

Tiroit kanseri genetiği

Genetics of thyroid cancer

Şengül Tural*, Akın Tekcan, Mehmet Elbistan, Nurten Kara

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

MAKALE BİLGİLERİ

Makale geçmişi

Geliş tarihi : 23 / 03 / 2012

Kabul tarihi : 05 / 05 / 2012

* Yazışma Adresi:

Şengül Tural
Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Samsun, Türkiye
e-posta: stural@omu.edu.tr

Anahtar Kelimeler:

Gen mutasyonu
Kromozomal yeniden düzenlenmeler
Somatik mutasyon
Tiroit kanseri

Keywords:

Gene mutation
Chromosomal rearrangements
Somatic mutation
Thyroid carcinoma

ÖZET

Tiroit kanseri son yıllarda sıklığı giderek artış gösteren malignansilerden biridir. Moleküler mekanizmasının anlaşılmasındaki ilerlemeler, hastalığın önlenmesi, erken tanısı ve tedavisinde yarar sağlamaktadır. Somatik mutasyonlar ve diğer moleküler değişiklikler, tiroit kanseri tanısı için yararlı prognostik belirteçler olarak kabul edilmiş ve klinik uygulamaya da girmeye başlamıştır. Bu derlemede tiroit kanserinin genetik temeli anlatılmıştır. Tiroit kanserinde yaygın bulunan BRAF ve RAS gen mutasyonlarının yanı sıra RET/PTC ve PAX8/PPAR γ kromozomal yeniden düzenlenmeleri de açıklanmıştır. Ayrıca gen ekspresyon profili, microRNA, epigenetik, genom çaplı ilişki çalışmaları, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) analizleri ve tiroit karsinogenesinde ilişkili diğer genler açıklanmıştır.

J. Exp. Clin. Med., 2013; 30: S55-S62

ABSTRACT

Thyroid cancer is one of the malignancies whose incidence is increasing in the last decades. Advances in understanding the molecular mechanisms provide opportunity for prevention, effective early identification and targeted therapies for management. Somatic mutations and other molecular alterations have been recognized as helpful diagnostic and prognostic markers for thyroid cancer and are beginning to be introduced into clinical practice. In this review genetic basis of thyroid cancer was explained. Common mutations found in thyroid cancer are point mutation of the BRAF and RAS genes as well as RET/PTC and PAX8/PPAR γ chromosomal rearrangements were given. We also explained gene expression profiling, microRNA studies, as well as the results of emerging new data from genome-wide association, epigenetic studies, single-nucleotide polymorphism (SNP) analyses and other related genes.

J. Exp. Clin. Med., 2013; 30: S55-S62

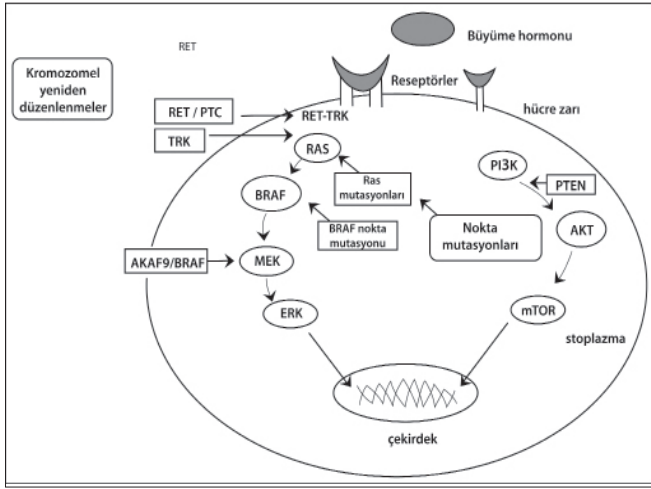
© 2013 OMU

1. Giriş

Tiroit kanseri endokrin organlarda en sık görülen kanser tipinden biri olup sıklığı giderek artmaktadır (Nikiforov ve ark., 2011; Hassel ve ark., 2012). Son yıllarda tiroit kanseri oluşumunda rol alan genetik değişimler hakkındaki bilgiler de hızla artış göstermektedir (Nikiforov ve Nikiforava, 2011). Elde edilen bu bilgiler tiroit kanseri etiyolojisinde yeni anlayışlar ve yeni teşhis yöntemleri sağlamaktadır.

Diğer kanser tiplerinde olduğu gibi, tiroit kanserinin başlangıcı ve ilerlemesi somatik mutasyonların aktif olması veya baskılanması, gen ekspresyonda değişimler, gen metilasyonundaki değişimler gibi çeşitli genetik ve epigenetik değişik-

liklerin kademeli birikimi ile oluşur. Bu değişimler arasında en çok veri, biriken somatik mutasyonlardan elde edilmiştir. Somatik mutasyonların birçoğu transformasyon (dönüşüm) sürecinin başında meydana gelir ve kanser gelişimi için çok önemlidir. Tiroit kanseri, nokta mutasyonu ya da kromozomal yeni düzenlenme gibi iki farklı moleküler mekanizmayla oluşabilen bir neoplazi tipidir. Nokta mutasyonları DNA dizisinde meydana gelen tek nükleotid değişimleridir (SNP), kromozomal yeni düzenlenmeler ise aynı ya da farklı kromozomlarda kırılmalar ve tekrar birleşmeler şeklinde oluşur. Önemli olarak, bu iki mutasyonel mekanizma tiroit karsinogenesinde rol alan spesifik etiyolojik faktörlerle ilişkilidir.



Şek. 1. RAS PI3K sinyal yolları ve tiroit kanseri oluşumunda onkogenik uyarıya neden olan mutasyonlar

Somatik mutasyonlar

Tiroit kanserindeki çoğu mutasyonlar MAPK ve PI3-AKT yolağını etkilemektedir (Şek. 1). MAPK aktivasyonu tümör başlaması için oldukça önemlidir. Tiroit kanseri tipleri ve mutasyon profilleri Tablo 1’de görülmektedir.

RET/PTC ve TRK yeniden düzenlenmeleri

RET protoonkogeni, Takahashi ve ark. tarafından 1985’de tanımlanmıştır. RET geni 10q11,2’de lokalize olup tek geçişli bir transmembran tirozin kinazı kodlar (Arighi ve ark., 2005). RET/PTC1 yeniden düzenlenmeleri ise 1987’de Fusco tarafından keşfedilmiş ve bu yeniden düzenlenme daha çok tiroit kanserinin papiller tipinde görülmüştür (Cassol ve Asa, 2010). Kimerik genler, RET proteininin tirozin kinaz bölgesini kodlayan RET geninin bir kısmı ile başka bir genin aktif promotörünün birleşmesi sonucu oluşur. Bu aktif promotör, kimerik RET/PTC proteininin ekspresyonu ve ligand bağımsız dimerizasyonunu sağlayarak, tiroit hücrelerinde MAPK sinyal yolağının kronik sitümlasyonuna ve tümörögenize yol açar (Powell ve ark., 1998). En sık gözlenen yeniden düzenlenme tipleri RET/PTC1 ve RET/PTC3’dür. Bunun yanısıra, RET ya CCDC6 (H4 olarak bilinir) ile ya da NCOA4 (ELE1 ya da RFG olarak bilinir) ile birleşir (Santoro ve ark., 1994). Bu yeniden düzenlenme tipleri parasentrik ve interkromozomal inversiyonlardır. Genelde bu yeniden düzenlenme tiplerinde RET geninin füzyona uğradığı genler 10. kromozom’un uzun kolunda bulunur (Minoletti ve ark., 1994). Bununla birlikte, RET/PTC2 ve RET/PTC yeniden

düzenlenmelerinin günümüzde keşfedilmiş dokuzdan fazla tipinde, farklı kromozomlarda lokalize olan genler ile RET geninin birleşmesiyle oluşan interkromozomal yeniden düzenlenmeler de bulunmaktadır (Corvi ve ark., 2000).

Papiller tiroit kanseri hastaları üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda, RET/PTC yeniden düzenlenmeleri farklı oranlarda bulunmuştur (Nikiforov, 2002). Bu farklılığın nedeni olarak; RET/PTC yeniden düzenlenmelerinin çeşitli yaş gruplarında farklı oranlarda bulunması ve hastaların iyonize radyasyona farklı oranda maruz kalmaları gösterilmektedir. RET/PTC yeniden düzenlenmeleri tiroit tümör hücrelerinin çoğunda görülür ve tümör’ün klonalitesine bağlı olarak çeşitli metodlarla incelenebilir. Klonal RET/PTC yeniden düzenlenmeleri papiller tiroit karsinomalarının % 10 ile 20’sinde görülür ve bu tümör tipi için spesifikdir (Zhu ve ark., 2006). Klonal olmayan RET/PTC yeniden düzenlenmelerinin ise papiller tiroit tümörlerinin yanında diğer tiroit tümörlerinde ve benign lezyonlarda da anlamlı derecede sık olduğu gözlenmiştir (Nikiforov, 2002). Örneğin, southern blot analizi ve RT-PCR kullanılarak yapılan çalışmalar, benign tiroit tümörlerinde RET/PTC yeniden düzenlenmelerinin olmadığını göstermiştir (Nikiforova ve ark., 2002). Fakat yüksek hassasiyetli inceleme metodları ile yapılan diğer analizler ile tiroit adenomalarının % 10-45’inde, benign nodüller ve neoplastik olmayan tiroit lezyonlarında RET/PTC’nin varlığı tanımlanmıştır (Guerra ve ark., 2011). Bu RET/PTC yeniden düzenlenmeleri klonal değildir ve tümör nodülü içerisinde az sayıda hücre grubunda ya da neoplastik olmayan hücrelerde görülür (Nikiforov ve Nikiforova, 2011).

NTRK1 yeniden düzenlenmeleri

Nörotrofik tirozin kinaz reseptör tip 1 (NTRK1) nöral büyüme faktörü bağlayan, periferik ve merkezi sinir sistemi gelişimi ve olgunlaşmasını düzenleyen nörotrofin reseptör ailesinin bir üyesidir. NTRK1 proteini, lenfosit, keratinosit ve prostat hücreleri gibi diğer hücre tiplerinin çoğalmasını uyarır. NTRK1 geninde meydana gelen yeniden düzenlenmeler ilk kez 1990 yılında tanımlanmıştır (Cassol ve Asa, 2010). Diğer reseptör tirozin kinaz genlerini ve NTRK1’i içeren kromozomal yeniden düzenlenmeler papiller tiroit karsinomalarında görülür, ancak RET/PTC yeniden düzenlenmelerinden daha az sıklıkla bulunur. NTRK1 geni 1q22’de bulunur ve 1. kromozom ya da farklı kromozomlarda lokalize olan en az üç farklı gen ile birleşir (Miranda ve ark., 1994). Bir grup tiroit kanserli hasta üzerinde yapılan çalışmada, NTRK1 genindeki yeniden düzenlenmelerin, papiller tiroit karsinomalarının %

Tablo 1. Tirpid kanseri tipleri ve mutasyonel profilleri (Nikiforov ve ark., 2001, Hassel ve ark., 2011)

Özellikler	Papiller karsinom	Foliküler karsinom	Az farklılaşmış karsinom	Farklılaşmamış karsinom	Medüller karsinom
Hücre tipi	Foliküler	Foliküler	Foliküler	Foliküler	C hücre
Görülme sıklığı (%)	80-85	10-15	<2	1-2	3-5
Aileselliği (%)	5	5	0	0	15-30
Yayımlı	Bölgesel lenf nodu metastazı	Hematojen metastaz, kemik ve akciğer	İnvaziv bölgesel büyüme, lenf nodu ve hematojen metastaz	İnvaziv bölgesel büyüme, lenf nodu ve hematojen metastaz	Lenf nodu ve hematojen metastaz
10-yıllık sağkalım (%)	95-98	90-95	~50	<10	60-80
Yaygın mutasyonlar ve görülme sıklığı (%)	BRAF 40-50 RAS 10-20 RET/PTC 10-20 TRK <5 APC <2	RAS 40-50 PAX8/PPAR γ 30-35 PIK3CA <10 PTEN <10 GRIM19 <5	RAS 20-40 TP53 20-30 BRAF 10-20 CNNB1* 10-20 PIK3CA 5-10 AKT1 5-10	TP53 50-80 CNNB1* 5-60 RAS 20-40 BRAF 20-40 PIK3CA 10-20 PIK3CA 5-15 AKT1 5-10	Ailesel formunda: RET >95 Sporadik formda: RET 40-50 RAS 25

10-15'inden fazlasında görüldüğü rapor edilmiştir (Musholt ve ark., 2000). NTRK1 geninin yeniden düzenlenmiş formunun aktarıldığı transgenik fare çalışmalarında, tiroit hiperplazisi ve papiller karsinoma geliştiği gözlenmiştir (Cassol ve Asa, 2010). Bunun yanında, papiller karsinomalarda NTRK1 yeniden düzenlenmelerinin çeşitli bölgelerde sıklığının % 2-5'den az olduğu saptanmıştır (Nikiforov ve Nikiforova, 2011).

RAS mutasyonları

RAS proteinleri, MAPK ve PIK3 yolları ile birlikte hücre büyümesini düzenleyen GTP bağlayan büyük protein ailesinin bir üyesidir. HRAS (11p11'de lokalize), KRAS (12p12'de lokalize), NRAS (1p13'de lokalize) olmak üzere RAS ailesinin üç üyesinde de tiroit kanserlerinde mutasyonlar olduğu görülmüştür (Cassol ve Asa, 2010). İnsan HRAS, KRAS ve NRAS proteinleri hücre membranının iç yüzeyinde bulunan G proteinleriyle, G proteinlerine bağlanan reseptörlerle ve diğer sinyal yollarıyla sıkı bir ilişki içerisinde. RAS genlerinin 12., 13. ve 61. kodonunu etkileyen nokta mutasyonları tipiktir. Tiroit kanserinde, NRAS ve HRAS genlerinin 61. kodonundaki mutasyonlar en yaygın olanlardır. RAS mutasyonları, papiller karsinomaların % 10-20'sinde, folliküler karsinomaların % 40-50'sinde, az farklılaşmış ve anaplastik karsinomaların % 20-40'ında bulunur (Esapa ve ark., 1999).

RAS mutasyonları neoplastik follikül oluşumu olan tümörlerde, papiller yapıda olmayan tümörlerde ve daha çok papiller karsinomaların folliküler varyantlarında tanımlanır (Zhu ve ark., 2003). Ayrıca, RAS mutasyonları benign folliküler adenomaların % 20-40'ında bulunur (Esapa ve ark., 1999).

Folliküler karakterde karsinomalarda olduğu gibi benign adenomalarda da bu mutasyonların bulunması; RAS pozitif folliküler adenomaların, RAS pozitif folliküler karsinomalar ve papiller karsinomaların bir öncüsü olabileceğine dair kanıt oluşturmaktadır. Bununla birlikte, RAS mutasyonları iyi farklılaşmış kanserlerin de-differansiyasyonuna ve anaplastik transformasyonuna zemin hazırlayabilirler (Fagin, 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalar; iyi farklılaşmış tiroit karsinomalarında RAS mutasyonlarının seviyesinin az olduğunu, az farklılaşmış ve anaplastik kanserlerde bu oranın yüksek olduğunu ve tümör başlangıcındansa tümör gelişiminde RAS'ın rolü olduğunu kanıtlamışlardır (Volante ve ark., 2009). Bu durum, RAS mutasyonları biriken tümör hücrelerinin yaşam süresinin ve invazyon yeteneğinin arttığını gösteren çalışmalarla desteklenmiştir (Cassol ve Asa, 2010).

BRAF mutasyonları

BRAF, serin/treonin kinazı kodlayan, 7q24 bölgesinde lokalize RAF kinaz ailesine ait bir onkogendir. BRAF; hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozisini düzenleyen RAS/RAF/MEK/ERK yollarında sinyallerin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. İnsanlarda, A-RAF, BRAF ve C-RAF olmak üzere fonksiyonel üç RAF proteini tanımlanmıştır. BRAF bazal kinaz aktivitesi en yüksek olan ve MAPK yolunun en önemli aktivatörüdür (Ciampi ve ark., 2005). BRAF mutasyonları; Davies ve ark.'nın 2002'de melanomalarda, kolorektal ve over karsinomalarında BRAF mutasyonlarının aktivitelerini göstermesinden beri insan karsinogenezisi ile ilişkilendirilmektedir. Bu gende tanımlanan tüm mutasyonlar

ya aktif lop yapısı ya da ATP bağlanma sitesi bulduran ve BRAF'ın yapısal aktivasyonuna neden olan proteinin kinaz bölgesi içerisinde meydana gelmiştir (Cassol ve Asa, 2010).

BRAF, MAP kinaz sinyal yolağında görevli MAP kinaz'ın aktivasyonu ve fosforilasyonu sonucunda RAS tarafından aktive edildikten ve bağlandıktan sonra hücre membranına bağlanan bir serin treonin kinazdır. Tiroit kanserinde BRAF nokta mutasyonları, küçük okuma çerçevesini değiştiren delesyonlar, insersiyonlar ya da kromozomal yeniden düzenlenmeler tarafından aktive edilebilir. BRAF aktivasyonunun en yaygın nedeni ise; 1799 nükleotid pozisyonundaki timin yerine adenin gelmesi sonucu, 600. aminoasitte valin yerine glutamin (Val600Glu) gelmesine neden olan bir nokta mutasyonudur (Kimura ve ark., 2003). BRAF'daki Val600Glu mutasyonu, tiroit kanserlerinde saptanan tüm BRAF mutasyonlarının % 98-99'unu oluşturur. Tiroit kanserlerinde saptanan diğer değişimler ise; 601. aminoasit pozisyonunda Lizin yerine Glutaminin (Lys601Glu) gelmesine neden olan bir nokta mutasyonu, 600. kodon yakınındaki okuma çerçevesini değiştiren küçük insersiyonlar ya da delesyonlar (Hou ve ark., 2007) ve AKAP9/BRAF yeniden düzenlenmesidir. Bu yeniden düzenlenme BRAF'ın protein kinaz bölgesini kodlayan kısmı ve AKAP9 geni arasında bir birleşmeye neden olan 7. kromozomun q kolunun parasentrik inversiyonudur. Tüm nokta mutasyonları ve yeniden düzenlenmeler BRAF kinaz'ın aktivasyonu ve MAPK yolağının kesintisiz sitümlasyonuna neden olur (Nikiforov ve Nikiforova, 2011).

BRAF proteininde Val600Glu amino asit değişimi papiller tiroit kanserlerinde en sık bulunan genetik değişikliktir. Bu mutasyonun sıklığı papiller tiroit kanserlerinde % 40-45'dir (Xing, 2005). Ayrıca, bu mutasyon az farklılaşmış tiroit karsinomalarının % 20-40'ında ve anaplastik tiroit karsinomalarının % 30-40'ında görülür (Begum ve ark., 2004). BRAF genindeki Val600Glu değişiminin her iki tümör yapısında da görülmesi nedeniyle, bu mutasyonun tümör de-differansiyasyonuna yatkınlık oluşturan erken olaylardan biri olduğu ileri sürülmektedir. Papiller tiroit kanserinde, BRAF genindeki Val600Glu aminoasit değişimi klasik papiller ve uzun hücre histolojili tümörlerde tipik olarak bulunmasına rağmen folliküler hücrelerde nadirdir (Xing, 2005). Bunun aksine, BRAF geninde Lys601Glu aminoasit değişimine neden olan mutasyonlar, papiller karsinoma histolojili folliküler varyantlarda tipik olarak bulunur (Trovisco ve ark., 2004).

BRAF aktivasyonunu sağlayan potansiyel mekanizmalardan bir diğeri FISH çalışmalarıyla belirlenebilen kopya sayısı varyasyonlarıdır ve papiller tiroit karsinomalı hastaların % 3'ünde, folliküler adenomalı hastaların % 25'inde ve folliküler tiroit karsinomalı hastaların % 35'inde görülür. Klinik çalışmalar, BRAF'ın ekstrasitüroidal ekstsansiyon, lenf nodu metastazı, tümör safhasında artış, hastalık başlama yaşı, hastalığın tekrarlama ve mortalite arasındaki ilişkisini tanımlamıştır. Bu bilgi, BRAF mutasyonu olan tiroit karsinomalarında hastalığın kötü seyrinin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır (Cassol ve Asa, 2010).

PAX8/PPAR γ yeniden düzenlenmeler

PAX8/PPAR γ onkogeni dengeli bir translokasyon [t(2;3)(q13;p25)] sonucu oluşur. Bu translokasyon tiroit farklılaşması için gerekli olan bir transkripsiyon faktörü olan PAX8 ve steroid/tiroit çekirdek reseptör ailesinin bir üyesi olan peroksizom proliferasyonunun aktivasyonunda rol alan reseptör

tör gama (PPAR γ)'nın birleşimi sağlar. Bu yeniden düzenlenme ilk kez Bondeson ve ark. (1989) tarafından, folliküler adenomalı bir olguda saptanan kompleks bir translokasyon [t(2;3;6;15)] ile belirlenmiş ve daha sonra çeşitli çalışmalarla hem folliküler adenomalı hem de folliküler tiroit kansinomalılarında saptanmıştır (Cassol ve Asa, 2010). Ancak, PAX8/PPAR γ birleşimine neden olan bu translokasyon sonucunda etkilenen genlerin PAX8 ve PPAR γ olduğu ve birleşme sonucu yeni oluşan protein'in ekspresyonunu PAX8'in promotörünün yönettiği tanımlanmıştır (Cassol ve Asa, 2010).

Bu yeniden düzenlenme PAX8 geninin eşleşmiş bir transkripsiyon faktörünü kodlayan bir kısmı ile PPAR γ geni arasında bir birleşme nedeniyle oluşur. Bu birleşme kimerik PAX8/PPAR γ protein'inin fazla miktarda ifade edilmesi ile sonuçlanır (Kroll ve ark., 2000). Yine de, bu birleşme sonucunda oluşan değişimin mekanizması tamamen anlaşılamaştır. PAX8/PPAR γ yeniden düzenlenmesi, folliküler tiroit kansinomalılarında % 30-35 sıklıkla ilk görülen değişimdir. Bu yeniden düzenlenme çoğu çalışmada, bazı folliküler adenomalarda % 2-13 oranında ve papiller kansinomalılarında folliküler varyantlarının küçük bir kısmında % 1 ile 5 oranında bulunmuştur (French ve ark., 2003). Bunun yanında papiller kansinomalılarında folliküler varyantlarında bu yeniden düzenlenmenin yüksek sıklıkla bulunduğunu gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır. Folliküler tiroit kansinomalılarının gelişimi ile ilişkili pato-genetik yollarda açıkça rol aldığı görülen PAX8/PPAR γ yeniden düzenlenmeleri ve RAS nokta mutasyonları nadiren de olsa aynı tümörlerde bulunabilir (Nikiforov ve Nikiforova, 2011).

Tümör de-differansiyasyonunda rol alan mutasyonlar

BRAF ve RAS mutasyonları, tiroit kanseri gelişiminde ortaya çıkan erken olaylardan birisi olması nedeniyle hem iyi farklılaşmış tiroit kanserlerinde hem de az farklılaşmış ve anaplastik kansinomalarda sıklıkla bulunur. Anaplastik ve az farklılaşmış kansinomalılar; tümörün de-differansiyasyonunun başlaması için gerekli olan ve iyi farklılaşmış kanserlerde bulunmayan ilave genetik değişimlere de sıklıkla sahiptir. PI3K-AKT sinyal yollarının etkileycilerini kodlayan genlerdeki mutasyonların yanında, TP53 ve CTNNB1 genlerinde saptanan mutasyonlar tümör gelişimi sürecinin geç dönemlerinde ortaya çıkan genetik olaylardır. Hücre siklusu regülatörü p53'ü kodlayan TP53 genini etkileyen nokta mutasyonları, anaplastik kansinomalı olguların %50-80'inde bulunur (Ho ve ark., 1996; Nikiforov ve Nikiforova, 2011). TP53 genindeki mutasyonlar az farklılaşmış kansinomalarda az sıklıkta bulunurken, iyi farklılaşmış tiroit kanserlerinde çok daha düşüktür. Bu mutasyonlar, tüm kanserlerin %50'sinden sorumlu olan önemli bir tümör baskılayıcı genin fonksiyon kaybına neden olur. Anaplastik kansinomalarda sıklıkla mutasyona uğrayan gen, hücre adezyonunda ve Wnt sinyal yolağında görev alan β katenin'i kodlayan CTNNB1'dir. Genin 3. ekzonunda bulunan nokta mutasyonları anaplastik kansinomalılarında % 60'ından fazlasında bulunur ve bu mutasyonlar az farklılaşmış tiroit kansinomalılarında yaygın değildir (Nikiforov ve Nikiforova, 2011). Tiroit kanserinin de-differansiyasyonu, özellikle PI3K-AKT yolağının etkileycilerini kodlayan genlerdeki mutasyonlardaki birikim ile oluşur. PIK3CA'daki mutasyonlar anaplastik ve az farklılaşmış kansinomalılarında % 10-20'sinde, PTEN mutasyonları % 5-15'inde ve AKT1 mutasyonları % 5-10'unda bulunur (Garcia-Rostan ve ark., 2005).

Onkositik tümörlerde rol alan mutasyonlar

Onkositik tümörler çoğunlukla anormal morfoloji gösteren sayısız mitokondri'nin sitoplazmik birikimi ile karakterizedirler. Mitokondriyal değişimin sebebi ve bu değişimin neoplastik gelişim ile ilişkisi henüz tam anlamıyla anlaşılamaştır. Mitokondriyal abnormaliteler muhtemelen ya tümör başlangıcı ile ilişkilendirilen birincil değişiklikler ya da ikincil değişikliklerdir (Bonora ve ark., 2006).

NDUFA13 geninin mutasyonları onkositik tümörlerde tanımlanmıştır. Bu gen hücre ölümünü düzenleyen, apoptozu teşvik eden ve mitokondriyal solunum zincirinin 1. kompleksinin önemli bir bileşeni olarak görev yapan bir proteini kodlar. Bir çalışmada, NDUFA13'deki somatik yanlış anlamalı (missens) mutasyonların onkositik kansinomalılarında % 10-20'sinde ve papiller kansinomalılarında onkositik varyantlarında bulunduğu ifade edilmiştir. Bu mutasyonlar antiapoptotik tümör baskılayıcı genin fonksiyonunu bozabilir ve tümörögenезis oluşumunu destekleyebilir. Bunun yanında, kansinogenезiste NDUFA13 mutasyonlarının rolü henüz aydınlatılmamıştır (Nikiforov ve Nikiforova, 2011).

Onkositik kansinomalarda mitokondriyal DNA mutasyonları yüksek sıklıkta bulunur (Nikiforov ve Nikiforova, 2011). Delesyonlar, çerçeve kayması mutasyonları ve yanlış anlamalı (missens) nokta mutasyonlarının dahil olduğu bu mutasyonlar, mitokondriyal kompleks 1'in ve mitokondriyal disfonksiyona neden olabilen diğer mitokondriyal komplekslerinin proteinlerini kodlayan genleri etkiler (Bonora ve ark., 2006).

Diğer moleküler olaylar

Papiller tiroit ve diğer tiroit kansinom tiplerinde gen ekspresyon düzeyleri farklılıklar gösterebilmektedir (Giordano ve ark., 2005). Bu değişimler, bazen tiroit hormon sentezi gibi tiroidin belirli fonksiyonları yerine getirmesi için genlerin downregülasyonu ile ya da hücre adezyon, motilite ve hücre-hücre etkileşiminde etkili olan genlerin upregülasyonu ile olmaktadır. Farklı çalışmalarda, MET, TPO, TIMP1, DPP4, LGALS3 ve KRT19 genlerinin mRNA seviyesinde bozulmalar bildirilmiştir (Giordano ve ark., 2005; Prasad ve ark., 2008).

Patogenezindeki rolünün anlaşılabilmesi açısından normal ve kanserli dokularda birçok genin ifadesi gen ekspresyon belirleme yöntemiyle karşılaştırılabilir (Cassol ve Asa, 2010). Papiller kansinomalılar arasında farklı mRNA ekspresyon düzeyleri tespit edilmiş (Giordano ve ark., 2005) ve BRAF, RAS, RET/PTC ve TRK mutasyonları ile belirli gen ekspresyon şekilleri arasında anlamlı ilişkiler gözlenmiştir. Bu bilgi, farklı fenotipik ve biyolojik özelliklerin mutasyon tipi ile ilişkili olduğunu desteklemiştir (Giordano ve ark., 2005). BRAF mutasyonu ile oluşmuş daha invaziv ve farklılaşmış tümörler hücre adezyon ve hücreler arası bağlantı sağlayan proteinlerin ekspresyon düzensizliklerinin oluşturduğu tümörlerle benzer görünümündedir (Knauf ve ark., 2011). Bu benzerlik BRAF geninin hücre motilitesi ve invazyonunu arttırdığı ve epitelyal mezenkimal geçişte önemli bir anahtar role sahip olduğunu göstermektedir.

Tiroit kanserinde gen ekspresyonu regülasyonunun bozulmasından sorumlu birçok miRNA saptanmıştır (Chen ve ark., 2008; Nikiforova ve ark., 2009). miRNA'lar, 18-24 nükleotid uzunluğunda gen ekspresyonunun posttranskripsiyonel evresinde negatif regülatör olarak davranan kodlanmayan tek zincirli RNA molekülleridir (Cassol ve Asa, 2010). Genel

olarak, tiroit kanserinin papiller, foliküler gibi farklı tümör tiplerinde miRNA ekspresyon düzeyleri farklılık göstermektedir (Nikiforova ve ark., 2008). Bazı miRNA tipleri (miR 146b, miR 221 ve miR 222 gibi) tiroit tümörlerinde oldukça artış göstermekte ve bu nedenle tümörlerin patolojik gelişiminde rollerinin olduğu düşünülmektedir (Nikiforova ve ark., 2009). Bu miRNA'ların olası hedef genleri hücre döngüsünde rol alan p27(Kip1) geni ve tiroit hormon reseptörü (THR β) genidir. (Visone ve ark., 2007; Jazdzewski ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda, foliküler karsinom tipinde miR 197, miR 346, miR 155 ve miR 224'lerin, anaplastik karsinom tipinde ise miR 30d, miR 125b, miR 26a ve miR 30a-5p'ler gibi bazı miRNA'ların anormal ekspresyonu gözlenmiştir.

Tiroit kanserine epigenetik açıdan bakıldığında, genin promotör bölgesinin anormal metilasyonu ya da histon modifikasyonları nedeniyle ekspresyonda meydana gelen değişimler de tiroit kanserine neden olabilmektedir. Bu epigenetik olaylar, tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonunu değiştirebilir ve PI3K-AKT ve MAPK gibi önemli sinyal yollarının aktivasyonunu sağlayabilir. Epigenetik düzenlenmedeki değişimler, tümör gelişimi ve farklılaşması sırasında tiroide özgü (spesifik) genlerin downregulasyonuna neden olabilir (Zuo ve ark., 2010; Russo ve ark., 2011). TIMP3 (metalloproteinaz inhibitör) geninin ve diğer tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu, BRAF geni Val600Glu mutasyonu ile oluşan tiroit kanserinde oldukça sık görülmektedir. Bu bulgu, mutasyonu taşıyan tümörlerin, biyolojik olarak agresif olmalarının nedeni olabilir (Hu ve ark., 2006).

Genom çaplı araştırmalar (gwas) ve tek nükleotid polimorfizmleri (snp'ler)

Avrupa da yapılan bir genom çaplı araştırma tiroit kanserinde yüksek riskle ilişkili iki yaygın varyantın 9q22,33 ve 14q13,3'te lokalize olduğu gösterilmiştir. İlginç olarak, 9q22,33 bölgesine en yakın genin FOXE1 (TTF2) olduğu ve 14q13,3 bölgesinde yer alan genler arasında NKX2-1(TTF1) geninin yer aldığı bilinmektedir (Gudmundsson ve ark., 2009). Tiroit kanseri riski ile ilişkili birçok tek nükleotid polimorfizmi de tanımlanmıştır. Bunlar arasında kromozom 1p12'de lokalize genlerin yanı sıra, vitamin D reseptörü (VDR), DNA tamir genleri (XRCC1 ve ADPRT), sinyal ileti faktörleri (WDR3, SPAG1, GDAP2), purinerjik reseptör P2X7R, kodlamayan RNA (AKO23948) ve mikro RNA (Premir-146a) genleridir. G proteini β 3 alt ünitesinin üretiminden sorumlu olan GNB3 genindeki C825T polimorfizminin tiroit onkositik tümörlü hastalarda daha fazla oranda görüldüğü bildirilmiştir.

Mutasyonel mekanizmalar

İyonize radyasyon ve kromozomal yeniden düzenlenmeler tiroit kanserinin bilinen risk faktörlerindedir. Çernobil kazasından sonra radyasyona maruz kalma nedeniyle RET/PTC3 düzenlenmesinde artış görülmüş ve yeni bir RET/PTC düzenlenmesi ortaya çıkmıştır (Nikiforova ve ark., 2008). Çernobil kazası sonrası özellikle tiroit kanserine yakalanan çocuklarda RET/PTC ve BRAF/AKAP9 düzenlenmesi dikkati çekmiştir (Ciampi ve ark., 2005). Yine Japonya da atom bombası sonrası sağ kalan bireylerde tiroit bezi tarafından alınan dozlar yüksek hassasiyetle hesaplanmış ve RET/PTC yeniden düzenlenmesinin yüksek frekansta olduğu saptanırken, BRAF nokta mutasyonu sıklığının ise radyasyon dozu

ile ters bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Hamatani ve ark., 2008). Bunun tersi olarak, yapılan çalışmalarda BRAF ve RAS nokta mutasyonları radyasyonla ilişkili tümörlerde daha az görülürken genel populasyonda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (Nikiforova ve ark., 2004). Radyasyona maruz kalmada RET/PTC yeniden düzenlenmesi ayrıca tiroit hücre kültürü çalışmaları ile de deneysel olarak aydınlatılmıştır (Caudill ve ark., 2005). İyonize radyasyon ve RET/PTC yeni düzenlenmesinin yanısıra kromozomal kırıklar da tiroit kanserine neden olmaktadır. 10q11,2 ve 10q21 kromozomal bölgelerinde RET ve CCDC6 genleri yer almaktadır. Bu bölgeler RET/PTC yeni düzenlenmesi ile ortak olarak FRA10G ve FRA10C kırılmalı bölgelerini içerirler (Büttel ve ark., 2004).

Nokta mutasyonları, kromozom yeni düzenlenmelerinin aksine, tiroit kanserinde yaygın olmakla birlikte radyasyona maruz kalma ile de ilişkili değildir. Bir çalışmada, içme suyu bor, demir, vanadyum, manganez ve diğer kimyasalların yüksek oranda tespit edildiği volkanik bir bölge olan Sicilyada, BRAF pozitif papiller tiroit karsinomlarının oranının yüksek olduğu görülmüştür (Pellegriti ve ark., 2009). Buna karşın dünyada tiroit kanseri riskinin en yüksek olduğu Havai'de (ki bu bölge bazıları halen aktif olan birçok volkanığe sahiptir) BRAF nedenli tiroit kanseri varlığı bildirilmemiştir.

Özetle, mevcut veriler göstermektedir ki farklı mutasyonel mekanizmalar tiroit karsinogenezinde rol alan çevresel faktörlere bağlı olarak meydana gelmektedir (Nikiforov ve ark., 2011).

Moleküler belirteçlerin klinik yararları Mutasyonel belirteçler

Moleküler belirteçler (tek gen ya da mutasyon paneli gibi) tiroit nodülü olan hastalarda kanser tanısı araştırılmasında büyük umut sağlamaktadır. Tek genler arasında, çalışmaların büyük çoğunluğu BRAF mutasyonlarına odaklanmıştır. 22 çalışmayı kapsayan bir meta analizde tiroit karsinomlarında BRAF geni Val600Glu değişiminin oldukça yüksek oranda saptandığı bildirilmiştir (Nikiforova ve Nikiforov, 2009; Nam ve ark., 2010; Kim ve ark., 2011). BRAF geninin yanı sıra tiroit biyopsisi örneklerinin analizi için, BRAF ve RAS nokta mutasyonları ile RET/PTC ve PAX8/PPAR γ düzenlenmeleri içeren bir panel kullanımı araştırmalarda önerilmektedir (Nikiforova ve Nikiforov, 2009; Cantara ve ark., 2010; Moses ve ark., 2010; Ohori ve ark., 2010). Klinik açıdan bu panelin kullanımı değerlendirilmiş ve yapılan çalışmalar sitolojik tanı ne olursa olsun mutasyon saptanması durumunun tiroit nodülü malignitesinde güçlü bir belirleyici olduğunu göstermiştir (Nikiforova ve Nikiforov, 2009; Cantara ve ark., 2010; Ohori, ve ark., 2010). RAS mutasyonları kanser için % 74-87 pozitif prediktif değere sahipken, bu çalışmalarda, BRAF, RET/PTC veya PAX8/PPAR γ varlığı malign olguların % 100'ünde sonuç ile ilişkilidir (Nikiforov ve ark., 2011).

Diğer belirteçler

Gen mutasyonlarına ek olarak, mRNA ve miRNA belirteçleri de tiroit biyopsi örneklerinin değerlendirilmesinde tanı amaçlı kullanılabilir. HMGA2 geninin malign tiroit tümörlerinde yüksek düzeyde fonksiyonel olması bazı çalışmalarda görülmüş ve tanıda kullanılabileceği öne sürülmüştür (Chiappetta ve ark., 2008; Lappinga ve ark., 2010; Mathur ve ark., 2010). Bazı çalışmalarda da MET, TPO, TIMP1, DPP4 ve diğer genlerin ekspresyonunda değişimler bildirilmiş ve tanı

için kullanımı araştırılmıştır (Prasad ve ark., 2008). Ayrıca, miR 221, miR 222 ve miR 146b gibi bazı miRNA'ların da tiroit kansinomlarında fazla ekspresyona olduğu tanı için kullanıma potansiyel aday olabileceği ve (Chen ve ark., 2008; Mazeh ve ark., 2011) tanıda, 7 miRNA içeren (miR 187, miR 221, miR 222, miR 146b, miR 224, miR 155 ve miR 197) panelinin kullanılabileceği önerilmiştir (Nikiforova ve ark., 2009). Fakat miRNA'ların klinik tanıda kullanımının doğrulanması için daha fazla çalışma yapılması gereklidir.

KAYNAKLAR

- Arighi, E., Borello, M.G., Sariola, H., 2005. RET tyrosine kinase signalling in development and cancer. *Cytokine Growth F.R.* 16, 441-467.
- Begum, S., Rosenbaum, E., Henrique, R., Cohen, Y., Sidransky, D., Westra, W. H., 2004. BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: Implications for tumor origin, diagnosis and treatment. *Modern. Pathol.* 17, 1359-1363.
- Bondeson, L., Bengtsson, A., Bondeson, A. G., Dahlenfors, R., Grimelius, L., Wedell, B., Mark, J., 1989. Chromosome studies in thyroid neoplasia. *Cancer.* 64, 680-685.
- Bonora, E., Evangelisti, C., Bonichon, F., Tallini, G., Romeo, G., 2006. Novel germline variants identified in the inner mitochondrial membrane transporter TIMM44 and their role in predisposition to oncogenic thyroid carcinomas. *Brit. J. Cancer.* 95, 1529-1536.
- Büttel, I., Fechter, A. & Schwab, M., 2004. Common fragile sites and cancer: targeted cloning by insertional mutagenesis. *Ann. NY Acad. Sci.* 1028, 14-27.
- Cantara, S., Capezzone, M., Marchisotta, S., Capuano, S., Busonero, G., Toti, Paolo., Di Santo, A., Caruso, G., Carli, A.F., Brilli, L., Montanaro, A., Pacini, F., 2010. Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves the diagnostic accuracy of cytology. *J. Clin. Endocr. Metab.* 95, 1365-1369.
- Cassol, C.A., Asa, S.L., 2010. Molecular pathology of thyroid cancer. *Diagnostic histopathology.* 17, 124-139.
- Caudill, C.M., Zhu, Z., Ciampi, R., Stringer, J.R. & Nikiforov, Y. E., 2005. Dose-dependent generation of RET/PTC in human thyroid cells after in vitro exposure to gamma-radiation: A model of carcinogenic chromosomal rearrangement induced by ionizing radiation. *J. Clin. Endocr. Metab.* 90, 2364-2369.
- Chen, Y.T., Kitabayashi, N., Zhou, X.K., Fahey, T.J. 3rd & Scognamiglio, T., 2008. MicroRNA analysis as a potential diagnostic tool for papillary thyroid carcinoma. *Modern. Pathol.* 21, 1139-1146.
- Chiappetta, G., Ferraro, A., Vuttariello, E., Monaco, M., Galdiero, F., De Simone, V., Califano, D., Pallante, P., Botti, G., Pezzullo, L., Pierantoni, G.M., Santoro, M., Fusco, A., 2008. HMGA2 mRNA expression correlates with the malignant phenotype in human thyroid neoplasias. *Eur. J. Cancer.* 44, 1015-1021.
- Ciampi, R., Knauf, J.A., Kerler, R., Gandhi, M., Zhu, Z., Nikiforova, M.N., Rabes, H.M., Fagin, J.A., Nikiforov, Y.E., 2005. Oncogenic AKAP9-BRAF fusion is a novel mechanism of MAPK pathway activation in thyroid cancer. *J. Clin. Invest.* 115, 94-101.
- Ciampi, R., Nikiforov, Y.E., 2005. Alterations of the BRAF gene in thyroid tumors. *Endocr. Pathol.* 16, 163-72.
- Corvi, R., Berger, N., Balczon, R., Romeo, G., 2000. RET/PCM-1: A novel fusion gene in papillary thyroid carcinoma. *Oncogene.* 19, 4236-4242
- Davies, H., Bignell, G.R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., Teague, J., Woffendin, H., Garnett, M.J., Bottomley, W., Davis, N. et al. 2002. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 417, 949-954.
- Esapa, C.T., Johnson, S.J., Kendall-Taylor, P., Lennard, T.W., Harris, P.E., 1999. Prevalence of Ras mutations in thyroid neoplasia. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 50, 529-535.
- Fagin, J.A., 2002. Mini-review: Branded from the start-distinct oncogenic initiating events may determine tumor fate in the thyroid. *Mol. Endocrinol.* 16, 903-911.
- French, C.A., Alexander, E.K., Cibas, E.S., Nose, V., Laguette, J., Faquin, W., Garber, J., Moore, F. Jr., Fletcher, J.A., Larsen, P.R., Kroll, T.G., 2003. Genetic and biological subgroups of low-stage follicular thyroid cancer. *Am. J. Pathol.* 162, 1053-1060.
- Garcia-Rostan, G., Costa, A.M., Pereira-Castro, I., Salvatore, G., Hernandez, R., Hermsem, M.J., Herrero, A., Fusco, A., Cameselle-Teijeiro, J., Santoro, M., 2005. Mutation of the PIK3CA gene in anaplastic thyroid cancer. *Cancer. Res.* 65, 10199-10207.
- Giordano, T.J., Quick, R., Thomas, D.D., Miskin, D.E., Vinco, M., Sanders, D., Zhu, Z., Ciampi, R., Roh, M., Shedden, K., Gauger, P., Doherty, G., Thompson, N.W., Hanash, S., Koenig, R.J., Nikiforov, Y.E., 2005. Molecular classification of papillary thyroid carcinoma: distinct BRAF, RAS, and RET/PTC mutation-specific gene expression profiles discovered by DNA microarray analysis. *Oncogene.* 24, 6646-6656.
- Gudmundsson, J., Sulem, P., Gudbjartsson, D.F., Jonasson, J.G., Sigurdsson, A., Bergthorsson, J.T., He, H., Blondal, T., Geller, F., Jakobsdottir, M., Magnusdottir, D.N., Matthiasdottir, S., Stacey, S.N., Skarphedinsson, O.B., Helgadóttir, H., Li, W., Nagy, R., Aguillo, E., Faure, E., Prats, E., Saez, B., Martinez, M., Eyjolfsson, G.I., Bjornsdottir, U.S., Holm, H., Kristjansson, K., Frigge, M.L., Kristvinsson, H., Gulcher, J.R., Jonsson, T., Rafnar, T., Hjartarson, H., Mayordomo, J.I., de la Chapelle, A., Hrafnkelsson, J., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Stefansson, K., 2009. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. *Nat Genet.* 41, 460-464.
- Guerra, A., Sapio, M. R., Marotta, V., Campanile, E., Moretti, M. I., Deandrea, M., Motta, M., Limone, P.P., Fenzi, G., Rossi, G., Vitale, M., 2011. Prevalence of RET/PTC rearrangement in benign and malignant thyroid nodules and its clinical application. *Endocr. J.* 58, 31-38.
- Hamatani, K., Eguchi, H., Ito, R., Mukai, M., Takahashi, K., Taga, M., Imai, K., Cologne, J., Soda, M., Arihiro, K., Fujihara, M., Abe, K., Hayashi, T., Nakashima, M., Sekine, I., Yasui, W., Hayashi, Y., Nakachi, K. 2008. RET/PTC rearrangements preferentially occurred in papillary thyroid cancer among atomic bomb survivors exposed to high radiation dose. *Cancer. Res.* 68, 7176-7182.
- Hassell, L.A., Gillies, E.M., Dunn, S.T., 2012. Cytologic and molecular diagnosis of thyroid cancers. *Cancer. Cytopathol.* 120, 7-17.
- Ho, Y.S., Wang, Y.J., Lin, J.K. 1996. Induction of p53 and p21/WAF1/CIP1 expression by nitric oxide and their association with apoptosis in human cancer cells. *Mol. Carcinog.* 16, 20-31.
- Hou, P., Liu, D., Xing, M., 2007. Functional characterization of the T1799-1801del and A1799-816ins BRAF mutations in papillary thyroid cancer. *Cell Cycle.* 6, 377-379.
- Hu, S., Liu, D., Tufano, P.R., Carson, A.K., Rosenbaum, E., Cohen, Y., Holt, E.H., Kiseljak-Vassiliades, K., Rhoden, K.J., Tolaney, S., Condouris, S., Tallini, G., Westra, W.H., Umbricht, C.B., Zeiger, M.A., Califano, J.A., Vasko, V., Xing, M., 2006. Association of aberrant methylation

2. Sonuç

Moleküler genetik alanındaki bilgi birikimi, tiroit nodülü kanserlerinin erken tanısı, kanser prognozunun tahmini ve tedavi seçimini geliştirmek ve tiroit kanserinin moleküler tedavisi açısından kliniğe yarar sağlamaktadır. Devam eden çalışmalarla tiroit kanserinin moleküler temeli daha da aydınlanacak ve gelecekte daha ileri tanı ve tedavi stratejilerine imkan sağlayacaktır.

- ylation of tumor suppressor genes with tumor aggressiveness and BRAF mutation in papillary thyroid cancer. *Int. J. Cancer* 119, 2322-2329.
- Ito, T., Seyama, T., Mizuno, T., Tsuyama, N., Hayashi, T., Hayashi, Y., Dohi, K., Nakamura, N., Akiyama, M., 1992. Unique association of p53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer. Res.* 52, 1369-1371.
- Jazdzewski, K., Boguslawska, J., Jendrzewski, J., Liyanarachchi, S., Pachucki, J., Wardyn, K.A., Nauman, A., de la Chapelle, A., 2011. Thyroid hormone receptor beta (THRB) is a major target gene for microRNAs deregulated in papillary thyroid carcinoma (PTC). *J. Clin. Endocr. Metab.* 96, 546-553.
- Kim, S.K., Hwang, S.T., Yoo, B.Y., Han, S.H., Kim, L.D., Song, K.H., Lim, S.D., Kim, W.S., Paik, N.S., 2011. Surgical results of thyroid nodules according to a management guideline based on the BRAF(V600E) mutation status. *J. Clin. Endocr. Metab.* 96, 658-664.
- Kimura, E.T., Nikiforova, M.N., Zhu, Z., Knauf, J.A., Nikiforov, Y.E., Fagin, J.A., 2003. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: Genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signalling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer. Res.* 63, 1454-1457.
- Knauf, J.A., Sartor, M.A., Medvedovic, M., Lundsmith, E., Ryder, M., Salzano, M., Nikiforov, Y.E., Giordano, T. J., Ghossein, R. A., Fagin, J. A., 2011. Progression of BRAF-induced thyroid cancer is associated with epithelial-mesenchymal transition requiring concomitant MAP kinase and TGFbeta signaling. *Oncogene.* 30, 3153-3162.
- Kroll, T.G., Sarraf, P., Pecciarini, L., Chen, C.J., Mueller, E., Spiegelman, B.M., Fletcher, J.A., 2000. PAX8-PPAR gamma1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma (corrected). *Science.* 289, 1357-1360.
- Lappinga, P.J., Kip N.S., Jin, L., Lloyd, R.V., Henry, M.R., Zhang, J., Nassar, A., 2010. HMGA2 gene expression analysis performed on cytologic smears to distinguish benign from malignant thyroid nodules. *Cancer. Cytopathol.* 118, 287-297.
- Mathur, A., Weng, J.W., Moses, Steinberg, S.M., Rahbari, R., Kitano, M., Khanafshar, E., Ljung, B.M., Duh, Q.Y., Clark, O.H., Kebebew, E., 2010. A prospective study evaluating the accuracy of using combined clinical factors and candidate diagnostic markers to refine the accuracy of thyroid fine needle aspiration biopsy. *Surgery.* 148, 1170-1176.
- Mazeh, H., Mizrahi, I., Halle, D., Ilyayev, N., Stojadinovic, A., Trink, B., Mitrani-Rosenbaum, S., Roistacher, M., Ariel, I., Eid, A., Freund, H. R., Nissan, A., 2011. Development of a microRNA-based molecular assay for the detection of papillary thyroid carcinoma in aspiration biopsy samples. *Thyroid.* 21, 111-118.
- Minoletti, F., Butti, M. G., Coronelli, S., Miozzo, M., Sozzi, G., Pilotti, S., Tunnaccliff, A., Pierotti, M.A., Bongarzone, I., 1994. The two genes generating RET/PTC3 are localized in chromosomal band 10q11.2. *Gene Chromosome. Canc.* 11, 51-57.
- Miranda, C., Minoletti, F., Greco, A., Sozzi, G., Pierotti, M.A., 1994. Refined localization of the human TPR gene to chromosome 1q25 by in situ hybridization. *Genomics.* 23, 714-715.
- Moses, W., Weng, J., Sansano, I., Peng M., Khanafshar, E., et al., 2010. Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy. *World J. Surg.* 34, 2589-2594.
- Musholt, T.J., Musholt, P.B., Khaladj, N., Schulz, D., Scheumann, G.F., Klempnauer, J., 2000. Prognostic significance of RET and NTRK1 rearrangements in sporadic papillary thyroid carcinoma. *Surgery.* 128, 984-993.
- Nam, S.Y., Han, B.K., Ko, E.Y., Kang, S.S., Hahn, S.Y., Hwang, J.Y., Nam, M.Y., Kim, J.W., Chung, J.H., Oh, Y.L., Shin, J.H., 2010. BRAF V600E mutation analysis of thyroid nodules needle aspirates in relation to their ultrasonographic classification: A potential guide for selection of samples for molecular analysis. *Thyroid.* 20, 273-279.
- Nikiforov, Y. E., 2002. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors. *Endocr. Pathol.* 13, 3-16.
- Nikiforova, M.N., Caudill, C.M., Biddinger, P., Nikiforov, Y.E., 2002. Prevalence of RET/PTC rearrangements in Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinomas. *Int. J. Surg. Pathol.* 10, 15-22.
- Nikiforova, M.N., Ciampi, R., Salvatore, G., Santoro, M., Gandhi, M., Knauf, J.A., Thomas, G.A., Jeremiah, S., Bogdanova, T.I., Tronko, M.D., Fagin, J.A., Nikiforov, Y.E., 2004. Low prevalence of BRAF mutations in radiation-induced thyroid tumors in contrast to sporadic papillary carcinomas. *Cancer. Lett.* 209, 1-6.
- Nikiforov, Y. E., Nikiforova, M. N. 2011. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat.Rev. Endocrinol.* 7, 569-580.
- Nikiforova, M.N., Tseng, G.C., Steward, D., Diorio, D. & Nikiforov, Y.E., 2008. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J. Clin. Endocr. Metab.* 93, 1600-1608.
- Nikiforova, M.N. & Nikiforov, Y. E., 2009. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid.* 19, 1351-1361.
- Nikiforova, M.N., Chiosea, S.I. & Nikiforov, Y.E., 2009. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocr. Pathol.* 20, 85-91.
- Ohori, N.P., Nikiforova, M.N., Schoedel, K.E., LeBeau, S.O., et al., 2010. Contribution of molecular testing to thyroid fine-needle aspiration cytology of "follicular lesion of undetermined significance/atypia of undetermined significance". *Cancer. Cytopathol.* 118, 17-23.
- Pellegriti, G., De Vathaire, F., Scollo, C., Attard, M., 2009. Papillary thyroid cancer incidence in the volcanic area of Sicily. *J. Natl. Cancer. Inst.* 101, 1575-1583.
- Powell, D.J.Jr., Russell, J., Nibu, K., Li, G., Rhee, E., Liao, M., Goldstein, M., Keane, W.M., Santoro, M., Fusco, A., Rothstein, J.L. 1998. The RET/PTC3 oncogene: Metastatic solid-type papillary carcinomas in murine thyroids. *Cancer. Res.* 58, 5523-5528.
- Prasad, N.B., Somervell, H., Tufano, R.P., Dackiw, A.P., Marohn, M.R., Califano, J.A., Wang, Y., Westra, W.H., Clark, D.P., Umbricht, C.B., Libutti, S.K., Zeiger, M.A. 2008. Identification of genes differentially expressed in benign versus malignant thyroid tumors. *Clin. Cancer. Res.* 14, 3327-3337.
- Russo, D., Damante, G., Puxeddu, E., Durante, C. & Filetti, S., 2011. Epigenetics of thyroid cancer and novel therapeutic targets. *J. Mol. Endocrinol.* 46, R73-R81.
- Santoro, M., Dathan, N.A., Berlingieri, M.T., Bongarzone, I., Paulin, C., Grieco, M., Pierotti, M.A., Vecchio, G., Fusco, A., 1994. Molecular characterization of RET/PTC3; a novel rearranged version of the RET proto-oncogene in a human thyroid papillary carcinoma. *Oncogene.* 9, 509-516.
- Takashi, M., Ritz, J., Cooper, G.M., 1985. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. *Cell.* 42, 581-588.
- Trovisco, V., Vieira de Castro, I., Soares, P., Máximo, V., Silva, P., Magalhães, J., Abrosimov, A., Guiu, X. M., Sobrinho-Simões, M. 2004. BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *J. Pathol.* 202, 247-251.
- Visone, R., Russo, L., Pallante, P., De Martino, I., Ferraro, A., Leone, V., Borbone, E., Petrocca, F., Alder, H., Croce, C.M., Fusco, A., 2007. MicroRNAs (miR)-221 and miR-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27Kip1 protein levels and cell cycle. *Endocr. Relat. Cancer.* 14, 791-798.
- Volante, M., Rapa, I., Gandhi, M., Bussolati, G., Giachino, D., Papotti, M., Nikiforov, Y.E., 2009. Ras mutations are the predominant molecular alteration in poorly differentiated thyroid carcinomas and bear prognostic impact. *J. Clin. Endocr. Metab.* 94, 4735-4741.

Xing, M., 2005. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr. Relat. Cancer*. 12, 245-262.

Zhu, Z., Crampi, R., Nikiforova, M.N., Gandhi, M., Nikiforov, Y.E., 2006. Prevalence of RET/PTC rearrangements in thyroid papillary carcinomas: effects of the detection methods and genetic heterogeneity. *J. Clin. Endocr. Metab.* 91, 3603-3610.

Zuo, H., Gandhi, J., Edreira, M.M., Hochbaum, D., Nimgaonkar, V.L., Zhang, P., Dipaola, J., Evdokimova, V., Altschuler, D.L., Nikiforov, Y.E., 2010. Downregulation of Rap1GAP through epigenetic silencing and loss of heterozygosity promotes invasion and progression of thyroid tumors. *Cancer Res.* 70, 1389-1397.