB yapılması gerekli değildir :

- Yukarıdaki kriterleri taşımayan nodüller
- Saf kistik nodüller

Tablo IV’de tiroid nodüllerinin USG özellikleri, tahmini malignite riski ve İİAB için önerilen çap verilmiştir (28).

Patolojik lenf nodları ya da ekstratiroidal yayılım ile birlikte şüpheli USG bulguları mevcut olduğunda, $\leq 5-10$ mm çaplı nodüllerde de İİAB düşünülmelidir. İİAB, hastanın kişisel ya da aile öyküsü olan veya tiroid kanseri şüphesi bulunan klinik veya görüntüleme bulguları olan durumlarda da uygundur. Yine henüz şüpheli USG ve/veya klinik bulguları olmayan, ancak iyi huylu bir görünüme de sahip olmayan 10 mm’den büyük nodüller için de İİAB endikasyonu vardır (74).

İİAB’de sitopatolojinin raporlanmasında ‘Bethesda Tanı Sınıflaması’na göre yapılması gerektiği güçlü öneri olarak sunulmaktadır. Bethesda Sistemine göre 6 tanısal kategori bulunmakta ve literatür taramaları ve uzman görüşleri göz önüne alınarak her kategori için ön görülen bir kanser riski bulunmaktadır (80-82).

Bu kategoriler:

1. Tanısal olmayan, yetersiz
2. Benign
3. Önemi belirsiz atipi/önemi belirsiz folliküler lezyon (ÖBA)
4. Folliküler neoplazi/folliküler neoplazi şüphesi (FN) (bu kategori aynı zamanda Hurtle hücreli neoplazi/Hurtle hücreli neoplazi şüphesini de içermektedir)
5. Malignite şüphesi
6. Malign şekilde sıralanabilir.

Tablo IV. Sonografik özelliklere göre tahmini malignite riski ve İİAB önerileri

| Sonografik pattern | USG özellikleri | Tahmini malignite riski | Biyopsi için önerilen çap |
|--------------------|--|-------------------------|---|
| Yüksek risk | Solid hipoekoik nodül veya solid hipoekoik komponentli parsiyel kistik nodül: düzensiz sınırlar (infiltrative, mikrobüle, dikensi), mikrokalsifikasyonlar, boyun enden uzun olması, hipoekoik yumuşak doku komponenti bulunan bozulmuş çevresel kalsifikasyon, tiroid dışına uzanımın kanıtı | >%70-90 | >1 cm |
| Orta risk | Mikrokalsifikasyon, tiroid dışı uzanım ve uzunlamasına şekil içermeyen düzgün sınırlı hipoekoik solid nodüller | %10-20 | >1 cm |
| Düşük risk | Mikrokalsifikasyon, tiroid dışı uzanım ve uzunlamasına şekil içermeyen düzgün sınırlı izoekoik/hiperekoik solid nodül veya kenarında uniform solid alanlar içeren kısmen kistik nodül | %5-10 | >1,5 cm |
| Çok düşük risk | USG’de yüksek, orta veya düşük risk içinde yer almayan spongioform veya kısmen kistik nodüller | <%3 | >2 cm yapılabilir İİAB yapılmadan izlem de makul bir seçenektir |
| Benign | Pür kistik nodüller (Solid komponent yok) | <%1 | Biyopsi gereksiz* |

*Kist aspirasyonu, semptomlara yönelik veya kozmetik amaçlı planlanabilir.

Tablo V’de TİİAB’lerin Bethesda sınıflamasına göre öngörülen malignite riskleri verilmiştir (83).

Tablo V. Tiroid sitopatolojisi raporunda Bethesda sınıflaması: tanısal kategoriler ve malignite riski

| Tanısal Kategori | Bethesda sınıflamasına göre öngörülen malignite riski (%) (83) | Cerrahi olarak çıkartılan nodüllerin gerçek riski (%),Ortalama) (84) |
|----------------------------|--|--|
| Tanısal olmayan / Yetersiz | 1-4 | 20 (9-32) |
| Benign | 0-3 | 2.5 (1-10) |
| Önemi Belirsiz Atipi | 5-15 | 14 (6-48) |
| Foliküler Neoplazi | 15-30 | 25 (14-34) |
| Malignite Şüphesi | 60-75 | 70 (53-97) |
| Malign | 97-99 | 99 (94-100) |

Birinci gruptaki tanısal olmayan İİAB’ler ile ilgili; USG rehberliğinde tekrar İİAB ve yerinde sitolojik inceleme önermektedir, tekrarlayan İİAB’ye rağmen tanı konulamayan nodüllerde USG’de yüksek şüphe olmaması durumunda yakın takip ya da histopatolojik tanı için cerrahi önerilmektedir ve bu grupta USG’de yüksek şüphe varlığı, USG

takiplerinde iki boyutta % 20'den fazla büyüme ve klinik risk faktörleri varlığında cerrahi önermektedir (85).

Yalancı pozitif yorumlamayı önlemek için tekrar İİAB'nin ilk İİAB'den sonra 3 aydan daha kısa bir sürede yapılmaması önerilmektedir (86). Tanısal olmayan sitolojilerde malignite şüpheli ise yeniden İİAB için sonrası 3 aylık bir bekleme süresi gerekli değildir, daha erken bir zamanda da İİAB yapılabilir. Tekrarlanan İİAB lerde, özellikle kistik bileşenin % 50'den az olduğunda nodüllerin % 60-% 80'inde bir tanısal sitoloji verebilir (87-89). Sonografik özellikler, tekrarlayan nondiagnostik nodül sitoloji sonuçlarına sahip nodüllerin malign olma olasılığının daha yüksek olduğunu belirlemek için de yararlıdır (60).

İkinci gruptaki hastalarda yani benign sitolojiye sahip nodüllerde başka tanısal uygulamalar veya tedavi yaklaşımları gerekli değildir. Literatürde benign sitolojiye sahip nodüller incelendiğinde >4 cm nodüllerde malignitenin kesin olarak ekartasyonu belirsizliğini korumaktadır. Bu hasta grubunda daha küçük boyutlu nodüllerden farklı tedavi yaklaşımları izlenebilir (51, 90).

Önemi belirsiz atipi saptanan hastalar, karar vermenin oldukça karmaşık olduğu hasta grubunu içerir. Tekrarlanan bir İİAB, çoğu durumda daha kesin bir sitolojik tanı verirken, nodüllerin % 10 - 30'u tekrar tekrar önemi belirsiz atipidir (91-94). Cerrahi takipteki malignite oranı, tek bir önemi belirsiz atipi tanısı olan hastalar (37/90, %41), iki ardışık önemi belirsiz atipi tanısı (22/51, %43) ve başlangıç önemi belirsiz atipi tanısını takiben benign sitoloji tanısı alan hastalar (2/7, %29) için benzer olduğu gösterilmiştir (95). Önemi belirsiz atipi sitolojisine sahip nodüller için, klinik ve sonografik özelliklerin değerlendirilmesinden sonra, takip ya da tanı amaçlı cerrahi şeklinde bir strateji ile doğrudan ilerleme yerine malignite risk değerlendirmesini desteklemek için tekrar İİAB ya da moleküler test uygulamaları önerilmektedir. Tekrarlayan İİAB, moleküler test ya da her ikisi birden gerçekleştirilmez ya da sonuç alınamazsa, klinik risk faktörleri, USG özellikleri ve hasta tercihine bağlı olarak takip ya da tanı amaçlı cerrahi yapılabileceği belirtilmektedir (28).

Foliküler neoplazm saptanan hastalara tanı amaçlı cerrahi eksizyon önerilmekle birlikte klinik ve sonografik özelliklerin değerlendirilmesinden sonra, malignite riskini

değerlendirmede moleküler testlerin kullanılabilirdiği ve moleküler test uygulanmadığı durumlarda cerrahinin tercih edilmesi gereken seçenek olduğu belirtilmektedir (96, 97).

Bethesda sisteminin beşinci grubunda yer alan malignite kuşkusuna sahip hastalarda; sitoloji papiller karsinom için kuşkulu olarak rapor ediliyorsa, klinik risk faktörlerine, USG özelliklerine, hastanın tercihine ve moleküler testin sonuçlarına (uygulanmışsa) bağlı olarak malign sitolojinin cerrahi tedavisi gibi yaklaşılmasını önermektedir. Eğer cerrahi yaklaşımı değiştirmesi bekleniyorsa, papiller karsinom için kuşkulu nodüllerde klinik ve sonografik özellikler değerlendirildikten sonra BRAF için mutasyon testleri veya mutasyonel marker paneli taramaları (BRAF, RAS, RET/PTC, PAX8/PPAR γ , vb.) yapılması düşünülebilir (98-100).

TİİAB sonuçları öncelikle hastalarda tedavinin medikal mi yoksa cerrahi mi olacağına karar vermede en önemli belirleyicilerden birisidir. Cerrahi tedavilerin, özellikle İİAB sitolojik sonuçlarına göre belirlenmesi ile birlikte yapılan cerrahi sayılarında azalma ve tiroidektomi piyeslerinde malignite oranlarında artış saptanmıştır (101).

Bethesda gruplarından belirsiz sitolojiye sahip soliter nodüllerde uygulanacak başlangıç cerrahi yaklaşımı tiroid lobektomi şeklinde önerilmektedir. Bu yaklaşımda, klinik veya sonografik özelliklere, hasta tercihine ve/veya gerçekleştirildiğinde moleküler teste göre modifikasyon yapılabilir. Sitolojik olarak malignite şüphesi olanlarda, sonografik olarak şüpheli bulguları taşıyanlarda, büyük nodüllerde (>4 cm), ailesel tiroid karsinomu ya da radyasyona maruz kalma öyküsü bulunan hastalarda total tiroidektomi yapılabilir (102-105). Bilateral nodüler hastalığı olan belirsiz sitolojiye sahip nodüllerde; anlamlı tıbbi komorbiditeleri olan hastalarda, kontralateral lobda gelecekteki bir ameliyat yapılması olasılığını istemeyen hastalarda, total ya da totale yakın tiroidektomi uygulanabilir. Bu hasta grubunda da belirsiz sitolojiye sahip nodülün histopatolojik incelemesi malignite lehine gelirse tamamlayıcı tiroidektomi önerilmektedir (106). Sitolojik olarak önemi belirsiz atipi, foliküler neoplazi veya malignite şüphesi olarak sınıflandırılan ve BRAFV600E, RET/PTC, PAX8/PPAR γ mutasyonlarının pozitif olduğu bilinen nodüllerde malignite riskinin %95'in üstünde olması nedeniyle bu nodüllere sitolojik tiroid kanseri gibi benzer değerlendirme yapılması önerilmektedir (96, 97, 107).

Çoklu nodülü olan hastalar, soliter nodüllerle aynı malignite riskine sahiptir (66, 108). Her nodülün USG ile risk durumu değerlendirilmelidir. Sadece dominant veya en büyük nodül aspire edilirse, tiroid kanseri tanısı atlanabilmektedir (66).

Benign İİAB'ye sahip olup USG olarak yüksek şüphe taşıyan nodülü olan hastalarda yıllık US ve İİAB takibi önermektedir. Bu grupta USG olarak düşük ve orta şüphe taşıyan nodülü olan hastalar 12-24 ay aralıklarla USG takibine alınabilirler. Takiplerde boyutta artış (iki farklı çapta >%20 artış ya da hacimsel olarak %50 artış) ya da yeni şüpheli nodül oluşumu saptanırsa tekrar İİAB uygulanmalıdır (109). İki kez İİAB uygulanmış ve benign sitolojik sonuç elde edilmiş nodüle sahip hastalarda USG takibi gerekli değildir (110, 111).

2.5. Tiroid Kanseri

En sık rastlanan endokrin malignitesidir. Tüm nodüllerin ortalama %5'i kanserdir (112). Tiroid kanseri Türkiye'de kadında memeden sonra ikinci sıklıkta görülür. Erkeklerle göre kadınlarda dört kat daha siktir. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, kadın ve erkekte tiroid kanser insidansını 2014 yılı için kadında 20,4, erkekte 5,5 olarak vermektedir (113).

Tiroid bezinde bulunan folliküler hücrelerden diferansiye tiroid karsinomları gelişirken parafolliküler hücrelerden meduller karsinom gelişir. Diferansiye tiroid karsinomu terimi folliküler hücreden kaynaklanan tüm iyi diferansiye tiroid karsinomlarını tanımlamaktadır (114). Papiller ve folliküler kanserler diferansiye (farklılaşmış) tiroid kanseri olarak adlandırılır. Tüm tiroid kanserlerinin %94'ünü oluşturmaktadırlar. Diferansiye tiroid kanserleri yavaş büyüme eğilimindedirler ve prognozları da oldukça iyidir. Anaplastik kanserlerin ise prognozları oldukça kötüdür. Tiroidin parafolliküler C hücrelerinden kaynaklanan ve kalsitonin üreten kanseri medüller tiroid kanseridir. Sporadik ya da ailesel olabilir (115). Tiroid tümörleri 2004 yılı Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması tablo VI'da verilmiştir.

Tablo VI. 2004 yılı Dünya Sağlık Örgütü tiroid tümörleri sınıflaması

| Tiroid karsinomları | Diğer tiroid tümörleri |
|---|---|
| Papiller karsinom (PTK) Foliküler karsinom (FTK) Az differansiye karsinom İndifferansiye (anaplastik) karsinom Medüller karsinom (MTK) Skumöz hücreli karsinom Mukoepidermoid karsinom Eozinofilinin eşlik ettiği mukoepidermoid karsinom Müsinöz karsinom Medüller-foliküler mikst tümör Timus benzeri diferansiyasyonu olan iğsi hücreli tümör Timus benzeri diferansiyasyon gösteren karsinom | Teratom Primer lenfoma ve plazmositom Ektopik timoma Anjiosarkom Düz kas tümörleri Periferik sinir kılıfı tümörleri Paraganglioma Soliter fibröz tümör Foliküler dendritik hücreli tümör Langerhans hücreli histiyositozis |
| Tiroid adenomu ve benzer tümörler | Sekonder tiroid tümörleri |
| Foliküler adenom Hyalinize trabeküler adenom | |

2.5.1. Papiller Tiroid Kanseri

Papiller tiroid kanseri tüm tiroid kanserleri arasında en sık görülenidir. Tiroid kanser olgularının yaklaşık % 80'inden sorumludur. Servikal lenf noduna yayılım eğilimi olmasına rağmen uygun şekilde tedavi edilirse uzun dönem prognozu oldukça iyidir (116). Papiller tiroid kanseri genellikle kapsülsüz, sınırları belirsiz, invaziv bir tümördür. Yaklaşık % 10'u kapsüllü olabilir (115). Radyasyon ile ilişkisi en iyi bilinen tiroid kanseridir (117). Çocukluk çağında tiroidin radyasyona maruz kalması benign ve malign tiroid tümörleri ile ilişkili en belirgin tanımlanmış çevresel faktördür. Radyasyona maruz kalmanın potansiyel kaynakları arasında radyasyonun terapötik kullanımları (örn. çocuklukta görülen malignitelerin tedavisi), atomik silahların (örneğin Nagazaki / Hiroşima, Japonya) kullanılmasından kaynaklanan çevresel maruziyet veya nükleer santral kazaları (örneğin Çernobil) yer alır (118).

Birinci derece akrabadaki tiroid kanseri öyküsü veya tiroit kanseri sendromunun aile öyküsü (örn., Ailesel polipoz, Karney kompleksi, MEN2, Werner sendromu veya Cowden sendromu) öyküsü varsa nodül malign olabilir. Bir çalışmada tiroid kanseri hastalarının akrabalarında 10 kat artmış tiroit kanseri riski vardı (119).

Mitojen ile aktive olan protein kinaz yolundaki proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar veya yeniden düzenlemeler, farklılaşmış tiroid kanserinin gelişimi ve ilerlemesi için kritiktir (120, 121). Bu yolağın önemi, iyi diferansiye tiroid kanserlerin %70 inde RET / PTC, NTRK1, RAS veya BRAF'de, nonoverlapping aktivasyon

mutasyonlarının bulunmasıyla vurgulanmaktadır (122). Ayrıca, RET / PTC (123) veya BRAF (124) 'in tiroid-hedefli aktivasyonunun, transgenik farelerde tiroid kanserinin gelişmesiyle sonuçlandığı gösterilmiştir.

PTK'da anaplastik tümöre transformasyon %1'den daha azdır ve p53 onkogen ekspresyonu ile ilişkilidir (125, 126). En sık 3. ve 4. dekatta görülmesine rağmen 4. dekatta doruk seviyeye ulaşır. Kadınlarda erkeklere oranla 3 kat daha fazladır. Çocuklarda cinsiyet oranı eşittir (127). Tiroid kanserleri içerisinde en iyi prognoza sahip olanıdır. Papiller kanserlerin %95'i sporadik, %5'i aileseldir. PTK hem tiroid bezi içerisinde yayılmaya hem de tiroid kapsülünü ve boyundaki komşu yapıları invaze etmeye eğilimlidir. Lenfatik sistem yoluyla yayılmaya eğilimlidir. Sıklıkla lateral ve santral boyun lenf nodlarına ya da mediasten lenf nodlarına metastaz yaparlar. Lenfatik yayılımın yanında hematojen olarak da yayılabilir. Özellikle kemik ve akciğer olmak üzere uzak metastaz yapmaya eğilimlidir (128). Tanı anında yaklaşık %5-10 oranında uzak metastaz saptanabilir. En sık metastaz yeri sırasıyla akciğer, kemik, beyin ve diğer organlardır. Tanı anında sadece akciğer metastazı olanlarda 10 yıllık sağ kalım %51-67, sadece kemik metastazı olanlarda %21-27 iken hem kemik hem akciğer metastazı olanlarda sağ kalım % 13-14 civarındadır (129, 130)

PTK tanısı histolojik olarak papiller yapı, psammoma cisimciklerinin olması ve nükleus özelliklerine (ince kromatin yapısı, nükleer yarıklanma) göre konulur. Bu papiller yapılar; vasküler-stromal iskelet ve etrafında dizilmiş karakteristik hücrelerden oluşmaktadır. Bu papiller yapının varlığı PTK tanısı için önemli bir ipucu olmakla birlikte Graves hastalığında, benign nodüllerde ve hipotiroidik guatrlarda görülen makro ve psödopapillalardan ayırt edilmelidir. PTK'nın tipik nükleus özellikleri (ince kromatin yapılı, büyük çaplı ve büyük nükleoluslu, soluk boyanan, oval ya da elonge şekilde düzensiz sınırlı nükleuslar, longitudinal yarıklar varlığı, intranükleer yalancı inklüzyonlar, sitoplazmik invaginasyon, buzlu cam görünümlü nükleuslar) tanıda ayırt ettiricidir (131).

2.5.2. Folliküler Tiroid Kanseri

Tiroid kanserlerinin %10'ununu oluşturur ve iyot eksikliği olan ülkelerde folliküler kanser sıklığı bir miktar artmaktadır. Yaşla beraber sıklığı artarken 50'li yaşlarda pik yapar (132, 133). Folliküler kanser yavaş büyüyen bir tiroid kitlesi şeklinde gelişir ve ilk tanı konduğunda olguların %25'inde ekstratiroidal invazyon, %5-10'unda lokal lenf

bezlerinde metastaz ve %10-20'sinde uzak metastaz vardır. Tiroidi çevreleyen kaslara ve trakeaya invazyon karakteristik özelliğidir. Folliküler kanser akciğer ve kemiğe metastaz yapma eğilimindedir. Kemik metastazları osteolitikdir. Sıklıkla lezyonlar I131 uptake yaparlar. Papiller kansere göre mortalitesi daha fazladır. Tanıdan 10-15 yıl sonra mortalite oranı %10-50 arasındadır (131).

Hurtle hücreli ya da diğer adıyla onkositik hücreli foliküler karsinom foliküler büyüme paterni gösterir. Sitoplazması çok sayıda mitokondri olması nedeni ile granüler eozinofilik görünümündedir. Dünya sağlık örgütü tarafından foliküler karsinomun histolojik varyantı olarak kabul edilmiştir. Rekürrens, metastaz ve mortalite ile ilişkilidir (28).

Foliküler karsinom minimal invaziv (kapsülsüz) ve yaygın invaziv kanserler olarak sınıflandırılmaktadır. Minimal invaziv kanserler kapsülsüz ya da ancak mikroskopla görülecek ince kapsülü ve minimal invazyonu olan kanserlerdir. Folliküler adenomdan ayrımı için kapsül ya da damar invazyonu gösterilmelidir. Sessiz tümörlerdir. Mortalite %5 in altındadır. Yaygın invaziv kanserler ise ekstratiroidal ve damar invazyonu olan tümörlerdir ve mortalite %5 ile %30 arasındadır (28, 134).

2.5.3. Medüller Tiroid Kanseri

Medüller tiroid kanseri (MTK) tiroid bezinin parafoliküler C hücrelerinden kaynaklanan bir nöroendokrin tümördür ve tüm tiroid kanserlerinin% 5-10'unu oluşturur ve nodüler tiroid bozukluklarında% 1-2 oranında görülür (135, 136).

MTK'ler sporadik veya kalıtsal olabilir. Sporadik MTK'ler genellikle tek taraflı, soliter tümörlerdir. Herediter MTK ise genelde bilateral ve multiple odaklar halindedir. Tümör odakları genellikle C hücrelerinin anatomik yerleşimlerine uygun olarak bezin üst 2/3'ünde konumlanmıştır. Herediter tümörler MEN 2 sendromuyla ilişkilidir: MEN2A, MEN2B ve familyal MTK. Familyal MTK, MEN2A'nın bir alt tipi olarak kabul edilir (137). Ayrıca, sporadik formlar vakaların %75'ini oluştururken, MEN2 ilişkili vakaların geri kalanını oluşturmaktadır (138, 139).

Familyal olarak MTK, bir germline mutasyon ile otozomal dominant kalıtım şekli izleyerek, MEN 2 sendromlarının en sık görülen bileşeni veya sadece familyal MTK ile seyreden familyal medüller tiroid kanseri olarak görülebilir. Sporadik MTK olguları genellikle 40 yaşın üzerindedir ve sporadik vakalar için kadın/erkek oranı 1,4/1

şeklinde. Familial formlara ise genelde çok daha genç yaşlarda hatta bebeklik çağında tanı konulabilmektedir. MEN2 sendromlarında, MTK'lerin penetrasyonu çok yüksektir ve taşıyıcıların % 90'ından fazlasında tiroid tümörü gelişebileceği tahmin edilmektedir (140).

MTK'nin histolojik görünümü, PTK, foliküler tiroid kanseri, paraganglioma ve hatta lenfoma veya sarkom ile karıştırılabilir. Bu tümörlerde zaman zaman onkositotik değişim görülür ve tanıyı daha da karıştırır. %50-80'inde stromal doku ve kongo kırmızısı ile amiloid varlığı dikkat çekicidir. MTK hücreleri sitokeratin 7, sitokeratin 7 ve sitokeratin 18, tiroid transkripsiyon faktör-1, kromogranin A eksprese edebilmektedir, tiroglobulin ile negatif boyanma görülmelidir. En önemli tanısal işaretleyiciler kalsitonin ve karsinoembriyjenik antijenidir. Kalsitonin ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı değişkenlik göstermektedir, ancak kalsitonin ile boyanma yoksa MTK tanısı sorgulanmalıdır (141).

MTK, klinik evrelere bağlı olarak değişken bir sağkalıma sahiptir. On yıllık sağkalım, lokalize hastalığı olanlarda %95,6, çevre dokulara yayılım ya da metastatik gangliyonun varlığına sahip hastalarda %75,5 ve uzak metastazlı hastalarda %40'tır (142). Bununla birlikte tanı anında hastaların %7-17'sinde uzak metastaz saptanmıştır (143).

2.5.4. Anaplastik Tiroid Kanseri

Anaplastik tiroid kanseri nadir bir farklılaşmamış kanser türüdür ve tüm tiroid kanserlerinin %1,7'sini oluşturur. Bununla birlikte, bu kanserde ölüm oranı %33-50'dir. Ortanca sağ kalım 5 ay olup, 1 yılda %20'den azdır (144, 145). Yaşlı kişilerde ortaya çıkma eğilimi gösterir, 55 yaşın altındakilerde nadirdir (146, 147). Bu lezyonlar hemen hemen her zaman ekstra glandüler dokuları içeren geniş kitleler oluştururlar. Bu tümörlerin çoğu, büyüklükleri ve yayılma şekilleri nedeniyle, rezektabl değildir; radyasyon tedavisi de başarısız olabilir (148-150). Kemoterapötik ajanlar dahil olmak üzere daha yeni modalitelerin yaşamı uzatmada bazı başarıları vardır, ancak bu hastaların iki yıldan uzun hayatta kalmaları nadirdir (151-153).

2.5.5. Primer Tiroid Lenfoması

Tiroid bezinin primer lenfoması nadirdir ve tüm tiroid malignitelerinin yaklaşık %5'ini ve tüm lenfomaların %2-7'sini oluşturur (154, 155). Tiroid lenfomaları B-hücreli

non-hodgkin lenfoma tipindedir. Hashimoto tiroiditi olan hastalarda, tiroiditi olmayanlara göre primer tiroid lenfoması gelişme riski daha yüksektir (156).

2.6. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde Tedavi

Bölgesel veya uzak metastaz kanıtı olsun ya da olmasın >1 cm neredeyse tüm differansiye tiroid kanserlerinde total tiroidektomi primer cerrahi yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Bu görüş bilateral cerrahi yaklaşımın sağ kalımı artıracığı, nüksü azaltacağı, radyoaktif iyot (RAI) tedavisinin ablasyon amacıyla rutin kullanımına izin vereceği ve takiplerde rekürren/rezidü hastalığın tespitini kolaylaştıracağı ile ilgili retrospektif verilere dayanmaktaydı (157-160). Ancak, son zamandaki veriler, seçilen hasta gruplarında, unilateral veya bilateral cerrahi sonrası klinik sonuçların birbirine oldukça yakın bulunduğunu göstermiştir (161-163).

Tiroid kanseri boyutu >4 cm tiroid olan veya büyük ekstratiroidal yayılımı olan (klinik T4) veya nodlara klinik olarak belirgin metastazı mevcut olan (klinik N1) veya uzak metastazı olan (klinik M1) hastalarda başlangıçtaki cerrahi girişim, bir kontrendikasyon yoksa, postoperatif RAI tedavisi için total veya totale yakın tiroidektomi ile birlikte primer tümörün gross çıkarılmasını kapsamalıdır. Tiroid kanseri boyutu >1 cm, <4 cm olan; ekstratiroidal yayılımı olmayan hastalarda, lenf nodu metastazının klinik kanıtı olmadığında (cN0), ilk cerrahi yaklaşım bilateral (total veya totale yakın tiroidektomi) olabileceği gibi unilateral bir prosedür (lobektomi) de uygulanabilir. Yaşlılarda (>45 yaş), kontrateral tiroid nodullerinde, boyuna veya başa radyoterapi öyküsü olan kişilerde, familial diferansiye tiroid kanseri olan kişilerde RAI planı yapmak, takibi kolaylaştırmak, bilateral hastalık şüphesini gidermek için bilateral tiroidektomi uygulanabilir (161, 163-165). <1 cm tiroid kanseri olan, ekstratiroidal yayılımı olmayan ve klinik N0 hastalarda cerrahi yapılacaksa başlangıçtaki cerrahi yaklaşım, eğer ki kontrateral lobun çıkarılması için açık bir endikasyon yoksa lobektomi olmalıdır. Küçük, unifokal, intratiroidal karsinomlarda daha önce baş boyun radyasyon öyküsü, familial tiroid karsinomu veya klinik olarak tespit edilebilir servikal nod metastazı yoksa tek başına lobektomi yeterli bir tedavidir (28).

Bölgesel lenf nodu metastazı, papiller karsinomlu hastaların çoğunluğunda ve daha az oranda foliküler karsinomlu hastalarda tanı anında mevcuttur (166-168). En sık nodal metastazı santral boyundaki servikal seviye VI'dır (169). Törapatik santral (seviye

VI) boyun diseksiyonu, klinik santral lenf nodu olan hastalarda total tiroidektomiye eşlik etmelidir. Proflaktik santral boyun diseksiyonu (ipsilateral veya bilateral); T3 veya T4 primer tümörlerde veya klinik olarak gösterilen lateral boyun lenf nodları (N1b) olan tiroid papiller kanserli hastalarda klinik olarak santral boyun lenf nodu gösterilemese de tercih edilir (170, 171). T1 veya T2 tümörlerde, noninvazive, klinik olarak nod negatif papiller tiroid kanserlerinde ve bir çok foliküler kanserlerde proflaktik santral boyun diseksiyonu olmadan tiroidektomi yapılır (28).

Cerrahi sonrası ek tedavinin (ör., RAI, cerrahi veya başka tedavi) gerekip gerekmediğine karar vermede postoperatif hastalık durumu (kalıcı hastalığın varlığı veya yokluğu) dikkate alınmalıdır. Postoperatif serum tiroglobulin (tiroid hormon tedavisi veya TSH stimülasyonu sonrası) hastalığın veya tiroid kalıntısının kalıcılığının değerlendirilmesinde ve gelecekteki olası hastalık nüksünün tahmininde yardımcı olabilir. Tiroglobulin, çoğu hastada postoperatif 3-4 haftada en düşük seviyeye ulaşır. Çok değişkenli analizler, postoperatif tiroglobulinin genellikle kalıcı veya tekrarlayan hastalıklarda bağımsız bir belirleyici olduğunu göstermiştir (172-176).

Hastada belirli özelliklerin (nüks riskini, hastalık izlemi sonuçlarını ve hasta tercihlerini) göz önünde bulundurularak RAI kararı verilmelidir. RAI ablasyon tedavisi, düşük riskli hastalarda, tek odaklı papiller mikrokarsinomlu hastalarda lobektomi veya total tiroidektomi sonrası rutin olarak önerilmemektedir (177-179). Yüksek riskli diferansiye tiroid kanseri hastaları için total tiroidektomi sonrası adjuvan RAI tedavisi rutin olarak önerilmektedir (180).

2.6.1. Diferansiye Tiroid Kanserlerinde TNM Sınıflaması

Diferansiye tiroid kanserleri evrelemesinde, hastalığın mortalitesini tahmin etmede ve kayıt altına alınması için TNM sınıflaması kullanılmaktadır. TNM sınıflaması ve evrelemesi Tablo VII ve Tablo VII'de gösterilmiştir (181).

Tablo VII. Diferansiye tiroid kanserlerinde TNM sınıflaması

| Tümör Boyutu (T) | |
|-------------------------------|--|
| Tx | Primer tümör değerlendirilemiyor |
| T0 | Primer tümör bulgusu yok |
| T1 | Tümör en büyük boyutu <2 cm, tiroid ile sınırlı |
| T1a | Tümör en büyük boyutu ≤ 1 cm, tiroid ile sınırlı |
| T1b | Tümör en büyük boyutu >1 cm fakat ≤2 cm, tiroid ile sınırlı |
| T2 | Tümör en büyük boyutu >2 cm fakat ≤4 cm, tiroid ile sınırlı |
| T3 | Tümör tiroide sınırlı >4 cm veya boyun kaslarını içeren ekstratiroidal uzanım |
| T3a | Tümör >4 cm tiroide sınırlı |
| T3b | Tümör herhangi bir boyutta, boyun kaslarını içeren ekstratiroidal uzanım (sternohyoid, sternothyroid, thyrohyoid, or omohyoid) |
| T4 | Ekstratiroidal yayılım |
| T4a | Tümör herhangi bir boyutta, deri altı yumuşak doku, larinks, trakea, özofagus veya rekürren laringeal siniri içeren ekstratiroidal uzanım |
| T4b | Tümör herhangi bir boyutta, prevertebral fasyayı, karotis arter veya mediastinal damarları içeren ekstratiroidal uzanım |
| Bölgesel Lenf Nodu (N) | |
| Nx | Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor |
| N0 | Bölgesel lenf nodu metastazı yok |
| N0a | Bir veya daha fazla sitolojik veya histolojik olarak doğrulanmış benign lenf nodu |
| N0b | Bölgesel lenf nodu metastazının klinik veya radyolojik bulgusu yok |
| N1 | Bölgesel lenf nodu metastazı mevcut |
| N1a | Unilateral veya bilateral boyun level VI veya VII lenf nodlarına metastaz |
| N1b | Unilateral, bilateral veya kontralateral lateral boyun lenf nodlarına (I, II, III, IV veya V) veya retropharyngeal lenf nodlarına metastaz |
| Metastaz (M) | |
| Mx | Metastaz değerlendirilemiyor |
| M1 | Uzak metastaz yok |
| M2 | Uzak metastaz var |

Tablo VIII. Diferansiye tiroid kanserlerinde evreleme

| | 55 yaş altı | 55 yaş ve üstü |
|---------|--------------------------|----------------------------|
| Evre 1 | Herhangi T Herhangi N M0 | T1a,T1b,T2 N0 M0 |
| Evre 2 | Herhangi T Herhangi N M1 | T3 N0 M0 T1,T2,T3 N1 M0 |
| Evre 3 | | T4a Herhangi N M0 |
| Evre 4a | | T4b Herhangi N M0 |
| Evre 4b | | Herhangi T Herhangi N M1 |

2.7. MikroRNA

MikroRNA'lar, çoğu somatik dokularda hakim, small RNA sınıfındadırlar. Bunlar ~ 22 nükleotit uzunluğundadır. miRNA'lar, hem ökaryotik hem de prokaryotik hücrelerdeki transkripsiyonel seviyede gen ekspresyonunu düzenler. İki RNase III proteini, Drosha ve Dicer tarafından üretilir (182). miRNA düzenlemesi, miRNA transkripsiyonu, Drosha ve Dicer tarafından işlenmesi, bunların argonaute (AGO) proteinlerine yüklenmesi ve miRNA turnoveri olmak üzere birçok aşamada gerçekleşir (183-185). İnsan kanındaki

miRNA, oldukça kararlı ve endojen RNaz aktivitesine karşı duyarsızdır. Malign hücrelerden salınan vücut sıvılarındaki miRNA'lar ve bunların hücre içi miRNA'ları, kanserlerin tanısı için potansiyel biyobelirteçlerdir (186, 187).

2.7.1. miRNA Biyosentezi

MikroRNA oluşum sürecinde ilk adımda miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci adımda primer miRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son adımda olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir (188).

miRNA'lar ilk olarak RNA polimeraz II tarafından okunur ve uzun bir dizi olan pri-miRNA oluşur. Pri-miRNA'larda 5'cap (şapka) ve 3' poli A kuyrukları bulunur (189, 190). Nükleusta pri-miRNA'lar Drosha (kesici bir enzim, RNaz III) ve çift zincirli bir RNA'ya bağlanabilen protein olan DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 8 (DGCR8) ile yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda dolanmış halka veya saç tokası şeklinde (stem loop, hairpin) pre-miRNA'ya dönüşür (191, 192). Drosha ağırlıklı olarak çekirdeğe yerleşir ve iki tandem RNaz-III alanı, bir dsRNA bağlanma alanı ve bir işlevi bilinmeyen amino-terminal segmenti içerir. Drosha'nın germline eksikliği, embriyogenezin erken döneminde ölüme sebep olur, bu da gelişimde miRNA'ların önemli rolünü yansıtır (193). İnsanlarda DGCR8 içeren gen bölgesinin delesyonu genetik bozukluk olan DiGeorge Sendromunda görülebilir (194, 195).

Pre-miRNA'lar nükleositoplazmik taşıma faktörlerinden karyoferin ailesinin bir üyesi olan ve fonksiyon kazanabilmesi için kofaktörü olan RanGTP'ye ihtiyaç duyan "eksportin-5" tarafından nükleustan stoplazmaya taşınır. Pre-miRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA: miRNA dubleksine çevrilir (196).

miRNA'ların ekspresyonundan ve RNA interferanstan köken alan RNA indüklenmiş susturma kompleksinin (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumu Dicer ile başlar (197). Dicer, pre-miRNA'nın sap-ilmliğini kestikten sonra, miRNA: miRNA dubleksinden yalnızca biri RISC kompleksine dahil olur. RISC kompleksinin içinde yer alan, bir RNaz olan AGO'nun etkisiyle bu iki iplikten 5'ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse dahil edilir. Bu sürecin Hsp90 gibi şaperonların yardımını gerektirdiği gösterilmiştir (198). Bu kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılır. Diğer iplik, anti-

kılavuz veya yolcu iplik olarak da adlandırılır fakat RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. miRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olur. İnsanlarda, miRNA'ları ayırmaksızın barındırabilen dört AGO proteini vardır (199). RNA tarafından indüklenen susturucu kompleks (RISC) ile yüklenmiş olan AGO proteini, bir dizi eşleşmesi bulana kadar hücre içindeki mRNA moleküllerinin popülasyonunu tarar. Bundan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasını sağlar (200).

MikroRNA'lar, fonksiyonel bir ribonükleoproteinin ilgili hedef RNA'ya yönlendirilmesi için diziyeye özgü kılavuzlar olarak işlev görür. Hedef, protein kodlayan bir mRNA olduğunda, mikroRNA bağlanmasının en olası sonucu, hedef protein ifadesinin azalmasıdır. Bununla birlikte, etki genellikle ifadeyi susturmak değil, protein seviyelerini düşürmek için daha nüanslı bir etkidir. Bu, tek bir hedefe çoklu mikroRNA'ların bağlanmasıyla veya aynı yoldaki çoklu proteinlerin hedeflenmesiyle güçlendirilebilir (201).

2.7.2. miRNA ve Tiroid Kanseri

MiRNA'nın keşfi, kanser başlangıcına ve ilerlemesine yol açan biyolojik süreçlere yeni bakış açıları getirdi. Çoğu miRNA, mRNA hedeflerinin 3'çevrilmemiş bölgesini hedeflese de, bazı miRNA, hedef genin kodlama dizisi ile de etkileşime girebilir. Tek bir miRNA, çok sayıda farklı gen mRNA'larına bağlanabilir. Dolayısıyla mRNA'nın miRNA regülasyonu, normal ve patolojik koşullarda çeşitli biyolojik işlevlerde önemli bir rol oynar (202). miRNA'ların ekspresyonu sıkı bir şekilde düzenlenmiş olmasına rağmen, kanser başlangıcı ve ilerlemesi disregüle edilmiş miRNA ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (203-207). Tümör hücrelerinde ve eksozomlardaki miRNA'nın ekspresyon profili aynıdır, bu da dolaşımdaki miRNA'nın kanserde tanı belirteçleri olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (208, 209). Spesifik miRNA'ların aşırı ekspresyonu, tümör süpresör genlerinin ekspresyonunu inhibe edebilirken, farklı miRNA'ların downregülasyonu, onkogenlerin ekspresyonunun önlenmesini azaltabilir. Her iki durum da hücre proliferasyonunda artışa yol açar (20).

Çalışmalar miRNA'ların anormal ekspresyonunun kanser hücresi proliferasyonu, farklılaşması, invazyonu, miğrasyonu ve hücre ölümünde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Upregüle edilen miRNA'lar OncomiR olarak kabul edilir ve down regüle

edilen miRNA tümör baskılayıcıları olarak davranır (15). miRNA'nın insan genomunun %1-5'ini oluşturduğu ve protein kodlayan genlerin en az %30'unu düzenlediği tahmin edilmektedir (210-212).

Anormal miRNA ekspresyonu ve kanser arasındaki bir bağlantının ilk açıklaması 2002 yılında yayınlanmıştır (213). O zamandan beri, insan genomu tarafından kodlandığı bilinen miRNA'ların sayısı hızla büyümüştür. MiRBase veri tabanına yeni bir bakış, 2000'den fazla açıklamalı insan miRNA'sını ortaya çıkardı (214) ve sayılarının artması bekleniyor (215).

MiRNA'ların tiroid tümör oluşumundaki rolüne ilişkin ilk yayınlanmış bilgiler 2005 yılında ortaya çıkmıştır (216) ve bunu bu konuya odaklanan diğer çalışmalar takip etmiştir.

Bazı miRNA'ların başlıca tiroid kanseri tiplerinde aşırı eksprese edildiği veya down regüle edildiği gösterilmiştir (15, 20, 217).

Son metaanalizler, spesifik tiroid kanseri histotiplerinde en sık regüle edilen miRNA'ların daha açık bir görünümünü sağlamaya çalışmıştır. Bazı gruplar, normal tiroid dokularındaki seviyelere kıyasla, miRNA-146b, miRNA-221, miRNA-222 ve miRNA-181b'nin aşırı ekspresyonunu rapor ettiler ve bu upregülasyon, tümör agresifliği ile pozitif korelasyon gösteriyordu (17, 218-221).

miRNA-146b, PTK'de normal dokuya kıyasla en çok eksprese edilen miRNA'lardan biridir ve ekspresyonu, tümör agresifliği ve ekstra tiroid tümör yayılımı ile pozitif korelasyon gösterir (17, 219). miRNA-146b'nin tahmin edilen hedeflerinin analizi, retinoik asit reseptörü beta'sının (RAR β) 3'UTR bölgesinde varsayılan bir miRNA-146b bağlanma alanına sahip olduğu ve RAR β mRNA ekspresyonunun, normal dokuya kıyasla PTK'de önemli ölçüde azaldığı gösterildi. RAR β ekspresyonu bazı kanserde azaldığı ve çeşitli çalışmalarda tümör baskılayıcı fonksiyonu gösterildi (222). Retinoik asit, RAR β ligandı ile tedavi edilen ileri PTK'li bir hasta grubunda yapılan bir pilot çalışma, hastaların %38'inin tümör büyüklüğünde bir azalma yaşadığını gösterdi. Ayrıca, hastaların %26'sında radyoyodin alımında artış görülmüştür (223). Bu bulgular, miRNA-146b'nin, RARy'yi hedef alarak, tiroid kanseri başlangıcında ve ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir. miRNA-222, miRNA-221 ve miRNA-146b'nin ekspresyonunun lenf nodları ve uzak

metastazlar, rekürrens riski ve BRAF V600E mutasyonunun varlığı ile ilişkili olması nedeniyle agresif PTK'de aşırı eksprese olduğu bulunmuştur (15).

PTK'li hastaların serum miRNA salgılanması, benign lezyonları olan hastalarla karşılaştırıldığında, dolaşımdaki miRNA-25-3p ve onco-miR-451 düzeylerinin PTK'li hastalardan alınan plazmada anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermiştir (23). Ancak farklı bir çalışmada ise wild tip ve RAS veya BRAF mutasyonu olan papilla benzeri nükleer özellikler gösteren invaziv olmayan foliküler tümör (NIFTP)'de 12 farklı miRNA eksprese edildiği saptanmış. Bunlardan dört miRNA'nın (miR-221-5p, miR-221-3p, miR-222-3p and miR-146b-5p) upregüle olduğu, sekiz miRNA'nın (miR-181a-3p, miR-28-5p, miR-363-3p, miR-342-3p, miR-1285-5p, miR-152-3p, miR-25-3p, miR-30e-3) downregüle olduğu saptanmış (224).

Dolaşımdaki miR-95 ve miR-190 seviyeleri, Kafkasyalılarda iyi huylu tiroid tümörlerinden PTK'nin ayırıcı tanısı için duyarlı biyolojik belirteçlerdir (27).

miRNA-451a, birçok insan kanserinde çalışılmıştır ve PTK'de downregüle edilmiştir (225-228). Çalışmalar, miR-451a ekspresyon seviyesi ile tümör agresifliği, TNM evresi ve ekstratiroidal invazyon varlığı arasındaki ters ilişkiyi gözlemlemiştir (228). miRNA-451, tiroid kanserinde değiştiği bilinen PI3k / AKT sinyal yolunun önemli bir bileşeni olan AKT1'i hedefler (228-230). Böylece miR-451, PI3 / AKT yolunu hedefleyerek, PTK'de bir tümör baskılayıcı görevi görür. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan PTK'li hastalar arasında miRNA ekspresyon profillerinin karşılaştırılmasında, bölgesel hastalığı olan hastaların miR-451 ekspresyonunun daha yüksek olduğunu göstermiştir (231).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu Seçimi

Çalışmaya Mart 2017-Haziran 2018 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda tiroid nodülü nedeniyle biyopsi yapılan ve Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda tiroid operasyonu yapılan hastalar çalışmaya alındı. Operasyon sonrası patoloji sonucu malign olan 68 hasta ile çeşitli endikasyonlar ile tiroid operasyonu olup patoloji sonucu benign olan 74 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışma öncesinde Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı (Protokol No:2017/1094 Onay Tarihi:09.03.2017). Etik kurul onayı alındıktan sonra çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalında operasyon kararı alınan ve Genel cerrahi Ana bilim dalında tiroid operasyonu olan hastalarda gerçekleştirildi. Hastalara ve kontrol grubuna çalışmanın amacı, yapılacak işlemler hakkında bilgi verildi. Çalışmayla ilgili olarak düzenlenmiş olan bilgilendirilmiş onam formu verilerek yazılı onamları alındı (94).

3.2. Çalışma Protokolü ve Testler

3.2.1. Hasta Alımı

Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan ameliyat öncesi EDTA'lı tüpe ve biyokimya tüpüne 3-5 cc venöz kanları alındı. Çalışma, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Genel Cerrahi AD ile Moleküler Biyoloji ve Genetik Bilim Dalının ortaklaşa yürüteceği bir çalışma olarak dizayn edildi. Ameliyat sonrası dönemde patoloji sonuçlarına göre hastalar benign yada malign olarak gruplandırıldı.

3.2.2. Kan Örneklerinden Genomik miRNA İzolasyonu

Hastalardan alınan venöz kan örnekleri -80 derecede saklandı. Örnekler miRNA'ya özgü bir kit kullanılarak izole edildi. Örnekler izole edildikten sonra tekrar -80°C de saklandı. 142 adet miRNA ve kontrol primeri (U6) kullanılarak gerçekleştirildi. Stem-loop primerleri kullanılarak complementer DNA (cDNA) sentezi yapıldı. Bu miRNA'lara özgün stem-loop primerleri dizayn edildi. Bu primerler; miRNA'dan, cDNA sentezi yaparken

miRNA dizisi ile spesifik bağlandığı için en güvenilir yöntem olarak kabul edilir (232). Elde edilen miRNA'lardan her bir miRNA'ya özgü primerler kullanılarak cDNA sentezi yapıldı. Elde edilen cDNA lardan SYBR Green temelli Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kuruldu. Örnekler 2 tekrarlı olarak çalışıldı.

1. 200µL serum+ 500µL RiboEx pipetaj yaparak eklendi. (RiboEx içerdiği fenol ve guanidin tuzu ile hücreyi hızla parçalar ve nükleazları inaktive eder)
2. 5 dk oda ısısında inkübe edildi.
3. 1,5ml lik tüp üzerine 100µl kloroform eklendi. Kloroform RiboEx ve serum örneğine karışması için alt üst yapıldı ve 2 dk oda ısısında bekletildi. (Kloroform ile elde ettiğimiz lizat sulu ve organik faza kolayca ayrıldı.)
4. 12,000 g de 4°C de santrifüj yapıldı ve sulu faz başka bir eppendorfa aktarıldı. (DNA ve protein ara fazda ve organik fazda kalırken, total RNA sulu fazda bulunur.)
5. Alınan sulu faz kadar üzerine %50 ethanol eklendi. Pipetaj yapıldı. Bu aşamada vorteks yapılmadı.
6. Elde edilen mix type B (kırmızı kapaklı olan) 700µL olacak şekilde kolona aktarıldı. (Burada büyük RNA membrana bağlanırken , küçük RNA lar kolondan aşağı doğru indi.)
7. 11,000rpm de 1 dk oda ısısında santrifüj edildi.
8. Altta kalan tüpün üzerine kalan sıvının hacmi kadar %100 ethanol eklenir. Pipetaj yapılır. Vorteks yapılmaz.
9. Bu karışım (yaklaşık 650µL) type W kolona aktarılır(Bu kolon küçük RNA ların bağlanmasını sağlar).
10. 11,000 rpm de 1 dk oda ısısında santrifüj edilir.
11. NOT: Geriye kalan örnek varsa 9-10.basamaklar tekrarlanır.
12. Collection tüp yenisi ile değiştirilir ve üzerine 500µL RBW Buffer eklenir(Bu basamakta deterjan içeriğinde bulunan yıkama basamağı gerçekleştirilir. Böylece membrana bağlanmış olan küçük RNA dışında ki artıklar uzaklaştırılır).
13. 11,000rpm de 1 dk oda ısısında santrifüj edilir.

14. Collection tüp yenisi ile değiştirilir ve üzerine 500µL RNW Buffer eklenir.
15. 11,000rpm de 1 dk oda ısısında santrifüj edilir.
16. Collection tüp yenisi ile değiştirilir ve üzerine 500µL RNW Buffer eklenir.
17. 11,000rpm de 1 dk oda ısısında santrifüj edilir.
18. Collection tüp yenisi ile değiştirildi ve üzerine hiçbirşey eklenmeden 11,000rpm de 2 dk santrifüj edildi. (Herhangi bir yıkama buffer kalmasına karşı böyle bir önlem alındı).
19. Daha sonra membranın tam merkezine gelecek şekilde 50µL RNase-free su eklendi. 2 dk oda sıcaklığında bekletildi.
20. 11,000rpm de 2 dk santrifüj edildi.
21. Elde edilen örnek -20°C ye aktarıldı.

Bu protokol ile GeneAll, Hybrid-R miRNA (Cat no:325-150) kullanılarak miRNA izolasyonu yapıldı. Primer diyaznda miRBase veri tabanı kullanıldı.

3.2.3. Mikro-RNA'lar için Complementer DNA Elde Edilmesi

Elde edilen miRNA ile WizScript™ cDNA Synthesis Kit (High Capacity) W2211 kullanılarak complementer DNA (cDNA) sentezi yapıldı. Her örneğin kendi stem-loop primeri ile cDNA sı yapıldı. WizScript™ cDNA Synthesis Kit (High Capacity) W2211 bileşenleri, cDNA reaksiyon şartları Tablo IX ve Tablo X'da verilmiştir.

Tablo IX. WizScript™ cDNA Synthesis Kit (High Capacity) W2211 bileşenleri

| Bileşenler | |
|---------------------|--------------|
| 10X Reaction Buffer | 2 µl |
| Stem-loop primer | 2 µl |
| 20X dNTP mix | 1 µl |
| miRNA | 10 µl |
| WizScript™ RTase | 1 µl |
| RNase Inhibitor | 0.5 µl |
| RNase free Water | 3.5 µl |
| Total | 20 µl |

Tablo X. cDNA reaksiyon şartları

| | |
|------|------------|
| 25°C | 10 dakika |
| 37°C | 120 dakika |
| 85°C | 5 dakika |
| 4°C | + ∞ |

3.2.4. Real Time PCR

cDNA sentezi sonrası real time PCR protokolü uygulandı. Real time PCR bileşenleri, real time PCR koşulları Tablo XI ve Tablo XII'de verilmiştir.

Tablo XI. Real time PCR bileşenleri

| | |
|--|-------------|
| 2X SYBR GREEN MASTER MIX (Cat No:801-520, Lot no:QP116G25001) | 10µL |
| F(10pm) | 1µL |
| R(10pm) | 1µL |
| ROX | 1µL |
| cDNA | 1µL |
| WATER | 6 µL |
| TOTAL | 20µL |

Tablo XII. Real time PCR koşulları

| | | |
|-------|-----------|------------|
| 95 °C | 10 dakika | X40 |
| 95 °C | 15 saniye | |
| 60 °C | 1 dakika | |

3.3. İstatistiksel Analiz

Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile dağılım yapıları değerlendirildikten sonra normal dağılıma uygunluk varsayımını sağlayan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında bağımsız gruplarda t testi kullanıldı ve tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma biçiminde gösterildi. Normal dağılıma uygunluk varsayımını sağlamayan nicel değişkenler ise grup sayısına göre Mann Whitney U ya da Kruskal Wallis testleri kullanılarak analiz edildi ve tanımlayıcı istatistikler medyan (25-75 persantil) olarak verildi. Nitel verilerin analizinde ise ki-kare testi kullanıldı ve sonuçlar yüzde olarak verildi. Malignite belirlemede miRNA 146b-5p ve miRNA 25-3p değişkenlerinin ayırıcılığı ROC analizi ile incelendi ve sonuçları eğri altında kalan alan (AUC) değeri, cut-off, sensitivite, spesifite olarak gösterildi. Ameliyat sonrası patoloji sonucuna göre malignite saptanan olgularda hastalığı etkileyen değişkenleri saptamak için lojistik regresyon analizi yapıldı. p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Mart 2017-Haziran 2018 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim dalında takip edilen ve ‘Tiroid konseyinde’ operasyon kararı alınıp Genel Cerrahi AD’da tiroid cerrahisi geçiren 142 hasta alındı. Operasyon sonrası patoloji sonuçlarına göre çalışmaya alınan hastaların 68’i tiroid kanseri (56 kadın, 12 erkek), 74’ü benign (61 kadın, 13 erkek) olarak gruplandırıldı. Her iki grup cinsiyet açısından benzerdi ($p>0.05$). Tiroid kanseri saptanan olguların %82.4’ü kadınlar oluşturmaktaydı. Tiroid kanseri saptanan hastaların yaş ortalaması 48.4 ± 15.17 , benign hasta grubunun 52.31 ± 10.63 olup iki grup arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Her iki grup otoimmün tiroid hastalığı varlığı ve ek komorbid hastalıklar açısından benzer bulundu ($p>0.05$). Her iki grupta bilinen kanser öyküsü mevcut değildi.

Ameliyat öncesi TİİAB sonuçları değerlendirildiğinde, tüm gruplarda hastaların %6.3’ünde biyopsi yapılmamış, %9.2’si tanısal olmayan sitoloji, %20.4’ü benign sitoloji, %18.3’ü önemi belirsiz atipi, %11.3’ü foliküler neoplazi, %26.1’i malignite kuşkusu, %8.5’i malignite olarak saptandı. Ameliyat sonrası patoloji sonuçlarına göre, TİİAB sonuçları Tablo XIII’de verilmiştir.

Tablo XIII. TİİAB sonuçları

| | Tiroid Kanser (n=68) | MikroPTK (n=38) | PTK (n=27) | Benign Tiroid nodülleri (n=72) |
|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|-------------------|--|
| Biyopsi yapılmamış (%) | 7.4 | 10.5 | - | 5.4 |
| Tanısal olmayan sitoloji (%) | 5.9 | 7.9 | 3.7 | 12.2 |
| Benign sitoloji (%) | 8.8 | 5.3 | 14.8 | 31.1 |
| Önemi Belirsiz atipi (%) | 13.2 | 21.1 | - | 23 |
| Foliküler Neoplazi (%) | 10.3 | 5.3 | 14.8 | 12.2 |
| Malignite Kuşkusu (%) | 38.2 | 42.1 | 37 | 14.9 |
| Malignite (%) | 16.2 | 7.9 | 29.6 | 1.4 |

TİİAB sonuçları ile ameliyat sonrası patoloji sonuçları karşılaştırıldığında; tanısal olmayan sitolojileri %30.8’inde, benign sitolojilerin %20.2’sinde, önemi belirsiz atipilerin %34.6’sında, foliküler neoplazmların %43.8’inde, malignite kuşkulu sitolojilerin %70.3’ünde ve malign sitolojilerin %91.7’sinde tiroid kanseri olduğu saptandı.

Ameliyat sonrası patoloji sonuçlarına göre tiroid kanseri saptanan olguların 38'i (%55.89) mikropapiller tiroid kanseri, 27'si (%39.71) papiller tiroid kanseri, 2'si (%2.94) tiroid medüller kanser ve 1'i (%1.47) foliküler tiroid kanseri olarak saptandı. Diferansiye tiroid kanseri olan (n=66) olguların 59'u evre 1 iken 7'si evre 2 idi. Ortalama tümör çapı 13.48 ± 13.1 mm idi. Hastaların 8'inde patolojik LAP, 14'ünde lenfovasküler invazyon, 8'inde kapsül invazyonu, ikisinde sistemik metastaz mevcuttu. Metastaz olan olguların biri foliküler tiroid kanserine bağlı akciğer ve kemik metastazı iken, diğeri PTK'ne bağlı kemik metastazı idi.

Tiroid kanseri olan olguların TSH ortanca değeri 1.33 (0.87-2.14) μ IU/mL iken benign olguların ise 0.94 (0.44-1.62) μ IU/mL olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p=0.018). İki grup arasında sT4 değerleri benzer bulundu (p>0.05). Tiroid kanseri saptanan hastaların operasyon öncesi en büyük nodül boyutu 16 (10-29) mm iken, benign tiroid nodülü saptanan olgularda ise 23.5 (16-35.5) mm olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p=0.003).

Tiroid kanseri saptanan olguların miRNA 25-3p düzeyleri ortanca değeri 16.39 (13.84-17.36), benign hastaların ise 17.72 (16.92-19.01) olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0.001). Tiroid kanseri saptanan olguların miRNA 146b-5p düzeyleri ortanca değeri 14.17 (13.71-14.51), benign saptanan olguların ise 13.19 (12.32-13.91) olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p<0.001). Tiroid kanseri saptanan olguların miRNA 451a düzeyleri ortanca değeri 18.38 (17.43-19.03), benign saptanan olguların ise 19.52 (16.18-20.07) olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05). Sayısal verilerin karşılaştırması Tablo XIV'de verilmiştir.

Tiroid kanseri saptanan olgular mikropapiller tiroid kanseri (n=38) ve papiller tiroid kanseri (n=27) olarak alt grup analizleri yapıldığında, her iki grup arasında miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p ve miRNA 451a arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Her iki alt grup benign tiroid nodülleri olan grupla karşılaştırıldığında miRNA 25-3p ve miRNA 146b-5p arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p <0.001, p<0.001). Üç grup arasındaki miRNA sonuçları Tablo XV'de verilmiştir.

Tablo XIV. Tiroid kanseri olan ve olmayan grup arasında sayısal verilerin karşılaştırılması

| | Tiroid Kanseri (n=68) | Benign Tiroid Nodülü (n=72) | p |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------------------|----------------|
| Yaş (Yıl) | 48.4±15.17 | 52.31±10.63 | >0.05* |
| miRNA 25-3p | 16.39 (13.84-17.36) | 17.72 (16.92-19.01) | <0.001** |
| miRNA 146b-5p | 14.17 (13.71-14.51) | 13.19 (12.32-13.91) | <0.001** |
| miRNA 451a | 18.38 (17.43-19.03) | 19.52 (16.18-20.07) | >0.05** |
| TSH (µIU/mL) | 1.33 (0.87-2.14) | 0.94 (0.44-1.62) | 0.018** |
| sT4 (ng/dl) | 1.03 (0.91-1.18) | 1.02 (0.9-1.15) | >0.05** |

*Student t test kullanıldı **Mann Whitney U test kullanıldı

Tablo XV. Diferansiye tiroid kanseri alt grupları ile benign tiroid nodüllerinin miRNA düzeyleri ile karşılaştırılması

| | Mikropapiller tiroid kanseri (n=38) | Papiller tiroid kanseri (n=27) | Benign Tiroid nodülleri (n=72) | p* |
|----------------------|---|--|--|-----------|
| miRNA 25-3p | 16.67 (13.77-17.33) | 15.95 (13.8-17.39) | 17.72 (16.92-19.01) | <0.001** |
| miRNA 146b-5p | 14.29 (13.9-14.6) | 14.06 (13.56-14.4) | 13.19 (12.32-13.91) | <0.001** |
| miRNA451a | 18.25 (17.06-19.15) | 18.64 (17.74-19.16) | 19.52 (16.18-20.07) | >0.05 |

* Kruskal- Wallis test kullanıldı.

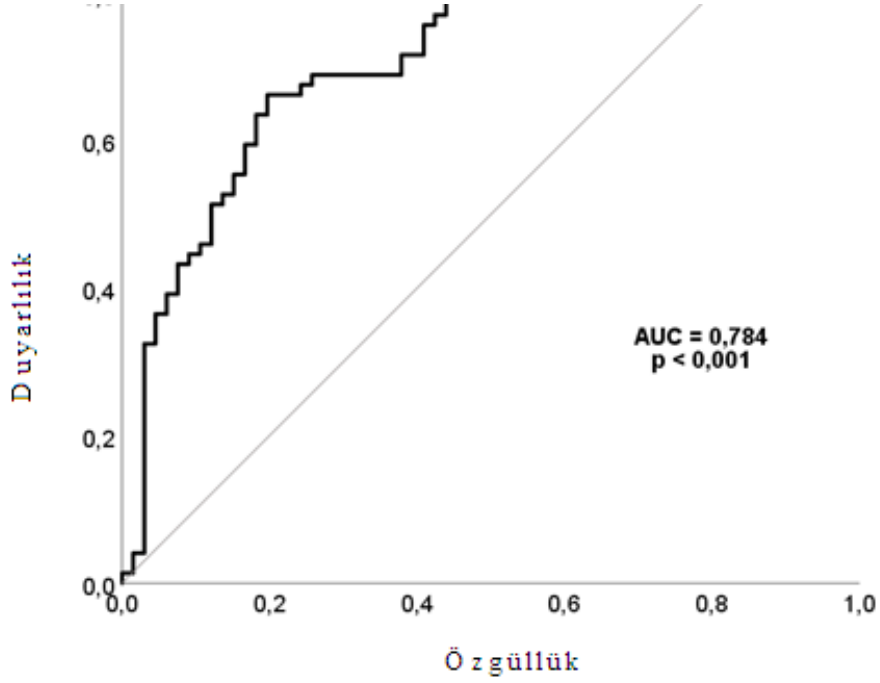
** Her iki tiroid kanseri alt grubu, benign tiroid nodülleri olan grupla karşılaştırıldığında anlamı farklılık saptanırken, iki alt grup kendi arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı.

Tiroid kanserli olgularda miRNA 25-3p ve miRNA 146b-5p ile tümör çapı, operasyondan sonraki 1.ay tiroglobulin düzeyi arasında korelasyon saptanmadı (p>0.05). Lenfovasküler invazyon olan ve olmayan olgular arasında miRNA 25-3p, miRNA146b-5p ve miRNA 451a arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05).

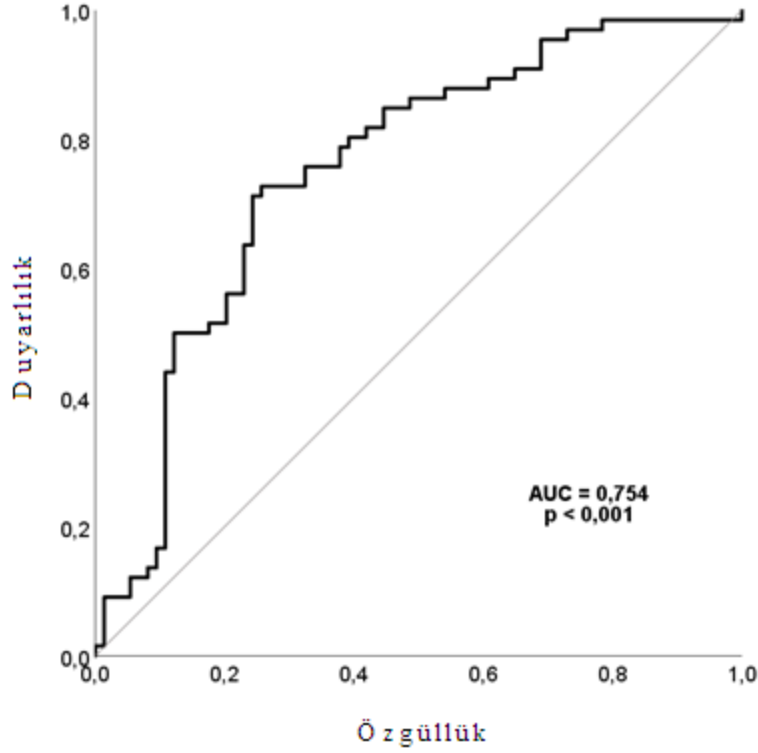
Ameliyat öncesi bakılan dolaşımdaki miRNA'ların tiroid kanserini öngörebilmesi açısından kesim noktaları değerlendirildiğinde, miRNA 146b-5p >13.86 iken (AUC 0.755, p<0.001) duyarlılık %72.06, özgüllük %74.32, miRNA 25-3p ≤17.41 iken (AUC 0.787, p<0.001) duyarlılık %80.88, özgüllük %66.22 olarak saptandı. miRNA 25-3 ve miRNA 146b-5p'nin tiroid kanserini öngörebilmesi açısından ROC eğrisi Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterildi.

Önemi belirsiz atipi veya önemi belirlenemeyen foliküler lezyon ve foliküler neoplazm veya foliküler neoplazm şüphesi olan ve operasyon olan 41 hastanın cerrahi sonrasında 26'sında benign tiroid nodülü, 15'inde tiroid kanseri (10 mikro PTK, 4 PTK, 1

foliküler tiroid kanseri) saptandı. TİİAB sonucuna göre önemi belirsiz atipi veya önemi belirlenemeyen foliküler lezyon ve foliküler neoplazm veya foliküler neoplazm şüphesi olan bu hasta grubunda cerrahi sonrası patoloji sonucuna göre tiroid kanseri saptanan ve saptanmayan olgular miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p ve miRNA 451a açısından karşılaştırıldı. Her iki grup arasında miRNA 25-3p ve miRNA 146b-5p arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla $p < 0.001$, < 0.012). Her iki grup arasında miRNA'ların karşılaştırılması Tablo XVI'da verilmiştir.



Şekil 1. miRNA 25-3p'nin diferansiyel tiroid kanserini öngörebilmesi açısından ROC eğrisi



Şekil 2. miRNA 146b-5p'nin diferansiyel tiroid kanserini öngörebilmesi açısından ROC eğrisi

Tablo XVI. Önemi belirsiz atipi veya önemi belirlenemeyen foliküler lezyon ve foliküler neoplazm veya foliküler neoplazm şüphesi olan hastalarda miRNA'ların karşılaştırılması

| | Tiroid Kanseri (n=15) | Benign Tiroid Nodülü (n=26) | p |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| miRNA 25-3p | 15,71±1,86 | 17,94±1,37 | <0.001* |
| miRNA 146b-5p | 13,94±0,81 | 13,07±1,11 | <0.012* |
| miRNA 451a | 18,38 (17,56-18,87) | 19,50 (16,29-20,17) | 0,512 ^{***} |

*Student t test kullanıldı **Mann Whitney U test kullanıldı

Tiroid kanserini öngörmeyi sağlayacak değişkenlere (miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p, miRNA 451a, TSH, sT4, tiroid USG'deki nodül özellikleri olarak hipoekojenite, mikrokalsifikasyon, düzensiz sınır, uzunluğunun genişliğinden büyük olması, halosunun olmaması, solid olması) lojistik regresyon analizi uygulandı (Tablo XVII). Özellikle miRNA 146b-5p'nin tiroid kanserini öngörebilmede OR'yi 2.55 kat artırdığı saptandı.

Tablo XVII. Patoloji sonucunda maligniteyi öngörecek değişkenlerin lojistik regresyon analizi

| | OR | OR'nin 95% güven aralığı | | p |
|----------------------|-------|--------------------------|-------|--------|
| | | Alt | Üst | |
| MiRNA 25-3p | 0.498 | 0.358 | 0.692 | <0.001 |
| MiRNA 146b-5p | 2.545 | 1.523 | 4.254 | <0.001 |
| Nodül boyut | 0.955 | 0.922 | 0.989 | 0.009 |

5. TARTIŞMA

Tiroid kanseri toplumlara göre sıklığı değişmekle beraber kadınlarda daha sık görülmektedir. Kadın: erkek oranı 2:1 ile 10:1 arasında değişmektedir (233). Basolo ve ark.'nın (234) yaptığı çalışmada olguların %69'u kadın olup kadın: erkek oranı 2.2:1'dir. Bizim çalışmamızda tiroid kanseri saptanan 68 hastanın 56'sı kadın (%82,4), 12'si erkek (%17,7) olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak tiroid kanseri kadınlarda daha sık saptandı. Tiroid kanseri sıklıkla hayatın 3-5. dekatında ortaya çıkmaktadır (233). Basolo ve ark.(234)'nin yaptığı çalışmada tanı sırasındaki ortalama yaş 38.3±17 yıl saptanmış olup bizim çalışmamızda ortalama yaş literatür ile uyumlu şekilde 48.4±15.17 olarak bulunmuştur.

Bethesda sistemine göre raporlanan TİİAB sonucu TOS olarak raporlanan hastalarda kanser sıklığı %20 (9-32), Jo ve ark.(80) yapmış olduğu çalışmasında ise %8,9 bulunmuş. Farklı bir çalışmada ise iki tanısal olmayan sitoloji sonucu olan 104 nodülün (mikrokalsifikasyon, düzensiz kenar, geniş şekilden daha uzun ya da hipoekojenisite olanlarda) %25'inde tiroid kanseri saptanmıştır (85). Bizim çalışmamızda bu oran literatüre göre biraz daha yüksek (%30,8) olarak saptanmıştır. Bethesda sistemine göre İİAB sonucu benign olarak raporlanan hastalarda kanser sıklığı %2,5 (1-10) olarak belirtilmektedir (235). Tee ve ark.(236) yapmış olduğu çalışmada, benign sitolojisi olan 4055 hastada malignite oranının %3.2 olduğunu göstermiştir. Jo ve ark.(80) yapmış olduğu çalışmada İİAB sonucu benign olarak raporlananlarda %11 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise bu oran literatürden farklı şekilde %20,2 olarak yüksek bulunmuştur.

Bethesda sistemde İİAB sonucu ÖBA olarak raporlanan hastalarda tahmini kanser sıklığı %5-15 olarak öngörülmektedir. Cerrahi sonrası malignite riski %14 (6-48) olarak belirtilmektedir (235). Mileva M ve ark.(237) yapmış olduğu çalışmada İİAB sonucu ÖBA olarak raporlanan 112 hastanın 35'inde (%31.2) tiroid kanseri saptanmış, 77'si (%68,8) benign olarak bulunmuştur. Kuru B ve ark.(238) yapmış olduğu çalışmada İİAB si ÖBA olarak raporlanan 179 hastanın %22,9'unda tiroid kanseri saptanmıştır. Uęurluoęlu C ve ark.(239) yapmış olduğu çalışmada 1096 İİAB örneği arasında %12 (132) yetersiz, %72 (789) benign, %3 (29) ÖBA, %3 (35) foliküler neoplazm ya da foliküler neoplazm için şüpheli lezyonlar, %4 (46) malignite şüpheli ve %6 (65) malign olarak saptanmıştır. İİAB sonrası ameliyat edilen 183 hastanın histopatolojik değerlendirmesi yapılmış ve bu kategorilerdeki malignite oranları sırasıyla %16 (5), %15 (6), %14 (1), %60 (9), %72, %97

(63) olarak saptanmıştır. Turkyılmaz S ve ark.(240) yapmış olduğu çalışmada İİAB yapılmış ve sonucu ÖBA olarak raporlanan 976 hastanın 139'u (14.2%) opere edilmiş, 518'ine (53.1%) yeniden İİAB yapılmıştır. 305 (31%) hasta da farklı zamanlarda opere edilmiştir. İlk İİAB sonrası opere olan hastaların %34.5'ünde, İİAB tekrarlanan hastalarda %37.9'unda tiroid kanseri saptanmıştır. Kuru B ve ark.(241) yapmış olduğu çalışmada ilk İİAB de ÖBA olarak raporlanan 485 hastanın 153'ünde (%22.8) tiroid kanseri saptanmıştır. İkinci kez İİAB yapılan ve yapılmayan ÖBA hastaları için malignite oranları sırasıyla %37.5 ve %16.2 idi. Bizim çalışmamızda ise %34,6 olan bu oran Bethesda sisteminde öngörülen malignite riskinden yüksek bulunsa da literatürde operasyon sonrası %6 ile 48 gibi geniş bir aralıkta malignite saptanma oranları yer alması nedeniyle yer alan birçok çalışmaya benzer oranlarda bulunmuştur.

Bethesda sistemde TİİAB sonucu foliküler neoplazi olarak raporlanan hastalarda tahmini öngörülen kanser sıklığı %15-30, operasyon sonrası saptanan malignite riski %26 (14-33) olarak verilmektedir (235). Yapılan bir çalışmada TİİAB yapılan 6910 nodülden 180'i (%2.6) foliküler neoplazi/foliküler neoplazi şüphesi olarak raporlanmıştır. 180 hastadan 139'u (%77) opere edilmiş ve 51'inde (%37) tiroid kanseri saptanmıştır (242). Diğer bir çalışmada foliküler neoplazm sitolojik tanısı olan 151 hastanın 51'inde (%33.8) tiroid kanseri saptanmıştır (243). Wu HH ve ark.(244) yaptığı çalışmada TİİAB'de 116 foliküler neoplazi saptanan hastaların %67'sinde tiroid kanseri saptanmıştır. Mondal SK ve ark. (81)'nin yaptığı çalışmada opere edilen 323 hastada malignite oranı foliküler neoplazi şüphesinde %30,6 olarak saptanmış. Bizim çalışmamızda foliküler neoplazi saptanan olgularda tiroid kanseri oranı %43,8 olup bu oran Bethesda sisteminde öngörülen malignite riskinden yüksek olsa da literatürde yer alan benzer oranlarda çalışmalar bulunmaktadır.

Bethesda sistemde İİAB sonucu malignite kuşkusu olarak raporlanan hastalarda kanser sıklığı %75 (53-87) (235) iken bizim çalışmamızda bu oran literatür ile uyumlu şekilde %70,3 olarak bulunmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada opere edilen 323 hastada TİİAB'ı malignite şüphesi gelen hastaların %75'inde tiroid kanseri saptanmıştır (81).

Bethesda sistemde İİAB sonucu malignite olarak raporlanan hastalarda kanser sıklığı %99 (94-100) olarak öngörülmektedir (235). Yapılan bir çalışmada, TİİAB sonucu malignite şüphesi olan 12 hastanın 9'u (malignite riski %75), TİİAB sonucu malignite olan 48 hastadan 44'ü (malignite riski %97.8) tiroid kanseri olarak bulunmuştur (245). Mondal ve ark.(81) nin yaptığı çalışmada çalışmada opere edilen 323 hastada TİİAB'ı malignite

gelen hastaların %97,8'inde tiroid kanseri saptanmıştır. Bizim çalışmamızda bu oran %91,7 olarak bulunmuştur. TİİAB sonucu malign olan sadece bir olguda patoloji sonucu benign olarak değerlendirildi.

Nguyen XV ve ark.(246) yapmış olduğu çalışmada toplam 112.128 tiroid kanseri olan hasta analiz edilmiş, %67'sinde tümör boyutu ≥ 1 cm ve %29'unda tümör boyutu ≥ 2.5 cm saptanmış. < 4 cm DTK tümörleri için, lokal invazyon, nodal metastaz veya uzak metastaz riskinin düşük olduğu saptanmış. Bizim çalışmamızda ortalama tümör çapı 13.48 ± 13.1 mm idi. Hastaların ikisinde sistemik metastaz mevcuttu. Metastaz olan olguların biri foliküler tiroid kanserine bağlı akciğer ve kemik metastazı iken, diğeri PTK'ne bağlı kemik metastazı idi.

Kamran SC ve ark.(247) yapmış olduğu çalışmada 7348 değerlendirilen nodülün 927'sinde (%13) kanser tanısı konmuş ve bunların en yaygın türü papiller tiroid kanseri (%86) olarak belirtilmiştir. Çapı 1.0 ila 1.9 cm arasında olanların %10.5'inde, > 2.0 cm olanların %15'inde, 2.0 ile 2.9 cm olanların %14'ünde, 3.0 ila 3.9 cm olanların %16'sında ve > 4 cm olanların %15'inde tiroid kanseri saptanmıştır. İki cm'lik eşikten daha büyük olan nodüllerde, kanser riski değişmediği, foliküler ve Hurthle hücre kanseri gibi daha nadir tiroid kanseri türlerinin oranı, artmakta olan nodül büyüklüğü ile birlikte artmakta olduğu saptanmıştır. Cavallo A ve ark.(248) yaptığı çalışmada 659 hastadan 1003 nodülün %26'sı malign saptanmış. Nodul boyutu < 2 cm olanlarda malignite riski daha fazla saptanmış. Nodul boyutu ≥ 2 cm olanlarda malignite riski benzer olduğu saptanmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada opere edilen ≥ 4 cm olan 101 tiroid nodülü retrospektif olarak incelenmiş, ≥ 4 cm olan tiroid nodüllerinde malignite riski %9.9 olarak saptanmış. Nodül boyutunun malignite riski ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (249). Farklı bir çalışmada da, tiroid nodül boyutu 1-1.9 cm, 2-2.9 cm, 3-3.9 cm ve ≥ 4 cm olanlar arasında malignite riski arasında ilişki bulunmamıştır (250). Bizim çalışmamızda tiroid kanseri saptanan hastaların operasyon öncesi en büyük nodül boyutu 16 (10-29) mm iken, benign tiroid nodülü saptanan olgularda ise 23.5 (16-35.5) mm olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0.003$). Bizim çalışmamızda da nodül boyutunun artması ile tiroid kanseri riskinin artması arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir. Hatta bizim çalışmamızda, benign patolojilerle karşılaştırıldığında nodülün boyutunun küçük olması tiroid kanseri lehine saptanmıştır. Bu durumun, büyük tiroid nodüllerinin TİİAB benign

olsa dahi 4 cm'den büyük nodüllerde malignite riskinin TİİAB ile öngörülemediği dolayısıyla opere edilmesinden kaynaklanabileceği olarak yorumlandı.

Al Dawish MA ve ark.(250)'nın yapmış olduğu çalışmada opere edilen 315 nodülün %30,2'sinde tiroid kanseri saptanmış. TSH değeri >4.5 mIU/L (38.2%) olan ve tiroid nodülü <1 cm (48.8%) olanlarda malignite oranı daha fazla saptanmış. TSH değeri 0.5 - 4.5 mIU/L, TSH >4.5 mIU/L olan hastalarda tiroid kanseri oranı TSH ≤0.4 mIU/L olanlara göre daha yüksektir. Boelaert K ve ark.(55) yapmış olduğu çalışmada malignite riski serum TSH düzeyi ile paralel şekilde artmış olup, serum TSH düzeyi 0.9 mIU/L daha fazla olan hastalarla, TSH düzeyi daha düşük hastalar karşılaştırıldığında belirgin malignite artışları saptanmıştır. Zafon C ve ark.(251)'nin yaptığı bir çalışmada ortalama TSH düzeyi benign hastalarda 1.36±1.62 mIU/L, malign hastalarda 2.08±2.1 mIU/L olarak saptanmış. Malignite grubu, mikropapiller tiroid kanseri ve daha büyük boyutlu tiroid kanseri olarak ayrılmış. Ortalama TSH düzeyi, mikroPTK'de 1.71±1.52 ve daha büyük boyutlu tiroid kanserinde 2.42±2.5 olarak saptanmış. Sonuç olarak, diferansiyel tiroid kanseri tanısı olan hastalarda TSH düzeyleri daha yüksek saptanmış. Ayrıca, tümör boyutundaki artış ile TSH düzeyinde bir artış olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde tiroid kanseri olan olguların TSH ortanca değeri 1.33 (0.87-2.14) mIU/mL iken benign olguların ise 0.94 (0.44-1.62) mIU/mL olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p=0.018). Bizim çalışmamızda da, literatürle uyumlu olarak tiroid kanseri olan olgularda benign olan olgulara göre TSH değerinin daha yüksek olduğunu gösterdik.

ATA 2015 kılavuzunda, belirsiz TİİAB örneklerinde moleküler belirteçlerin cerrahiye karar vermede tanısal olarak destek olabileceği vurgulanmaktadır. Ancak, şu aşamada moleküler testlerin klinik geçerliliği sınırlıdır. Günümüzde tedavi karar aşamasında moleküler belirteç kullanımıyla ilgili uzun vadeli sonuç verileri yetersizdir (28). Tiroid kanseri tanısında moleküler belirteçler geliştirilme aşamasındadır (18). miRNA'lar da özellikle TİİAB'da belirsiz sitolojilerde çalışmalarda kullanılmış ancak tam net olarak tanısal amaçla halen kullanımları doğrulanmamıştır (19, 252).

Yapılan bir çalışmada USG de 1cm soliter tiroid nodülü olan erişkin hastalarda, moleküler test olmayan standart bakım, gen ekspresyon sınıflaması ve miRNA testleri için maliyet tahminleri değerlendirilmiş. Gen ekspresyon sınıflaması, gereksiz ameliyatların oranını standart bakıma göre %32 azaltmış ve hasta başına 1008 \$ 'lık ek maliyet, gereksiz

ameliyatlar için 5070 \$'lık kazanç sağlamıştır. miRNA testleri cerrahi oranını %67 azaltarak, hasta başına 1384 \$ ek maliyet ama gereksiz ameliyatlar için 3170 \$'lık yarar sağlamıştır. miRNA testleri ile gen ekspresyon sınıflamasına göre %52 daha az gereksiz cerrahi uygulanmış ve benign nodülleri %70 daha iyi saptamıştır (253). Tiroid kanserini öngörmede miRNA kullanılması açısından ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bizim çalışmamız da, bu amaçla yapılmış bir çalışma olup literatüre bu konuyla ilgili ek veriler sağlaması hedeflenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, ÖBA veya FN sitolojisi olan 109 hastadan preoperatif TİİAB örneklemede 10 miRNA geninin bir setinin ekspresyonu ile yedi-gen mutasyon testini birleştiren bir çalışmada, %89'luk bir duyarlılık ile %85 özgüllük, %73'lük bir PPV ve %94'lük NPV ile %32 oranında malignite saptanmıştır (21).

Tiroid kanseri ve miRNA'ların derlendiği metaanalizlerde, normal tiroid dokularındaki seviyelere kıyasla en sık miRNA-146b, miRNA-221, miRNA-222 ve miRNA-181b'nin aşırı ekspresyonu bildirilmiştir (17, 218-221). miRNA-146b, PTK'de normal dokuya kıyasla en çok eksprese edilen miRNA'lardandır. Ayrıca aşırı ekspresyonunun, tümör agresifliği ve ekstra tiroid tümör yayılımı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (17, 219). miRNA-146b'nin, RARy'yi hedef alarak, tiroid kanseri başlangıcında ve ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir (222, 223). Farklı bir çalışmada ise tiroid kanseri dokusu ile normal tiroid dokusu arasında farklı eksprese edilen miRNA 146b'nin de yer aldığı 72 miRNA saptanmış (254). 16 makalenin derlendiği bir metaanalizde, 29 regüle olmayan miRNA saptanmış. miRNA 146b bu metaanalizdeki altı çalışmada tiroid kanserinde upregüle olarak saptanmış (255). Zhang Y ve ark.(256)'nın çalışmasında miR-222, miR-221 ve miR-146b'nin tiroidektomi sonrası seviyelerinin belirgin azaldığı, bu nedenle bu belirteçlerin PTK'nin tanısı ve postoperatif takibi için invazif olmayan bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliği vurgulanmıştır. Lee JC ve ark.(25)'nin çalışmasında da, miRNA-146b ve miRNA-222 nüks PTK'de nüks etmemiş PTK ile karşılaştırıldığında sırasıyla 10.8 kat ve 8.9 kat fazla sentezlendiği gösterilmiştir. Preoperatif PTK hastalarının plazmalarında, sağlıklı gönüllülerden alınan plazma düzeylerine kıyasla miR-222 ve miR-146b seviyeleri daha yüksek saptanmış ve total tiroidektomi sonrası, miR-222 ve miR-146b plazma seviyelerinde 2.7 kat ve 5.1 kat azalma gözlenmiş.

Bizim çalışmamıza benzer bir şekilde dizayn edilmiş olan Lee YS ve ark.(24)'nın çalışmasında, 19 benign, 70 PTK hastası çalışmaya alınmış. Ortalama miR-146b ve miR-155 ekspresyon seviyeleri PTK grubunda benign gruba göre daha yüksek saptanmış. Benign ve PTK arasındaki ayrım için miR-146b için ROC eğrisinin (AUC) altındaki alan %61.4 duyarlılık ve %57.9 özgüllük ile 0.649 bulunmuş. miR-146b ve miR-155, benign ve malign lezyonlar arasında ayrım yapılmasına yardımcı olduğu, dolaşımdaki miRNA muhtemelen PTK için yararlı bir alternatif serolojik belirteç olduğu vurgulanmış. Bizim çalışmamızda da ameliyat öncesi bakılan dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin tiroid kanseri/benign ayrımı için ROC eğrisinin (AUC) altındaki alan %72.06 duyarlılık, %74.32 özgüllük ile 0.755 (AUC, $p < 0.001$) bulundu. Çalışmamızda dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin tiroid kanseri saptanan grupta benign patoloji olan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve aynı zamanda tiroid kanserini öngörebilmeye OR'yi 2.55 kat artırdığı saptanmıştır.

Çalışmamızda literatür verileri ile uyumlu olarak miRNA 146b-5p'nin preoperatif tiroid kanseri tanısında belirteç olarak faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

miRNA-146b'nin, miRNA-222 ve miRNA-221 ile ekspresyonunun lenf nodları ve uzak metastazlar, rekürrens riski ve BRAF V600E mutasyonunun varlığı ile ilişkili olması nedeniyle agresif PTK'de aşırı eksprese olduğu bulunmuştur (15). Farklı bir çalışmada ise miRNA 146b genel sağ kalım ile ilişkili bulunmuş ve prognoz için bağımsız risk faktörü olarak gösterilmiştir (254). Bizim çalışmamızda mikroPTK ve PTK arasında miRNA 146b-5p açısından farklılık saptanmadı. Ayrıca lenfovasküler invazyon, LAP varlığı ve tümörün agresifliği açısından da fark bulunmadı.

Serum miRNA-25 düzeyi, meme kanseri, özofageal skuamöz hücreli karsinom ve HBV-pozitif hepatokarsinom dahil olmak üzere çeşitli malign hastalarda daha yüksek saptanmıştır (257-259). Buna karşılık, yapılan farklı bir çalışmada kolon kanseri dokuları, kanser olmayan mukoza dokularıyla karşılaştırıldığında miRNA-25 daha düşük seviyede saptanmış. miRNA-25 ekspresyonundaki değişikliğin, kolon kanseri hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü engelleyebileceğini, miRNA-25'in kolon kanserinde tümör süpresörü olarak işlev görebileceği belirtilmiştir (260). Benzer şekilde, farklı bir çalışmada miRNA 25-3p ekspresyonunun, osteosarkomlu dokularda, tümör olmayan kemik dokuları ve normal osteoblastlar ile karşılaştırıldığında downregüle olduğu gösterilmiştir. miRNA-25-3p'nin aşırı ekspresyonunun, in vitro olarak osteosarkom hücrelerinin

proliferasyonunu, göçünü ve invazyonunu önemli ölçüde baskıladığı gösterilmiştir. miRNA-25-3p'nin kemik dokusunda tümör baskılayıcı olarak rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu nedenle miRNA-25-3p'nin, hastaların tedavisinde yeni bir terapötik hedef olarak potansiyele sahip olabileceği vurgulanmıştır (261). Farklı bir çalışmada da, kantitatif PCR, dilin skuamöz hücreli karsinom hücrelerinde miR-25-3p ekspresyonunun, komşu dokulardan önemli ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiş. miRNA-25-3p'nin dilin skuamöz hücreli karsinomunun ortaya çıkmasında ve gelişmesinde önemli bir rolü olan hücre siklusuna bağlı protein ekspresyonunu düzenlediği ve hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (262). Literatürde miRNA 25-3p ve tiroid kanseri ilişkisini inceleyen sadece iki çalışma mevcuttur ve bu iki çalışmada karşıt görüşler mevcuttur. 56 PTK'lı hasta ile 95 benign tiroid nodüllü hastaların karşılaştırıldığı çalışmada, PTK'li hastalarda miRNA 25-3p, miRNA 451a, miRNA 140-3p, miRNA 29a-3p, miRNA 1246, miRNA 21-5p, miRNA 106b-5p plazmada anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır. Bununla birlikte PTK'lı hastalarda miRNA 320p, miRNA 4454, miRNA 5101 ise daha düşük saptanmıştır. Tümör eksizyonundan 4-7 gün sonra 7 PTK hastasında plazma miR-25-3p ve miR-451a düzeylerinin, cerrahi öncesi ile karşılaştırıldığında, hastaların tamamında ameliyattan sonra önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, plazmadaki miR-25-3p ve miR-451a'nın PTK için potansiyel biyobelirteçler olduğu vurgulanmıştır (23). Ancak farklı bir çalışmada ise wild tip RAS veya BRAF mutasyonu olan NIFTP saptanan olgularda 12 farklı miRNA eksprese edildiği saptanmış. Bunlardan dört miRNA'nın (miR-221-5p, miR-221-3p, miR-222-3p and miR-146b-5p) upregüle olduğu, miRNA 25-3p'nin de aralarında bulunduğu sekiz miRNA'nın (miR-25-3p, miR-181a-3p, miR-28-5p, miR-363-3p, miR-342-3p, miR-1285-5p, miR-152-3p, miR-25-3p, miR-30e-3) downregüle olduğu saptanmış. Bu çalışmada NIFTP'lerin miRNA ekspresyon profillerinin mutasyon durumlarına göre farklılık gösterebileceği gösterilmiş. Wild tip NIFTP'lerin miRNA ekspresyon profili foliküler adenomlarınkine benzer görülmüş. RAS veya BRAF genlerinde mutasyonu olan NIFTP'lerin infiltratif ve invaziv foliküler varyant tip PTK'lerinkine benzer bir miRNA ekspresyon profiline sahip olduğu gösterilmiş. miR-221-5p, miR-221-3p, miR-222-3p ve miR-146b-5p upregülasyonu ve sekiz miRNA'ların downregülasyonu (miR-181a-3p, miR-28-5p, miR-363-3p, miR-342-3p, miR-1285-5p, miR-152-3p, miR-25-3p, miR-30e-3p), RAS veya BRAF mutasyonu olan NIFTP'lerin invaziv fenotipine neden olduğu vurgulanmıştır (224).

Bizim çalışmamızda tiroid kanseri saptanan olguların miRNA 25-3p düzeyleri ortanca değeri 16.39 (13.84-17.36), benign hastaların ise 17.72 (16.92-19.01) olup istatistiksel olarak PTK'lı grupta daha düşük seviyede olduğu saptandı. Ameliyat öncesi bakılan dolaşımdaki miRNA 25-3p'nin tiroid kanseri/benign ayrımı için ROC eğrisinin (AUC) altındaki alan %80.88 duyarlılık, %66.22 özgüllük ile 0.787 (AUC, $p < 0.001$) bulundu. Çalışmamızda, Li M ve ark.(23)'nin çalışmasından farklı, Denaro M ve ark.(224)'nin çalışmasına benzer olarak miRNA 25-3p'nin tiroid kanserinde dolaşımdaki seviyesini düşük saptadık. Literatürde tiroid kanseri ile miRNA 25-3p arasındaki ilişkiyi inceleyen az sayıdaki çalışma dikkate alındığında çalışmamızın sonuçları, tiroid kanserinde dolaşımdaki miRNA 25-3p seviyesinin düşük olacağını düşündürmektedir. miRNA 25-3p'nin osteosarkom çalışmasında (261) tümör baskılayıcı olarak rol oynayabileceğinin vurgulandığı düşünüldüğünde, bizim çalışmamızda da miRNA 25-3p'nin tiroid kanseri açısından tümör baskılayıcı rolü açısından değerlendirilmesinin önemli olacağını düşünmekteyiz.

miRNA-451a, birçok insan kanserinde çalışılmıştır (225-227). Yapılan bir metaanalizde, miRNA-451a'nın PTK'de downregüle edildiği gösterilmiştir ve miR-451a ekspresyon seviyesi ile tümör agresifliği, TNM evresi ve ekstratiroidal invazyon varlığı arasındaki ters ilişkiyi gözlemlemiştir (228). miRNA-451, tiroid kanserinde değiştiği bilinen PI3k / AKT sinyal yolunun önemli bir bileşeni olan AKT1'i hedefleyerek, PTK'de bir tümör baskılayıcı görevi görür (228-230). Zhang M. ve ark.(263)'nin yapmış olduğu çalışmada lenf nodu pozitif (LN+ 261) PTK hastalarında serum miR-451 düzeyinin, lenf nod negatif (LN- 262) hastalara göre, sırasıyla 6.79 ± 2.29 'a karşılık 12.08 ± 1.86 ($p=0.017$), anlamlı olarak daha düşük saptanmış. Wang Z. ve ark.(231)'nin yaptığı çalışmada lenf nodu metastazı olan PTK'li hastalarda miRNA 451 ekspresyonunun lenf nodu metastazı olmayan hastalara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Li M. ve ark.(23) yaptığı çalışmada ise tiroid kanseri hastalarla benign olan hastalar karşılaştırıldığında PTK'li hastalarda anlamlı olarak daha yüksek miR-451a düzeyi saptanmış. PTK hastalarında tümör cerrahi olarak çıkarılmasından sonra miR-451a düzeyi azalmıştır. Bizim çalışmamızda tiroid kanseri saptanan olguların miRNA 451a düzeyleri ortanca değeri 18.38 (17.43-19.03), benign saptanan olguların ise 19.52 (16.18-20.07) olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Lenfovasküler invazyon olan ve olmayan olgular arasında miRNA 451a arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Çalışmamızda ATA kılavuzunda belirsiz (indeterminate) sitoloji olarak tanımlanan önemi belirsiz atipi veya önemi belirlenemeyen foliküler lezyon ve foliküler neoplazm veya foliküler neoplazm şüphesi olan ve opere olan 41 hastanın cerrahi sonrasında 26'sında benign tiroid nodülü, 15'inde (%36.6) tiroid kanseri (10 mikro PTK, 4 PTK, 1 foliküler tiroid kanseri) saptandı. TİİAB sonucuna göre bu hasta grubunda cerrahi sonrası patolojisine göre tiroid kanseri saptanan ve saptanmayan olgular arasında miRNA 25-3p ve miRNA 146b-5p arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Önemi belirsiz atipi veya önemi belirlenemeyen foliküler lezyon ve foliküler neoplazm veya foliküler neoplazm şüphesi olan hastalarda cerrahi sonrası malignite oranları, benign patolojilerden daha düşük olması ve bu hastalarda cerrahi önerilmesi nedeniyle preoperatif maligniteyi öngörebilecek ek testlere ihtiyaç duyulmaktadır (264). Bu hasta grubunda özellikle cerrahi öncesi miRNA 25-3p ve miRNA 146b-5p'nin kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, çalışmamızda tiroid kanseri saptanan hastaların ameliyat öncesi dönemde alınan kan örneklerinde benign tiroid nodülü saptanan gruba göre dolaşımdaki miRNA 146b-5p düzeyi yüksek, miRNA 25-3p düzeyi düşük, miRNA 451a düzeyi benzer olarak saptandı. Özellikle miRNA 146b-5p'nin tiroid kanserini öngörebilmeye OR'yi 2.55 kat artırdığı saptandı. Bulgularımız, dolaşımdaki miRNA 146b-5p ve miRNA 25-3p düzeylerinin tiroid kanseri tanısı için değerli olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız ile dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin preoperatif tiroid kanseri tanısında invaziv olmayan önemli bir biyobelirteç olabileceğini, ayrıca miRNA 25-3p'nin de tiroid kanseri için tümör baskılayıcı rolü açısından araştırılmasının önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tiroid kanseri en sık 4. dekatta ortaya çıkmaktadır. En sık kadınlarda görülmektedir.

TİİAB sonuçları ile ameliyat sonrası patoloji sonuçları karşılaştırıldığında; tanısal olmayan sitolojileri %30.8'inde, benign sitolojilerin %20.2'sinde, önemi belirsiz atipilerin %34.6'sında, foliküler neoplazmların %43.8'inde, malignite kuşkulu sitolojilerin %70.3'ünde ve malign sitolojilerin %91.7'sinde tiroid kanseri olduğu saptanmıştır.

Tiroid kanseri olan hastaların TSH düzeyleri ile benign hastaların TSH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Tiroid kanseri olan hastalarda TSH düzeyi daha yüksek saptanmıştır.

Tiroid kanseri saptanan hastaların operasyon öncesi en büyük nodül boyutu ortanca değeri 16 (10-29) mm iken, benign tiroid nodülü saptanan olgularda ise 23.5 (16-35.5) mm olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.003$). Nodül boyutunun artması ile tiroid kanseri riskinin artması arasında bir ilişki olmadığını gösterilmiştir.

Dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin tiroid kanseri saptanan hastalarda benign hastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Ameliyat öncesi bakılan dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin tiroid kanseri/benign ayrımı için ROC eğrisinin (AUC) altındaki alan %72.06 duyarlılık, %74.32 özgüllük ile 0.755 (AUC, $p<0.001$) bulunmuştur.

Dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin tiroid kanserini öngörebilmede OR'yi 2.55 kat artırdığı saptandı.

Tiroid kanseri saptanan hastalarda miRNA 25-3p düzeyinin benign hastalara göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. Ameliyat öncesi bakılan dolaşımdaki miRNA 25-3p'nin tiroid kanseri/benign ayrımı için ROC eğrisinin (AUC) altındaki alan %80.88 duyarlılık, %66.22 özgüllük ile 0.787 (AUC, $p<0.001$) bulunmuştur.

Tiroid kanseri saptanan hastalarla benign hastalar arasında miRNA 451a düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Çalışmamız sonucunda, dolaşımdaki miRNA 146b-5p ve miRNA 25-3p düzeylerinin tiroid kanseri tanısı için değerli bir biyobelirteç olabileceğini düşünmekteyiz. Dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin, preopereatif tiroid kanseri tanısında invaziv olmayan önemli bir biyobelirteç olabileceğini, ayrıca miRNA 25-3p'nin de tiroid kanseri için tümör baskılayıcı rolü açısından araştırılmasının önemli olabileceğini düşünmekteyiz.



ÖZET

MALİGN TİROİD NODÜLLERİNİ BELİRMEDE DOLAŞIMDAKİ MikroRNA'LAR DUYARLI BİR BELİRTEÇ OLABİLİR Mİ?

Amaç-hipotez: Tiroid nodüllerinin benign ve malign ayırımında tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi ile değerlendirme yapılmaktadır. Farklılaşmış tiroid kanserlerini benign tiroid nodüllerinden ayırt edebilecek güvenilir biyobelirteçler bulunmamaktadır. MikroRNA (miRNA)'lar küçük, protein kodlamayan RNA molekülleridir. miRNA'ların normal ve patolojik dokular arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilen miRNA'ların kanser hücrelerindeki seviyelerinin normal hücrelerle karşılaştırılması kanserin tanı ve takibinde önem kazanmıştır. Çalışmamızda, benign ve malign tiroid nodülü ayırımında potansiyel bir biyobelirteç olarak dolaşımdaki miRNA düzeylerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda tiroid nodülü nedeniyle biyopsi yapılan ve tiroid operasyonu olan hastalar alındı. Operasyon sonrası patoloji sonucu malign olan 68 hasta ile benign olan 74 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Operasyon öncesi kan örnekleri toplandı. Dolaşımdaki miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p, miRNA 451a izole edildi. Bulgular SPSS 18'e kaydedilerek istatistiksel analizler yapıldı.

Bulgular: Çalışmaya operasyon sonrası patoloji sonuçlarına göre 68'i tiroid kanseri (56 kadın, 12 erkek), 74'ü benign (61 kadın, 13 erkek) olan hastalar alındı. Tiroid kanseri saptanan hastaların yaş ortalaması 48.4 ± 15.17 , benign hasta grubunun 52.31 ± 10.63 idi ($p > 0.05$). Tiroid kanseri saptanan hastaların miRNA 25-3p düzeyleri daha düşük, miRNA 146b-5p düzeyleri daha yüksek saptandı ($p < 0.001$). Dolaşımdaki miRNA 146b-5p'nin tiroid kanserini öngörebilmede OR'yi 2.55 kat artırdığı saptandı. miRNA 451a düzeyleri bakımından ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak, çalışmamız ile dolaşımdaki miRNA 146b-5p ve miRNA 25-3p'nin, preoperatif tiroid kanseri tanısında invaziv olmayan önemli biyobelirteçler olabileceğini, ayrıca miRNA 25-3p'nin de tiroid kanseri için tümör baskılayıcı rolü açısından araştırılmasının önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Tiroid nodülü, tiroid kanseri, miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p, miRNA 451a

İletişim Adresi: duygudeveci88@gmail.com

SUMMARY

CAN MICRORNAS IN THE CIRCULATION BE A SENSITIVE BIOMARKER TO IDENTIFY MALIGNANT THYROID NODULES?

Objective- hypotesis: Thyroid fine needle aspiration biopsy is used to evaluate benign and malignant thyroid nodules. There are no reliable biomarkers that can differentiate differentiated thyroid cancers from benign thyroid nodules. MicroRNAs (miRNAs) are small and non-coding RNA molecules. miRNAs have an important role in the pathogenesis of neoplasia. It was determined that miRNAs were different between from each other in normal and pathological tissues. Comparison of levels of miRNAs in cancer cells with normal cells is important in the diagnosis and follow-up of cancer. In that study, it was aimed to compare circulating miRNA levels as a potential biomarker in the differentiation of benign and malignant thyroid nodules.

Methods: This study included 68 patients with malignant nodules and 74 patients with benign nodules as control group who underwent biopsy for thyroid nodules and underwent thyroid operation in the Endocrinology and Metabolism Diseases Department, Adnan Menderes University. Blood samples were collected before the operation. The circulating miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p, miRNA 451a were isolated. SPSS18 was used for statistical analysis of the data.

Results: The sample of this study consisted of 68 patients (56 women, 12 men) with malignant nodules and 74 (61 women, 13 men) patients with benign nodules as control group. The mean age of the patients with malign nodules was 48.4 ± 15.17 and with benign nodules was 52.31 ± 10.63 ($p>0.05$). It was found that patients with thyroid cancer had significantly lower levels of miRNA 25-3p and higher miRNA 146b-5p levels ($p<0.001$). In predicting thyroid cancer, the circulating miRNA 146b-5p increased 2.55 fold in OR. There was no significant difference in miRNA 451a levels ($p>0.05$).

Conclusion: miRNA 146b-5p and miRNA 25-3p can be important noninvasive biomarkers in the diagnosis of preoperative thyroid cancer. Also, it is important to investigate the role of miRNA 25-3p as tumor suppressor in thyroid cancer.

Key words: Thyroid nodule, thyroid cancer, miRNA 25-3p, miRNA 146b-5p, miRNA 451a

Contact Address: duygudeveci88@gmail.com

KAYNAKLAR

1. Tan GH, Gharib H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. *Annals of internal medicine*. 1997; 126: 226-31.
2. Guth S, Theune U, Aberle J, Galach A, Bamberger C. Very high prevalence of thyroid nodules detected by high frequency (13 MHz) ultrasound examination. *European journal of clinical investigation*. 2009; 39: 699-706.
3. Hegedüs L. The thyroid nodule. *New England Journal of Medicine*. 2004; 351: 1764-71.
4. Danese D, Sciacchitano S, Farsetti A, Andreoli M, Pontecorvi A. Diagnostic accuracy of conventional versus sonography-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. *Thyroid*. 1998; 8: 15-21.
5. Carmeci C, Jeffrey RB, McDougall IR, Nowels KW, Weigel RJ. Ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid masses. *Thyroid*. 1998; 8: 283-9.
6. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; 43: 350.
7. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004; 116: 281-97.
8. Cowland JB, Hother C, Grønbaek K. MicroRNAs and cancer. *Apmis*. 2007; 115: 1090-106.
9. Mattie MD, Benz CC, Bowers J, Sensinger K, Wong L, Scott GK, Fedele V, Ginzinger D, Getts R, Haqq C. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies. *Molecular cancer*. 2006; 5: 24.
10. Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene*. 2006; 25: 2537.
11. Chin L, Hahn WC, Getz G, Meyerson M. Making sense of cancer genomic data. *Genes & development*. 2011; 25: 534-55.

12. Schwertheim S, Sheu S, Worm K, Grabellus F, Schmid K. Analysis of deregulated miRNAs is helpful to distinguish poorly differentiated thyroid carcinoma from papillary thyroid carcinoma. *Hormone and metabolic research*. 2009; 41: 475-81.
13. Wang Y, Gong W, Yuan Q. Effects of miR-27a upregulation on thyroid cancer cells migration, invasion, and angiogenesis. *Genetics and molecular research: GMR*. 2016; 15.
14. Liang W, Xie Z, Cui W, Guo Y, Xu L, Wu J, Guan H. Comprehensive gene and microRNA expression profiling reveals a role for miRNAs in the oncogenic roles of SphK1 in papillary thyroid cancer. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2017; 143: 601-11.
15. Boufraquech M, Klubo-Gwiedzinska J, Kebebew E. MicroRNAs in the thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016; 30: 603-19.
16. Zhao H, Tang H, Huang Q, Qiu B, Liu X, Fan D, Gong L, Guo H, Chen C, Lei S, Yang L, Lu J, Bao G. MiR-101 targets USP22 to inhibit the tumorigenesis of papillary thyroid carcinoma. *American journal of cancer research*. 2016; 6: 2575.
17. Chou CK, Chen RF, Chou FF, Chang HW, Chen YJ, Lee YF, Yang KD, Cheng JT, Huang CC, Liu RT. miR-146b is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extrathyroidal invasion and the BRAFV600E mutation. *Thyroid*. 2010; 20: 489-94.
18. Prasad NB, Somervell H, Tufano RP, Dackiw AP, Marohn MR, Califano JA, Wang Y, Westra WH, Clark DP, Umbricht CB, Libutti SK, Zeiger MA. Identification of genes differentially expressed in benign versus malignant thyroid tumors. *Clinical Cancer Research*. 2008; 14: 3327-37.
19. Chen YT, Kitabayashi N, Zhou XK, Fahey TJ 3rd, Scognamiglio T. MicroRNA analysis as a potential diagnostic tool for papillary thyroid carcinoma. *Modern Pathology*. 2008; 21: 1139.
20. Nikiforova MN, Chiosea SI, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocrine pathology*. 2009; 20: 85-91.
21. Labourier E, Shifrin A, Busseniers AE, Lupu MA, Manganelli ML, Andruss B, Wylie D, Beaudenon-Huibregtse S. Molecular testing for miRNA, mRNA, and DNA on fine-needle aspiration improves the preoperative diagnosis of thyroid nodules with

- indeterminate cytology. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015; 100: 2743-50.
22. Milas M, Shin J, Gupta M, Novosel T, Nasr C, Brainard J, Mitchell J, Berber E, Siperstein A. Circulating thyrotropin receptor mRNA as a novel marker of thyroid cancer: clinical applications learned from 1758 samples. *Annals of surgery*. 2010; 252: 643-51.
23. Li M, Song Q, Li H, Lou Y, Wang L. Circulating miR-25-3p and miR-451a may be potential biomarkers for the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *PloS one*. 2015; 10.
24. Lee YS, Lim YS, Lee JC, Wang SG, Park HY, Kim SY, Lee BJ. Differential expression levels of plasma-derived miR-146b and miR-155 in papillary thyroid cancer. *Oral oncology*. 2015; 51: 77-83.
25. Lee JC, Zhao JT, Clifton-Bligh RJ, Gill A, Gundara JS, Ip JC, Glover A, Sywak MS, Delbridge LW, Robinson BG, Sidhu SB. MicroRNA-222 and MicroRNA-146b are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer. *Cancer*. 2013; 119: 4358-65.
26. Yu S, Liu Y, Wang J, Guo Z, Zhang Q, Yu F, Zhang Y, Huang K, Li Y, Song E, Zheng XL, Xiao H. Circulating microRNA profiles as potential biomarkers for diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012; 97: 2084-92.
27. Cantara S, Pilli T, Sebastiani G, Cevenini G, Busonero G, Cardinale S, Dotta F, Pacini F. Circulating miRNA95 and miRNA190 are sensitive markers for the differential diagnosis of thyroid nodules in a Caucasian population. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014; 99: 4190-8.
28. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F, Randolph GW, Sawka AM, Schlumberger M, Schuff KG, Sherman SI, Sosa JA, Steward DL, Tuttle RM, Wartofsky L. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid* 2016. 2016; 26: 1-133.

29. Sadler GP, Clark OH, Van Heerden JA, Farley DR. Thyroid and parathyroid. Principles of surgery, 7th edition. New York: McGraw-Hill. 1999: 1674-6.
30. Takanashi Y, Honkura Y, Rodriguez-Vazquez JF, Murakami G, Kawase T, Katori Y. Pyramidal lobe of the thyroid gland and the thyroglossal duct remnant: a study using human fetal sections. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*. 2015; 197: 29-37.
31. Mansberger Jr AR, Wei JP. Surgical embryology and anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Surgical Clinics of North America*. 1993; 73: 727-46.
32. Pearse A, Carnevali A. Cytochemical evidence for an ultimobranchial origin of rodent thyroid C cells. *Nature*. 1967; 214: 929.
33. Lal G, Clark OH. Thyroid, parathyroid and adrenal. *Schwartz's principles of surgery*, 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2005: 1395-470.
34. Braverman LE, Cooper D. *Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
35. Wasserman JM, Sundaram K, Alfonso AE, Rosenfeld RM, Har-El G. Determination of the function of the internal branch of the superior laryngeal nerve after thyroidectomy. *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*. 2008; 30: 21-7.
36. Lee J, John E, Panajiotis N. *Anatomy of the thyroid gland. Surgical Anatomy and Technique*: Springer-Verlag New York, 1995: 31-44.
37. Dere F, Arıncı K, Ersoy M. *Glandula thyroidea ve parathyroidea. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. 1990; 2: 497-500.
38. Yıldırım M. *İnsan Embriyolojisi, Klinik Yönleri ile*, 6.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.
39. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, Ganong WF. *Endocrine & Reproductive Physiology, Chapter 20 The Thyroid Gland. Ganong's Review of Medical Physiology: The McGraw-Hill Companies*, 2010.
40. Bender D, Botham KM, Kennelly PJ. *Harpers Illustrated Biochemistry*. 29th Edition: McGraw Hill Professional, 2012.
41. Hegedus L, Bonnema SJ, Bennedbæk FN. Management of simple nodular goiter: current status and future perspectives. *Endocrine reviews*. 2003; 24: 102-32.

42. Gürsoy A, Erdoğan MF. A 'dan Z 'ye Klinik Tiroidoloji. 2. Baskı Ankara: Pelikan Kitapevi, 2015: 310-108.
43. Vander JB, Gaston EA, Dawber TR. The significance of nontoxic thyroid nodules: final report of a 15-year study of the incidence of thyroid malignancy. *Annals of internal medicine*. 1968; 69: 537-40.
44. Tunbridge W, Evered D, Hall R, Appleton D, Brewis M, Clark F, Evans JG, Young E, Bird T, Smith PA. The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. *Clinical endocrinology*. 1977; 7: 481-93.
45. Niedziela M. Thyroid nodules. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014; 28: 245-77.
46. Abu-Eshy S, Khan A, Khan G, Al-Humaidi M, Al-Shehri M, Malatani T. Thyroid malignancy in multinodular goitre and solitary nodule. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh*. 1995; 40: 310-2.
47. Pacini F, Vorontsova T, Demidchik EP, Molinaro E, Agate L, Romei C, Shavrova E, Cherstvoy ED, Ivashkevitch Y, Kuchinskaya E, Schlumberger M, Ronga G, Filesi M, Pinchera A. Post-Chernobyl thyroid carcinoma in Belarus children and adolescents: comparison with naturally occurring thyroid carcinoma in Italy and France. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997; 82: 3563-9.
48. Hemminki K, Eng C, Chen B. Familial risks for nonmedullary thyroid cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005; 90: 5747-53.
49. Curtis RE, Rowlings PA, Deeg HJ, Shriner DA, Socie G, Travis LB, Horowitz MM, Witherspoon RP, Hoover RN, Sobocinski KA, Fraumeni JF Jr, Boice JD Jr. Solid cancers after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1997: 897-904.
50. Khurana KK, Labrador E, Izquierdo R, Mesonero CE, Pisharodi LR. The role of fine-needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules in children, adolescents, and young adults: a multi-institutional study. *Thyroid*. 1999; 9:383-6.
51. Hagag P, Strauss S, Weiss M. Role of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy in evaluation of nonpalpable thyroid nodules. *Thyroid*. 1998; 8: 989-95.
52. Niedziela M. Pathogenesis, diagnosis and management of thyroid nodules in children. *Endocrine-related cancer*. 2006; 13: 427-53.

53. Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. *New England Journal of Medicine*. 1993; 328: 553-9.
54. Gharib H, Papini E. Thyroid nodules: clinical importance, assessment, and treatment. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2007; 36: 707-35.
55. Boelaert K, Horacek J, Holder R, Watkinson J, Sheppard M, Franklyn J. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006; 91: 4295-301.
56. Haymart MR, Replinger DJ, Levenson GE, Elson DF, Sippel RS, Jaume JC, Chen H. Higher serum thyroid stimulating hormone level in thyroid nodule patients is associated with greater risks of differentiated thyroid cancer and advanced tumor stage. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008; 93: 809-14.
57. Replinger D, Bargren A, Zhang YW, Adler JT, Haymart M, Chen H. Is Hashimoto's thyroiditis a risk factor for papillary thyroid cancer? *Journal of Surgical Research*. 2008; 150: 49-52.
58. Suh I, Vriens MR, Guerrero MA, Griffin A, Shen WT, Duh QY, Clark OH, Kebebew E. Serum thyroglobulin is a poor diagnostic biomarker of malignancy in follicular and Hürthle-cell neoplasms of the thyroid. *The American Journal of Surgery*. 2010; 200: 41-6.
59. Lee EK, Chung KW, Min HS, Kim TS, Kim TH, Ryu JS, Jung YS, Kim SK, Lee YJ. Preoperative serum thyroglobulin as a useful predictive marker to differentiate follicular thyroid cancer from benign nodules in indeterminate nodules. *Journal of Korean medical science*. 2012; 27: 1014-8.
60. Smith-Bindman R, Lebda P, Feldstein VA, Sellami D, Goldstein RB, Brasic N, Jin C, Kornak J. Risk of thyroid cancer based on thyroid ultrasound imaging characteristics: results of a population-based study. *JAMA internal medicine*. 2013; 173: 1788-95.
61. Brito JP, Gionfriddo MR, Al Nofal A, Boehmer KR, Leppin AL, Reading C, Callstrom M, Elraiyah TA, Prokop LJ, Stan MN, Murad MH, Morris JC, Montori VM. The accuracy of thyroid nodule ultrasound to predict thyroid cancer: systematic review

- and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014; 99: 1253-63.
62. Kwak JY, Han KH, Yoon JH, Moon HJ, Son EJ, Park SH, Jung HK, Choi JS, Kim BM, Kim EK. Thyroid imaging reporting and data system for US features of nodules: a step in establishing better stratification of cancer risk. *Radiology*. 2011; 260: 892-9.
63. Moon WJ, Jung SL, Lee JH, Na DG, Baek JH, Lee YH, Kim J, Kim HS, Byun JS, Lee DH. Benign and malignant thyroid nodules: US differentiation—multicenter retrospective study. *Radiology*. 2008; 247: 762-70.
64. Moon HJ, Kwak JY, Kim MJ, Son EJ, Kim EK. Can vascularity at power Doppler US help predict thyroid malignancy? *Radiology*. 2010; 255: 260-9.
65. Salmaslıoğlu A, Erbil Y, Dural C, İşsever H, Kapran Y, Özarmağan S, Tezelman S. Predictive value of sonographic features in preoperative evaluation of malignant thyroid nodules in a multinodular goiter. *World journal of surgery*. 2008; 32: 1948.
66. Papini E, Guglielmi R, Bianchini A, Crescenzi A, Taccogna S, Nardi F, Panunzi C, Rinaldi R, Toscano V, Pacella CM. Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-Doppler features. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87: 1941-6.
67. Gul K, Ersoy R, Dirikoc A, Korukluoglu B, Ersoy PE, Aydin R, Ugras SN, Belenli OK, Cakir B. Ultrasonographic evaluation of thyroid nodules: comparison of ultrasonographic, cytological, and histopathological findings. *Endocrine*. 2009; 36: 464-72.
68. Cappelli C, Pirola I, Cumetti D, Micheletti L, Tironi A, Gandossi E, Martino E, Cherubini L, Agosti B, Castellano M, Mattanza C, Rosei EA. Is the anteroposterior and transverse diameter ratio of nonpalpable thyroid nodules a sonographic criteria for recommending fine-needle aspiration cytology? *Clinical endocrinology*. 2005; 63: 689-93.
69. Frates MC, Benson CB, Doubilet PM, Kunreuther E, Contreras M, Cibas ES, Orcutt J, Moore FD Jr, Larsen PR, Marqusee E, Alexander EK. Prevalence and distribution of carcinoma in patients with solitary and multiple thyroid nodules on sonography. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006; 91: 3411-7.

70. Moon HJ, Sung JM, Kim EK, Yoon JH, Youk JH, Kwak JY. Diagnostic performance of gray-scale US and elastography in solid thyroid nodules. *Radiology*. 2012; 262: 1002-13.
71. Kim DS, Kim JH, Na DG, Park SH, Kim E, Chang KH, Sohn CH, Choi YH. Sonographic features of follicular variant papillary thyroid carcinomas in comparison with conventional papillary thyroid carcinomas. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2009; 28: 1685-92.
72. Park YJ, Kim JA, Son EJ, Youk JH, Kim EK, Kwak JY, Park CS. Thyroid nodules with macrocalcification: sonographic findings predictive of malignancy. *Yonsei medical journal*. 2014; 55: 339-44.
73. Jeh SK, Jung SL, Kim BS, Lee YS. Evaluating the degree of conformity of papillary carcinoma and follicular carcinoma to the reported ultrasonographic findings of malignant thyroid tumor. *Korean journal of radiology*. 2007; 8: 192-7.
74. Ito Y, Miyauchi A, Kihara M, Higashiyama T, Kobayashi K, Miya A. Patient age is significantly related to the progression of papillary microcarcinoma of the thyroid under observation. *Thyroid*. 2014; 24: 27-34.
75. Paschke R, Hegedüs L, Alexander E, Valcavi R, Papini E, Gharib H. Thyroid nodule guidelines: agreement, disagreement and need for future research. *Nature Reviews Endocrinology*. 2011; 7: 354.
76. Leenhardt L, Erdogan M, Hegedus L, Mandel S, Paschke R, Rago T, Russ G. 2013 European thyroid association guidelines for cervical ultrasound scan and ultrasound-guided techniques in the postoperative management of patients with thyroid cancer. *European thyroid journal*. 2013; 2: 147-59.
77. Soelberg KK, Bonnema SJ, Brix TH, Hegedüs L. Risk of malignancy in thyroid incidentalomas detected by 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography: a systematic review. *Thyroid*. 2012; 22: 918-25.
78. Chen W, Parsons M, Torigian DA, Zhuang H, Alavi A. Evaluation of thyroid FDG uptake incidentally identified on FDG-PET/CT imaging. *Nuclear medicine communications*. 2009; 30: 240-4.

79. Nishimori H, Tabah R, Hickeson M, How J. Incidental thyroid “PETomas”: clinical significance and novel description of the self-resolving variant of focal FDG-PET thyroid uptake. *Canadian Journal of Surgery*. 2011; 54: 83.
80. Jo VY, Stelow EB, Dustin SM, Hanley KZ. Malignancy risk for fine-needle aspiration of thyroid lesions according to the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *American journal of clinical pathology*. 2010; 134: 450-6.
81. Mondal SK, Sinha S, Basak B, Roy DN, Sinha SK. The Bethesda system for reporting thyroid fine needle aspirates: A cytologic study with histologic follow-up. *Journal of Cytology/Indian Academy of Cytologists*. 2013; 30: 94.
82. Ozluk Y, Pehlivan E, Gulluoglu MG, Poyanli A, Salmaslioglu A, Colak N, Kapran Y, Yilmazbayhan D. The use of the Bethesda terminology in thyroid fine-needle aspiration results in a lower rate of surgery for nonmalignant nodules: a report from a reference center in Turkey. *International journal of surgical pathology*. 2011; 19: 761-71.
83. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *American journal of clinical pathology*. 2009; 132: 658-65.
84. Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a meta-analysis. *Acta cytologica*. 2012; 56: 333-9.
85. Moon HJ, Kwak JY, Choi YS, Kim EK. How to manage thyroid nodules with two consecutive non-diagnostic results on ultrasonography-guided fine-needle aspiration. *World journal of surgery*. 2012; 36: 586-92.
86. Layfield LJ, Abrams J, Cochand-Priollet B, Evans D, Gharib H, Greenspan F, Henry M, LiVolsi V, Merino M, Michael CW, Wang H, Wells SA. Post-thyroid FNA testing and treatment options: A synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagnostic cytopathology*. 2008; 36: 442-8.
87. Alexander EK, Heering JP, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Cibas ES, Marqusee E. Assessment of nondiagnostic ultrasound-guided fine needle aspirations of thyroid nodules. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87: 4924-7.

88. Orija I, Piñeyro M, Biscotti C, Reddy S, Hamrahian A. Value of repeating a nondiagnostic thyroid fine-needle aspiration biopsy. *Endocrine practice*. 2007; 13: 735-42.
89. Choi YS, Hong SW, Kwak JY, Moon HJ, Kim EK. Clinical and ultrasonographic findings affecting nondiagnostic results upon the second fine needle aspiration for thyroid nodules. *Annals of surgical oncology*. 2012; 19: 2304-9.
90. Punaes MK, da Rocha AP, Meotti C, Gross JL, Maia AL. Clinical and oncological features of children and young adults with multiple endocrine neoplasia type 2A. *Thyroid*. 2008; 18: 1261-8.
91. Nayar R, Ivanovic M. The indeterminate thyroid fine-needle aspiration. *Cancer Cytopathology*. 2009; 117: 195-202.
92. Baloch Z, LiVolsi VA, Jain P, Jain R, Aljada I, Mandel S, Langer JE, Gupta PK. Role of repeat fine-needle aspiration biopsy (FNAB) in the management of thyroid nodules. *Diagnostic cytopathology*. 2003; 29: 203-6.
93. Yassa L, Cibas ES, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Gawande AA, Moore FD Jr, Kim BW, Nosé V, Marqusee E, Larsen PR, Alexander EK. Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. *Cancer Cytopathology: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2007; 111: 508-16.
94. 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 Cytopathology*. 2007; 111: 306-15.
95. VanderLaan PA, Marqusee E, Krane JF. Clinical outcome for atypia of undetermined significance in thyroid fine-needle aspirations: should repeated fna be the preferred initial approach? *American journal of clinical pathology*. 2011; 135: 770-5.
96. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, Carty SE, LeBeau SO, Ferris RL, Yip L, Seethala RR, Tublin ME, Stang MT, Coyne C, Johnson JT, Stewart AF, Nikiforova MN. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011; 96: 3390-7.

97. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Klopper JP, Zhu Z, Fagin JA, Falciglia M, Weber K, Nikiforova MN. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009; 94: 2092-8.
98. Niemeier LA, Kuffner Akatsu H, Song C, Carty SE, Hodak SP, Yip L, Ferris RL, Tseng GC, Seethala RR, Lebeau SO, Stang MT, Coyne C, Johnson JT, Stewart AF, Nikiforov YE. A combined molecular-pathologic score improves risk stratification of thyroid papillary microcarcinoma. *Cancer*. 2012; 118: 2069-77.
99. Lin KL, Wang OC, Zhang XH, Dai XX, Hu XQ, Qu JM. The BRAF mutation is predictive of aggressive clinicopathological characteristics in papillary thyroid microcarcinoma. *Annals of surgical oncology*. 2010; 17: 3294-300.
100. Zheng X, Wei S, Han Y, Li Y, Yu Y, Yun X, Ren X, Gao M. Papillary microcarcinoma of the thyroid: clinical characteristics and BRAFV600E mutational status of 977 cases. *Annals of surgical oncology*. 2013; 20: 2266-73.
101. Hamberger B, Gharib H, Melton LJ, Goellner JR, Zinsmeister AR. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules: impact on thyroid practice and cost of care. *The American journal of medicine*. 1982; 73: 381-4.
102. Tuttle RM, Lemar H, Burch HB. Clinical features associated with an increased risk of thyroid malignancy in patients with follicular neoplasia by fine-needle aspiration. *Thyroid*. 1998; 8: 377-83.
103. 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. *Annals of surgery*. 2002; 235: 656.
104. Schlinkert RT, Van Heerden JA, Goellner JR, Gharib H, Smith SL, Rosales RF, Weaver AL. Factors that predict malignant thyroid lesions when fine-needle aspiration is "suspicious for follicular neoplasm". *Elsevier*. 1997; 72: 913-916
105. Mehta RS, Carty SE, Otori NP, Hodak SP, Coyne C, LeBeau SO, Tublin ME, Stang MT, Johnson JT, McCoy KL, Nikiforova MN, Nikiforov YE, Yip L. Nodule size is an independent predictor of malignancy in mutation-negative nodules with follicular lesion of undetermined significance cytology. *Surgery*. 2013; 154: 730-8.

106. Duren M, Yavuz N, Bukey Y, Ozyegin MA, Gundogdu S, Açbay O, Hatemi H, Uslu I, Onsel C, Aksoy F, Oz F, Unal G, Duren E. Impact of initial surgical treatment on survival of patients with differentiated thyroid cancer: experience of an endocrine surgery center in an iodine-deficient region. *World journal of surgery*. 2000; 24: 1290-4.
107. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, Cibas ES, Chudova D, Diggans J, Friedman L, Kloos RT, LiVolsi VA, Mandel SJ, Raab SS, Rosai J, Steward DL, Walsh PS, Wilde JJ, Zeiger MA, Lanman RB, Haugen BR. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(8):705-15.
108. Marqusee E, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Larsen PR, Cibas ES, Mandel SJ. Usefulness of ultrasonography in the management of nodular thyroid disease. *Annals of Internal Medicine*. 2000; 133: 696-700.
109. Brauer V, Eder P, Miehle K, Wiesner T, Hasenclever H, Paschke R. Interobserver variation for ultrasound determination of thyroid nodule volumes. *Thyroid*. 2005; 15: 1169-75.
110. Kwak JY, Koo H, Youk JH, Kim MJ, Moon HJ, Son EJ, Kim EK. Value of US correlation of a thyroid nodule with initially benign cytologic results. *Radiology*. 2009; 254: 292-300.
111. Chehade M, Joe M, Silverberg M, Alan B, Kim M, Joohee, Case M, Christopher, Mooradian M, Arshag D. Role of repeated fine-needle aspiration of thyroid nodules with benign cytologic features. *Endocrine Practice*. 2001; 7: 237-43.
112. Durante C, Grani G, Lamartina L, Filetti S, Mandel SJ, Cooper DS. The diagnosis and management of thyroid nodules: a review. *Jama*. 2018; 319: 914-24.
113. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Türkiye Kanseri İstatistikleri. Ankara, 2016.
114. Pelizzo MR, Boschin IM, Toniato A, Pagetta C, Piotto A, Bernante P, Casara D, Pennelli G, Rubello D. Natural history, diagnosis, treatment and outcome of papillary thyroid microcarcinoma (PTMC): a mono-institutional 12-year experience. *Nuclear medicine communications*. 2004; 25: 547-52.
115. Becker KL, Kahn RC, Rebar RW. Thyroid Cancer. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 3rd Edit: 382-402.

116. Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Modern Pathology*. 2001; 14: 338.
117. Mackenzie EJ, Mortimer RH. 6: Thyroid nodules and thyroid cancer. *The Medical Journal of Australia*. 2004; 180: 242-7.
118. Schneider AB, Sarne DH. Long-term risks for thyroid cancer and other neoplasms after exposure to radiation. *Nature Reviews Endocrinology*. 2005; 1: 82.
119. Pal T, Vogl FD, Chappuis PO, Tsang R, Brierley J, Renard H, Kevin Sanders, Kantemiroff T, Bagha S, Goldgar DE, Narod SA, Foulkes WD. Increased risk for nonmedullary thyroid cancer in the first degree relatives of prevalent cases of nonmedullary thyroid cancer: a hospital-based study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001; 86: 5307-12.
120. Fagin J. How thyroid tumors start and why it matters: kinase mutants as targets for solid cancer pharmacotherapy. *Journal of Endocrinology*. 2004; 183: 249-56.
121. Kondo T, Ezzat S, Asa SL. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. *Nature Reviews Cancer*. 2006; 6: 292.
122. Fagin JA, Mitsiades N. Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2008; 22: 955-69.
123. Jhiang S, Sagartz J, Tong Q, Parker-Thornburg J, Capen C, Cho JY, Xing S, Ledent C. Targeted expression of the ret/PTC1 oncogene induces papillary thyroid carcinomas. *Endocrinology*. 1996; 137: 375-8.
124. Knauf JA, Ma X, Smith EP, Zhang L, Mitsutake N, Liao XH, Refetoff S, Nikiforov YE, Fagin JA. Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancers that undergo dedifferentiation. *Cancer research*. 2005; 65: 4238-45.
125. Fernandez IJ, Piccin O, Sciascia S, Cavicchi O, Repaci A, Vicennati V, Fiorentino M. Clinical significance of BRAF mutation in thyroid papillary cancer. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2013; 148: 919-25.
126. Soares P, Lima J, Preto A, Castro P, Vinagre J, Celestino R, Couto JP, Prazeres H, Eloy C, Máximo V, Sobrinho-Simões M. Genetic alterations in poorly

- differentiated and undifferentiated thyroid carcinomas. *Current genomics*. 2011; 12: 609-17.
127. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *Journal of cancer epidemiology*. 2013; 2013.
128. Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Thyroid Cancer In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15 ed, 2001: 2079-83.
129. Schlumberger M, Challeton C, De Vathaire F, Travagli JP. Radioactive iodine treatment and external radiotherapy for lung and bone metastases from thyroid carcinoma. *The Journal of Nuclear Medicine*. 1996; 37: 598.
130. Schlumberger M, Tubiana M, De Vathaire F, Hill C, Gardet P, Travagli JP, Fragu P, Lumbroso J, Caillou B, Parmentier C. Long-term results of treatment of 283 patients with lung and bone metastases from differentiated thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1986; 63: 960-7.
131. Jameson JL, Groot LD. Thyroid Neoplasia. *Endocrinology*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006: 2147-80.
132. Brunicaudi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter LG, Matthews JB, Pollock RE. *Schwartz's principles of surgery: Thyroid, parathyroid, adrenal*. Ninth Edition Newyork: McGraw Hill Company, 2010: 1343-408.
133. Suliburk J, Delbridge L. Surgical management of well-differentiated thyroid cancer: state of the art. *Surgical Clinics*. 2009; 89: 1171-91.
134. Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LD. *Diagnostic pathology and molecular genetics of the thyroid: a comprehensive guide for practicing thyroid pathology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
135. Ball DW, Baylin SB, De Bustros AC. Medullary thyroid carcinoma. In: *Werner and Ingbar's the Thyroid*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: 8; 2000: 930-43.
136. Niccoli-Sire P, Conte-Devolx B. Medullary thyroid carcinoma. *Annales d'endocrinologie*. 2007.
137. Marquard J, Eng C. *Multiple endocrine neoplasia type 2*. 2015.

- 138.Moley JF. Medullary thyroid carcinoma. Current treatment options in oncology. 2003; 4: 339-47.
- 139.Sheikholeslami S, Yeganeh MZ, Rad LH, Ghadaksaz HG, Hedayati M. Haplotype Frequency of G691S/S904S in the RET proto-onco-gene in Patients with medullary thyroid carcinoma. Iranian journal of public health. 2014; 43: 235.
- 140.Wohlk N, Schweizer H, Erlic Z, Schmid KW, Walz MK, Raue F, Neumann HP. Multiple endocrine neoplasia type 2. Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism. 2010; 24: 371-87.
- 141.Mendelsohn G, Wells SA, Baylin SB. Relationship of tissue carcinoembryonic antigen and calcitonin to tumor virulence in medullary thyroid carcinoma. An immunohistochemical study in early, localized, and virulent disseminated stages of disease. Cancer. 1984; 54: 657-62.
- 142.Roman S, Lin R, Sosa JA. Prognosis of medullary thyroid carcinoma. Cancer. 2006; 107: 2134-42.
- 143.Maia AL, Siqueira DR, Kulcsar MA, Tincani AJ, Mazeto GM, Maciel LM. Diagnosis, treatment, and follow-up of medullary thyroid carcinoma: recommendations by the Thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. 2014; 58: 667-700.
- 144.Smallridge R, Copland J. Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies. Clinical Oncology. 2010; 22: 486-97.
- 145.Dijkstra B, Prichard R, Lee A, Kelly L, Smyth P, Crotty T, McDermott EW, Hill AD, O'Higgins N. Changing patterns of thyroid carcinoma. Irish Journal of Medical Science. 2007; 176: 87-90.
- 146.Kobayashi S, Yamadori I, Ohmori M, Kurokawa T, Umeda M. Anaplastic Carcinoma Of The Thyroid With Osteoclast-Like Giant Cells: An Ultrastructural and Immunohistochemical Study. Pathology International. 1987; 37: 807-15.
- 147.Venkatesh YS, Ordonez NG, Schultz PN, Hickey RC, Goepfert H, Samaan NA. Anaplastic carcinoma of the thyroid: a clinicopathologic study of 121 cases. Cancer. 1990; 66: 321-30.
- 148.Demeter JG, De Jong SA, Lawrence A, Paloyan E. Anaplastic thyroid carcinoma: risk factors and outcome. Surgery. 1991; 110: 956-63.

149. Nicolosi A, Addis E, Massidda B, Mallocci A, Mura E, Esu S. Anaplastic carcinoma of the thyroid. Our experience. *Minerva chirurgica*. 1992; 47: 1161-7.
150. Mellièrè D, Berrahal D, Becquemin J, Levy E, Lange F. Anaplastic cancers of the thyroid. Is healing possible? *Chirurgie; memoires de l'Academie de chirurgie*. 1999; 124: 52-7.
151. Sherman SI. Targeted therapy of thyroid cancer. *Biochemical pharmacology*. 2010; 80: 592-601.
152. Sherman S. New approaches to therapy of thyroid malignancies. *Clinical advances in hematology & oncology: H&O*. 2007; 5: 539-41.
153. Sherman SI, Angelos P, Ball DW, Byrd D, Clark OH, Daniels GH, Dilawari RA, Ehya H, Farrar WB, Gagel RF, Kandeel F, Kloos RT, Kopp P, Lamonica DM, Loree TR, Lydiatt WM, McCaffrey J, Olson JA, Ridge JA, Shah JP, Sisson JC, Tuttle RM, Urist MM. Thyroid carcinoma. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2007; 5: 568-621.
154. Freeman C, Berg JW, Cutler SJ. Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas. *Cancer*. 1972; 29: 252-60.
155. Pedersen R, Pedersen N. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the thyroid gland: a population based study. *Histopathology*. 1996; 28: 25-32.
156. Holm LE, Blomgren H, Löwhagen T. Cancer risks in patients with chronic lymphocytic thyroiditis. *New England Journal of Medicine*. 1985; 312: 601-4.
157. Bilimoria KY, Bentrem DJ, Ko CY, Stewart AK, Winchester DP, Talamonti MS, Sturgeon C. Extent of surgery affects survival for papillary thyroid cancer. *Annals of surgery*. 2007; 246: 375.
158. Grant CS, Hay ID, Gough IR, Bergstralh EJ, Goellner JR, McConahey WM. Local recurrence in papillary thyroid carcinoma: is extent of surgical resection important? *Surgery*. 1988; 104: 954-62.
159. Hay ID, Grant CS, Bergstralh EJ, Thompson GB, van Heerden JA, Goellner JR. Unilateral total lobectomy: is it sufficient surgical treatment for patients with AMES low-risk papillary thyroid carcinoma? *Surgery*. 1998; 124: 958-66.

160. Mazzaferri EL, Kloos RT. Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001; 86: 1447-63.
161. Matsuzaki K, Sugino K, Masudo K, Nagahama M, Kitagawa W, Shibuya H, Ohkuwa K, Uruno T, Suzuki A, Magoshi S, Akaishi J, Masaki C, Kawano M, Suganuma N, Rino Y, Masuda M, Kameyama K, Takami H, Ito K. Thyroid lobectomy for papillary thyroid cancer: long-term follow-up study of 1,088 cases. *World journal of surgery*. 2014; 38: 68-79.
162. Barney BM, Hitchcock YJ, Sharma P, Shrieve DC, Tward JD. Overall and cause-specific survival for patients undergoing lobectomy, near-total, or total thyroidectomy for differentiated thyroid cancer. *Head & neck*. 2011; 33: 645-9.
163. Nixon IJ, Ganly I, Patel SG, Palmer FL, Witcher MM, Tuttle RM, Shaha A, Shah JP. Thyroid lobectomy for treatment of well differentiated intrathyroid malignancy. *Surgery*. 2012; 151: 571-9.
164. Hay ID, Bergstralh EJ, Goellner JR, Ebersold JR, Grant CS. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. *Surgery*. 1993; 114: 1050-8.
165. Hay ID, Thompson GB, Grant CS, Bergstralh EJ, Dvorak CE, Gorman CA, Maurer MS, McIver B, Mullan BP, Oberg AL, Powell CC, van Heerden JA, Goellner JR. Papillary thyroid carcinoma managed at the Mayo Clinic during six decades (1940–1999): temporal trends in initial therapy and long-term outcome in 2444 consecutively treated patients. *World journal of surgery*. 2002; 26: 879-85.
166. Kouvaraki MA, Shapiro SE, Fornage BD, Edeiken-Monro BS, Sherman SI, Vassilopoulou-Sellin R, Lee JE, Evans DB. Role of preoperative ultrasonography in the surgical management of patients with thyroid cancer. *Surgery*. 2003; 134: 946-54.
167. Hughes DT, White ML, Miller BS, Gauger PG, Burney RE, Doherty GM. Influence of prophylactic central lymph node dissection on postoperative thyroglobulin levels and radioiodine treatment in papillary thyroid cancer. *Surgery*. 2010; 148: 1100-7.
168. Randolph GW, Duh QY, Heller KS, LiVolsi VA, Mandel SJ, Steward DL, Tufano RP, Tuttle RM. The prognostic significance of nodal metastases from papillary thyroid

- carcinoma can be stratified based on the size and number of metastatic lymph nodes, as well as the presence of extranodal extension. *Thyroid*. 2012; 22: 1144-52.
169. Robbins KT, Shaha AR, Medina JE, Califano JA, Wolf GT, Ferlito A, Som PM, Day TA. Consensus statement on the classification and terminology of neck dissection. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2008; 134: 536-8.
170. Lang BH, Ng SH, Lau LL, Cowling BJ, Wong KP, Wan KY. A systematic review and meta-analysis of prophylactic central neck dissection on short-term locoregional recurrence in papillary thyroid carcinoma after total thyroidectomy. *Thyroid*. 2013; 23: 1087-98.
171. Wang TS, Cheung K, Farrokhyar F, Roman SA, Sosa JA. A meta-analysis of the effect of prophylactic central compartment neck dissection on locoregional recurrence rates in patients with papillary thyroid cancer. *Annals of surgical oncology*. 2013; 20: 3477-83.
172. Pelttari H, Välimäki MJ, Löyttyniemi E, Schalin-Jäntti C. Post-ablative serum thyroglobulin is an independent predictor of recurrence in low-risk differentiated thyroid carcinoma: a 16-year follow-up study. *European journal of endocrinology*. 2010; 163: 757-63.
173. Webb RC, Howard RS, Stojadinovic A, Gaitonde DY, Wallace MK, Ahmed J, Burch HB. The utility of serum thyroglobulin measurement at the time of remnant ablation for predicting disease-free status in patients with differentiated thyroid cancer: a meta-analysis involving 3947 patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012; 97: 2754-63.
174. Giovanella L, Ceriani L, Suriano S, Ghelfo A, Maffioli M. Thyroglobulin measurement before rhTSH-aided 131I ablation in detecting metastases from differentiated thyroid carcinoma. *Clinical endocrinology*. 2008; 69: 659-63.
175. Piccardo A, Arecco F, Puntoni M, Foppiani L, Cabria M, Corvisieri S, Arlandini A, Altrinetti V, Bandelloni R, Orlandi F. Focus on high-risk DTC patients: high postoperative serum thyroglobulin level is a strong predictor of disease persistence and is associated to progression-free survival and overall survival. *Clinical nuclear medicine*. 2013; 38: 18-24.

176. Polachek A, Hirsch D, Tzvetov G, Grozinsky-Glasberg S, Slutski I, Singer J, Weinstein R, Shimon I, Benbassat CA. Prognostic value of post-thyroidectomy thyroglobulin levels in patients with differentiated thyroid cancer. *Journal of endocrinological investigation*. 2011; 34: 855-60.
177. Durante C, Montesano T, Attard M, Torlontano M, Monzani F, Costante G, Meringolo D, Ferdeghini M, Tumino S, Lamartina L, Paciaroni A, Massa M, Giacomelli L, Ronga G, Filetti S. Long-term surveillance of papillary thyroid cancer patients who do not undergo postoperative radioiodine remnant ablation: is there a role for serum thyroglobulin measurement? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012; 97: 2748-53.
178. Jonklaas J, Sarlis NJ, Litofsky D, Ain KB, Bigos ST, Brierley JD, Cooper DS, Haugen BR, Ladenson PW, Magner J, Robbins J, Ross DS, Skarulis M, Maxon HR, Sherman SI. Outcomes of patients with differentiated thyroid carcinoma following initial therapy. *Thyroid*. 2006; 16: 1229-42.
179. Jonklaas J, Cooper DS, Ain KB, Bigos T, Brierley JD, Haugen BR, Ladenson PW, Magner J, Ross DS, Skarulis MC, Steward DL, Maxon HR, Sherman SI. Radioiodine therapy in patients with stage I differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2010; 20: 1423-4.
180. Podnos YD, Smith DD, Wagman LD, Ellenhorn JD. Survival in patients with papillary thyroid cancer is not affected by the use of radioactive isotope. *Journal of surgical oncology*. 2007; 96: 3-7.
181. Perrier ND, Brierley JD, Tuttle RM. Differentiated and anaplastic thyroid carcinoma: Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018; 68: 55-63.
182. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2014; 15: 509.
183. Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2009; 10: 126.
184. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics*. 2010; 11: 597.

- 185.Siomi H, Siomi MC. Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals. *Molecular cell*. 2010; 38: 323-32.
- 186.Li A, Omura N, Hong SM, Vincent A, Walter K, Griffith M, Borges M, Goggins M. Pancreatic cancers epigenetically silence SIP1 and hypomethylate and overexpress miR-200a/200b in association with elevated circulating miR-200a and miR-200b levels. *Cancer research*. 2010; 70: 5226-37.
- 187.Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *International journal of cancer*. 2010; 127: 118-26.
- 188.Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2006; 6: 259.
- 189.Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *Rna*. 2004; 10: 1957-66.
- 190.Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, Kim VN. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO journal*. 2004; 23: 4051-60.
- 191.Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003; 425: 415.
- 192.Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*. 2004; 432: 231.
- 193.Chong MM, Zhang G, Cheloufi S, Neubert TA, Hannon GJ, Littman DR. Canonical and alternate functions of the microRNA biogenesis machinery. *Genes & development*. 2010; 24: 1951-60.
- 194.Shiohama A, Sasaki T, Noda S, Minoshima S, Shimizu N. Molecular cloning and expression analysis of a novel gene DGCR8 located in the DiGeorge syndrome chromosomal region. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003; 304: 184-90.
- 195.Goldberg R, Motzkin B, Marion R, Scambler PJ, Shprintzen RJ. Velo-cardio-facial syndrome: A review of 120 patients. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 1993; 45: 313-9.

196. Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004; 303: 95-8.
197. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*. 2001; 409: 363.
198. Iwasaki S, Kobayashi M, Yoda M, Sakaguchi Y, Katsuma S, Suzuki T, Tomari Y. Hsc70/Hsp90 chaperone machinery mediates ATP-dependent RISC loading of small RNA duplexes. *Molecular cell*. 2010; 39: 292-9.
199. Höck J, Meister G. The Argonaute protein family. *Genome biology*. 2008; 9: 210.
200. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*. 2005; 123: 631-40.
201. Mott JL, Mohr AM. Overview of microRNA biology. *Seminars in liver disease*. 2015; 35: 003-011
202. Ardekani AM, Naeini MM. The role of microRNAs in human diseases. *Avicenna journal of medical biotechnology*. 2010; 2: 161.
203. Eiring AM, Harb JG, Neviani P, Garton C, Oaks JJ, Spizzo R, Liu S, Schwind S, Santhanam R, Hickey CJ, Becker H, Chandler JC, Andino R, Cortes J, Hokland P, Huettner CS, Bhatia R, Roy DC, Liebhaber SA, Caligiuri MA, Marcucci G, Garzon R, Croce CM, Calin GA, Perrotti D. miR-328 functions as an RNA decoy to modulate hnRNP E2 regulation of mRNA translation in leukemic blasts. *Cell*. 2010; 140: 652-65.
204. Medina PP, Nolde M, Slack FJ. OncomiR addiction in an in vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma. *Nature*. 2010; 46: 86.
205. Mutharasan RK, Nagpal V, Ichikawa Y, Ardehali H. microRNA-210 is upregulated in hypoxic cardiomyocytes through Akt- and p53-dependent pathways and exerts cytoprotective effects. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2011; 301: 1519-30.
206. Wei Y, Nazari-Jahantigh M, Chan L, Zhu M, Heyll K, Corbalán-Campos J, Hartmann P, Thiemann A, Weber C, Schober A. The microRNA-342-5p fosters inflammatory macrophage activation through an Akt1 and microRNA-155 dependent pathway during atherosclerosis. *Circulation*. 2013; 127: 1609-19

207. Yu F, Yao H, Zhu P, Zhang X, Pan Q, Gong C, Huang Y, Hu X, Su F, Lieberman J, Song E. let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell*. 2007; 131: 1109-23.
208. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecologic oncology*. 2008; 110: 13-21.
209. Rabinowits G, Gerçel-Taylor C, Day JM, Taylor DD, Kloecker GH. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clinical lung cancer*. 2009; 10: 42-6.
210. Rajewsky N. How many miRNA targets? *Nature Structural and Molecular Biology*. 2006; 13: 754.
211. Rajewsky N. microRNA target predictions in animals. *Nature genetics*. 2006; 38: 8.
212. Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell*. 2005; 120: 21-4.
213. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002; 99: 15524-9.
214. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic acids research*. 2013; 42: 68-73.
215. Londin E, Loher P, Telonis AG, Quann K, Clark P, Jing Y, Hatzimichael E, Kirino Y, Honda S, Lally M, Ramratnam B, Comstock CE, Knudsen KE, Gomella L, Spaeth GL, Hark L, Katz LJ, Witkiewicz A, Rostami A, Jimenez SA, Hollingsworth MA, Yeh JJ, Shaw CA, McKenzie SE, Bray P, Nelson PT, Zupo S, Van Roosbroeck K, Keating MJ, Calin GA, Yeo C, Jimbo M, Cozzitorto J, Brody JR, Delgrosso K, Mattick JS, Fortina P, Rigoutsos I. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015; 112: 1106-15.
216. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S, Calin GA, Liu C, Franssila K, Suster S, Kloos RT, Croce CM, Chappelle A. The role of microRNA genes

- in papillary thyroid carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005; 102: 19075-80.
217. Fuziwara CS, Kimura ET. MicroRNAs in thyroid development, function and tumorigenesis. *Molecular and cellular endocrinology*. 2017; 456: 44-50.
218. Zhou YL, Liu C, Dai XX, Zhang XH, Wang OC. Overexpression of miR-221 is associated with aggressive clinicopathologic characteristics and the BRAF mutation in papillary thyroid carcinomas. *Medical Oncology*. 2012; 29: 3360-6.
219. Wang Z, Zhang H, He L, Dong W, Li J, Shan Z, Teng W. Association between the expression of four upregulated miRNAs and extrathyroidal invasion in papillary thyroid carcinoma. *OncoTargets and therapy*. 2013; 6: 281.
220. Stokowy T, Gawel D, Wojtas B. Differences in miRNA and mRNA profile of papillary thyroid cancer variants. *International journal of endocrinology*. 2016; 2016.
221. Rosignolo F, Memeo L, Monzani F, Colarossi C, Pecce V, Verrienti A, Durante C, Grani G, Lamartina L, Forte S, Martinetti D, Giuffrida D, Russo D, Basolo F, Filetti S, Sponziello M. MicroRNA-based molecular classification of papillary thyroid carcinoma. *International journal of oncology*. 1899; 50: 1767-77.
222. Oridate N, Lotan D, Xu XC, Hong WK, Lotan R. Differential induction of apoptosis by all-trans-retinoic acid and N-(4-hydroxyphenyl) retinamide in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Clinical Cancer Research*. 1996; 2: 855-63.
223. Simon D, Körber C, Krausch M, Segering J, Groth P, Görges R, Grünwald F, Müller-Gärtner H, Schmutzler C, Köhrle J, Röher H, Reiners C. Clinical impact of retinoids in redifferentiation therapy of advanced thyroid cancer: final results of a pilot study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2002; 29: 775-82.
224. Denaro M, Ugolini C, Poma AM, Borrelli N, Materazzi G, Piaggi P, Chiarugi M, Miccoli P, Vitti P, Basolo F. Differences in miRNA expression profiles between wild-type and mutated NIFTPs. *Endocrine-related cancer*. 2017; 24: 543-53.
225. Bandres E, Bitarte N, Arias F, Agorreta J, Fortes P, Agirre X, Zarate R, Diaz-Gonzalez JA, Ramirez N, Sola JJ, Jimenez P, Rodriguez J, Garcia-Foncillas J. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells. *Clinical Cancer Research*. 2009; 15: 2281-90.

226. Zhang F, Huang W, Sheng M, Liu T. MiR-451 inhibits cell growth and invasion by targeting CXCL16 and is associated with prognosis of osteosarcoma patients. *Tumor Biology*. 2015; 36: 2041-8.
227. Zeng T, Peng L, Chao C, Fu B, Wang G, Wang Y, Zhu X. miR-451 inhibits invasion and proliferation of bladder cancer by regulating EMT. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2014; 7: 7653.
228. Minna E, Romeo P, Dugo M, De Cecco L, Todoerti K, Pilotti S, Perrone F, Seregni E, Agnelli L, Neri A, Greco A, Borrello MG. miR-451a is underexpressed and targets AKT/mTOR pathway in papillary thyroid carcinoma. *Oncotarget*. 2016; 7: 12731.
229. Saji M, Ringel MD. The PI3K-Akt-mTOR pathway in initiation and progression of thyroid tumors. *Molecular and cellular endocrinology*. 2010; 321: 20-8.
230. Ringel MD, Hayre N, Saito J, Saunier B, Schuppert F, Burch H, Bernet V, Burman KD, Kohn LD, Saji M. Overexpression and overactivation of Akt in thyroid carcinoma. *Cancer research*. 2001; 61: 6105-11.
231. Wang Z, Zhang H, Zhang P, Li J, Shan Z, Teng W. Upregulation of miR-2861 and miR-451 expression in papillary thyroid carcinoma with lymph node metastasis. *Medical oncology*. 2013; 30: 577.
232. Varkonyi-Gasic E, Hellens RP. Quantitative stem-loop RT-PCR for detection of microRNAs. *RNAi and Plant Gene Function Analysis*. Springer. 2011: 145-57.
233. Muro-Cacho CA, Ku NNK. Tumors of the thyroid gland: histologic and cytologic features-part 1. *Cancer Control*. 2000; 7: 276-87.
234. Basolo F, Molinaro E, Agate L, Pinchera A, Pollina L, Chiappetta G, Monaco C, Santoro M, Fusco A, Miccoli P, Elisei R, Capezzone M, Pacini F. RET protein expression has no prognostic impact on the long-term outcome of papillary thyroid carcinoma. *European journal of endocrinology*. 2001; 145: 599-604.
235. Bongiovanni M, Crippa S, Baloch Z, Piana S, Spitale A, Pagni F, Mazzucchelli L, Di Bella C, Faquin W. Comparison of 5-tiered and 6-tiered diagnostic systems for the reporting of thyroid cytopathology: a multi-institutional study. *Cancer cytopathology*. 2012; 120: 117-25.

236. Tee YY, Lowe AJ, Brand CA, Judson RT. Fine-needle aspiration may miss a third of all malignancy in palpable thyroid nodules: a comprehensive literature review. *Annals of surgery*. 2007; 246: 714-20.
237. Mileva M, Stoilovska B, Jovanovska A, Ugrinska A, Petrushevska G, Kostadinova-Kunovska S, Miladinova D, Majstorov V. Thyroid cancer detection rate and associated risk factors in patients with thyroid nodules classified as Bethesda category III. *Radiology and oncology*. 2018.
238. Kuru B, Atmaca A, Kefeli M. Malignancy rate associated with Bethesda category III (AUS/FLUS) with and without repeat fine needle aspiration biopsy. *Diagnostic cytopathology*. 2016; 44: 394-8.
239. Ugurluoglu C, Dobur F, Karabagli P, Celik ZE. Fine needle aspiration biopsy of thyroid nodules: cytologic and histopathologic correlation of 1096 patients. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015; 8: 14800.
240. Turkyilmaz S, Ulusahin M, Celebi B, Cekic A, Mungan S, Kucuktulu U, Tasdelen A, Guner A, Cinel A. Thyroid nodules classified as atypia or follicular lesions of undetermined significance deserve further research: Analysis of 305 surgically confirmed nodules. *Cytopathology*. 2017; 28: 391-9.
241. Kuru B, Atmaca A, Tarim I, Kefeli M, Topgul K, Yoruker S, Elmali M, Danaci M. Risk factors associated with malignancy and with triage to surgery in thyroid nodules classified as Bethesda category III (AUS/FLUS). *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2016; 42: 87-93.
242. Kuru B, Kefeli M. Risk factors associated with malignancy and with triage to surgery in thyroid nodules classified as Bethesda category IV (FN/SFN). *Diagnostic cytopathology*. 2018; 46: 489-94.
243. Macias CA, Arumugam D, Arlow RL, Eng OS, Lu SE, Javidian P, Davidov T, Trooskin SZ. A risk model to determine surgical treatment in patients with thyroid nodules with indeterminate cytology. *Annals of surgical oncology*. 2015; 22: 1527-32.
244. Wu HH, Rose C, Elsheikh TM. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: an experience of 1,382 cases in a community practice setting with the implication for risk of neoplasm and risk of malignancy. *Diagnostic cytopathology*. 2012; 40: 399-403.

245. Crippa S, Mazzucchelli L, Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for reporting thyroid fine-needle aspiration specimens. *American journal of clinical pathology*. 2010; 134: 343-5.
246. Nguyen XV, Roy Choudhury K, Tessler FN, Hoang JK. Effect of tumor size on risk of metastatic disease and survival for thyroid cancer: Implications for biopsy guidelines. *Thyroid*. 2018; 28: 295-300.
247. Kamran SC, Marqusee E, Kim MI, Frates MC, Ritner J, Peters H, Benson CB, Doubilet PM, Cibas ES, Barletta J, Cho N, Gawande A, Ruan D, Moore FD Jr, Pou K, Larsen PR, Alexander EK. Thyroid nodule size and prediction of cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013; 98: 564-70.
248. Cavallo A, Johnson DN, White MG, Siddiqui S, Antic T, Mathew M, Grogan RH, Angelos P, Kaplan E, Cipriani NA. Thyroid nodule size at ultrasound as a predictor of malignancy and final pathologic size. *Thyroid*. 2017; 27: 641-50.
249. Megwalu UC. Risk of malignancy in thyroid nodules 4 cm or larger. *Endocrinology and Metabolism*. 2017; 32: 77-82.
250. Al Dawish MA, Alwin Robert A, Thabet MA, Braham R. Thyroid Nodule Management: Thyroid-Stimulating Hormone, Ultrasound, and Cytological Classification System for Predicting Malignancy. *Cancer informatics*. 2018; 17.
251. Zafon C, Obiols G, Baena JA, Castellví J, Dalama B, Mesa J. Preoperative thyrotropin serum concentrations gradually increase from benign thyroid nodules to papillary thyroid microcarcinomas then to papillary thyroid cancers of larger size. *Journal of thyroid research*. 2012; 2012.
252. Mazeh H, Mizrahi I, Halle D, Ilyayev N, Stojadinovic A, Trink B, Mitrani-Rosenbaum S, Roistacher M, Ariel I, Eid A, Freund HR, Nissan A. Development of a microRNA-based molecular assay for the detection of papillary thyroid carcinoma in aspiration biopsy samples. *Thyroid*. 2011; 21: 111–118.
253. Labourier E. Utility and cost-effectiveness of molecular testing in thyroid nodules with indeterminate cytology. *Clinical endocrinology*. 2016; 85: 624-31.
254. Tang J, Kong D, Cui Q, Wang K, Zhang D, Yuan Q, Liao X, Gong Y, Wu G. Bioinformatic analysis and identification of potential prognostic microRNAs and mRNAs in thyroid cancer. *PeerJ*. 2018; 6.

255. Wang T, Xu H, Qi M, Yan S, Tian X. miRNA dysregulation and the risk of metastasis and invasion in papillary thyroid cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017; 9: 5473-5479.
256. Zhang Y, Xu D, Pan J, Yang Z, Chen M, Han J, Zhang S, Sun L, Qiao H. Dynamic monitoring of circulating microRNAs as a predictive biomarker for the diagnosis and recurrence of papillary thyroid carcinoma. *Oncol Lett*. 2017; 13: 4252-4266.
257. Wu C, Wang C, Guan X, Liu Y, Li D, Zhou X, Zhang Y, Chen X, Wang J, Zen K, Zhang CY, Zhang C. Diagnostic and prognostic implications of a serum miRNA panel in oesophageal squamous cell carcinoma. *PloS one*. 2014; 9.
258. Hu Z, Dong J, Wang LE, Ma H, Liu J, Zhao Y, Tang J, Chen X, Dai J, Wei Q, Zhang C, Shen H. Serum microRNA profiling and breast cancer risk: the use of miR-484/191 as endogenous controls. *Carcinogenesis*. 2012; 33: 828-34.
259. Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer research*. 2010.
260. Li Q, Zou C, Zou C, Han Z, Xiao H, Wei H, Wang W, Zhang L, Zhang X, Tang Q, Zhang C, Tao J, Wang X, Gao X. MicroRNA-25 functions as a potential tumor suppressor in colon cancer by targeting Smad7. *Cancer letters*. 2013; 335: 168-74.
261. Wu X, Zhou H, Yue B, Li M, Liu F, Qiu C, Chen B, Ma X. Upregulation of microRNA-25-3p inhibits proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells in vitro by directly targeting SOX4. *Mol Med Rep*. 2017; 16: 4293-4300.
262. Xu JY, Yang LL, Ma C, Huang YL, Zhu GX, Chen QL. MiR-25-3p attenuates the proliferation of tongue squamous cell carcinoma cell line Tca8113. *Asian Pac J Trop Med*. 2013; 6: 743-7.
263. Zhang M, Wu W, Gao M, Fei Z. MicroRNA-451 as a prognostic marker for diagnosis and lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma. *Cancer Biomarkers*. 2017: 1-9.
264. Febbo PG, Ladanyi M, Aldape KD, De Marzo AM, Hammond ME, Hayes DF, Iafrate AJ, Kelley RK, Marcucci G, Ogino S, Pao W, Sgroi DC, Birkeland ML. NCCN Task Force report: Evaluating the clinical utility of tumor markers in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2011; 9: 1-32.

EKLER

Ek 1. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 10/03/2017-E.15368



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 53043469-050.04.04
Konu : Kararlar

Sayın Yrd.Doç.Dr. Mustafa ÜNÜBOL
Öğretim Üyesi

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 09.03.2017 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 25 nolu karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize sunarım.

e-İmzalıdır

Prof.Dr. Mustafa Selim ÖZKÖK
Başkan

KARAR 25

Protokol No : 2017/1094
Sorumlu Yürütücü : Yrd.Doç.Dr. Mustafa ÜNÜBOL
İç Hastalıkları AD/Endok. ve Met.Hast.BD

Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Mustafa ÜNÜBOL'un "**Malign tiroid nodüllerini belirlemede dolaşımdaki Mikro RNA'lar duyarlı bir belirteç olabilir mi ?**" başlıklı klinik araştırmasının 23.02.2017 tarihli kurul kararında eksiklikler saptanmıştır. 08.03.2017 tarihli gelen dilekçesi ve ekleri dosya halinde görüldü.

Sonuçta klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerçekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde (ADÜBAP başvuru onay belgesinin dosyaya konulmak üzere gelmesi şartıyla) gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Yine sorumlu araştırmacıya; Form 2'nin 14.1.'in son bölümünde taahhüt edilen **çalışma bittikten sonra nihai raporun [Sonuç Raporu (web'te), BGOF (Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu-gönüllüler tarafından bizzat kendilerinin kendi adı-soyadını yazması ve imzalamasının sağlanması ile adreslerinin eksiksiz olarak formlara yazılmasına dikkat edilmelidir.) ve ORF (Olgu Rapor Formu/Anket)]gönderilmesi gerektiğinin hatırlatılmasına ve sorumlu yürütücülerinin bu hususa özen göstermesi gerektiğinin bir kez daha vurgulanmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.**

Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Kampüs Tıp Fakültesi Merkez Kampüs Kepez
Mevki 09010 Efeler/Aydın
Telefon No: 0256 225 31 66 / 4506 Faks No: 0256 212 31 69
E-Posta: goetik@adu.edu.tr İnternet Adresi:
http://www.akademik.adu.edu.tr/fakulte/med/

Bilgi İçin: Necla Yıldız

Unvan: Memur

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır