

34. BÖLÜM

TİROİD KANSERLERİNİN TANISAL VE PROGNOSTİK MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİ

Gizem ISSIN¹
İsmail YILMAZ²

GİRİŞ

Bir kanserin gelişiminde rol oynayan moleküller ve biyolojik özelliklerin tanımlanması, tümörün gelişim basamaklarını anlamamıza yardımcı olmanın yanında; tümör tanısı, alt tiplerin tespiti, prognozun belirlenmesi ve tedavi yaklaşımının seçimi açısından da yol göstericidir. Son yıllarda Kanser Genom Atlas Projesi (The Cancer Genome Atlas-TCGA) ve moleküler biyoloji tekniklerindeki gelişmeler vasıtasıyla tiroid kanserinin gelişiminde rol oynayan moleküler biyolojik özellikler büyük oranda tanımlanmış ve tümör için tanısal ve prognostik öneme sahip moleküler değişiklikler belirlenmiştir (şekil-1). Günümüzde tiroid lezyonlarına yaklaşımda; histolojik ve/veya sitolojik bulguların değerlendirilmesinin yanında, tümörün moleküler özelliklerinin belirlenmesi de önemli yer tutmaktadır.

RAS, BRAF, TERT promotör mutasyonları, RET ve PAX8 gen yeniden düzenlenmeleri tiroid tümörlerinin gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rol oynayan ve sık saptanan moleküler değişikliklerdir. Bu bölümde tiroid kanserleri-

nin gelişiminde etkili moleküler değişiklikler, bu değişikliklerin prognostik önemi ve ince iğne aspirasyon biyopsilerinin (İİAB) tanısında moleküler özelliklerin değerlendirilmesine yönelik yaklaşımlar derlenmiştir.

TİROİD TÜMÖRLERİNİN GELİŞİMİNDE ROL OYNAYAN MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER VE BİYOFONKSİYONLARI

RAS Ailesi

Harvey-RAS, Nöroblastom-RAS ve Kristen-RAS A ve B olmak üzere oldukça homolog dört geni içeren proto-onkogen bir gen ailesidir(1). RAS ailesi proteinleri esas olarak plazma membranının sitozolik tarafında bulunur. Tirozin kinaz aktifiteli reseptörlerden gelen uyarıların hücre içi iletimini sağlar(2). RAS proteinleri aktif hallerinde büyüme reseptörlerinden gelen uyarılar vasıtasıyla PI3K ve RAF/MAPK yolunu aktifleştirerek hücrelerin farklılaşmasına ve çoğalmasına aracılık eder(2). Sinyal iletimi son-

¹ Uzm. Dr., Erzincan Binalı Yıldırım Üniversitesi, Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, gizemissin@gmail.com

² Doç. Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Sultan 2. Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi, drisyilmaz@gmail.com

Afirma GEC (%94) ile benzerlik göstermektedir. Ancak PPD değeri AfirmaGEC'in değerinden (%17-38) oldukça yüksektir(52).

ThyroSeq TEST

Birinci versiyonu Nikiforova ve ark. tarafından geliştirilen; AKT1, BRAF V600E, NRAS, HRAS, KRAS, PTEN, TP53, TSHR, CTNNB1, RET, PIK3CA ve PAX8 genleri NGS ile 100'den fazla mutasyon açısından değerlendirildiği testtir. 2014 yılında test kapsamı genişletilerek; 14 gende 1000'den fazla mutasyon ve 16 gende 42 füzyon ve ekspresyon paterninin incelendiği ThyroSeq v2 oluşturulmuştur(53). ThyroSeq v2 panelini kullanan bir çalışma, sensitivitesinin %90, Spesifitesinin %93, PPD'nin %83 ve NPD'nin %96 olduğunu bildirmiştir(54).

ThyroSeq v2 önemli bir dışlama testi olmasının yanında; agresif davranış, progresyon ve kansere özgü moratalitede artış ile ilişkilendirilmiş; TERT promoter, TP53, PIK3CA ve AKT1 gen mutasyonlarını da değerlendirmesi sayesinde klinik gidişat ve prognoz hakkında da bilgi vermektedir.

SONUÇ

Tiroid tümörlerinin gelişiminde rol oynayan moleküler biyolojik değişiklikler tümör tipine göre kümelenme göstermektedir. Sitopatolojik inceleme sonrasında ara kategorilerde sınıflanan olgularda moleküler özelliklerin değerlendirilmesi hastaları gereksiz cerrahi işlemlerden korumaya yardımcıdır. Mutasyon veya genomik yeniden düzenlemeyi araştırmaya yönelik testler tek tek uygulanabileceği gibi, birçok gen bölgesinin değerlendirilmesini amaçlayan ticari testlerde kullanılabilir. Tiroid tümörlerinde izlenen moleküler değişiklikler büyük oranda birbirlerini dışarılarlar. Moleküler değişiklik saptanması maligniteyi işaret etmekle birlikte, saptanmaması malignite şüphesini ekarte etmez. Tiroid tümörlerinin %5-10'nunda ise şu anki bilgi birikimimiz ve test

teknolojimiz ile saptanabilen moleküler değişiklik izlenmediği göz önünde bulundurulmalıdır.

Sitopatolojik inceleme sonrasında ara kategorilerde sınıflanan olgularda BRAF V600E mutasyonu saptanması büyük oranda papiller karsinom ve varyantlarını, BRAF K601E mutasyonu ise foliküler varyant neoplazileri işaret etmektedir. RAS mutasyonu saptanması büyük oranda maligniteyi işaret etmekle birlikte tümör tipi hakkında yorum yapılmasına imkân sağlamamaktadır. TERT promoter mutasyonu saptanması agresif klinik gidişat ile ilişkilendirilmiştir. Çocukluğu çağı ve erişkin tiroid tümörlerinin moleküler özellikleri farklılıklar gösterir. Çocukluk çağında en sık izlenen moleküler değişiklik RET/PTC genomik yeniden düzenlenmesidir. Bu değişiklik ADTK/ATK'arda saptanmamıştır.

Bu özellikleri ile tiroid tümörlerinin gelişiminde rol oynayan moleküler değişikliklerin belirlenmesi tanıya yardımcı olmanın yanında, progresyon ve sağ kalımının değerlendirilmesine imkân sağlar.

KAYNAKLAR

1. Watzinger F, Lion T. RAS Family, Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999; 3(2). 117 -23 doi: 10.4267/2042/37525
2. Simanshu DK, Nissley DV, McCormick F. RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease. Cell. 2017;170(1):17-33. doi: 10.1016/j.cell.2017.06.009.
3. Forbes SA, Bindal N, Bamford S, Cole C, Kok CY, Beare D, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. NucleicAcidsRes. 2011;39:D945-50. doi: 10.1093/nar/gkq929.
4. Bos JL. Ras oncogenes in human cancer: a review. CancerRes. 1989;49(17):4682-9. PMID: 2547513.
5. Howell GM, Hodak SP, Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. Oncologist. 2013;18(8):926-32. doi: 10.1634/theoncologist.2013-0072.
6. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. Cancer Cell. 2004 Oct;6(4):313-9. doi: 10.1016/j.ccr.2004.09.022.

7. Rebaï M, Rebaï A. Molecular genetics of thyroid cancer. *Genet Res (Camb)*. 2016;98:e7. doi: 10.1017/S0016672316000057.
8. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002 27;417(6892):949-54. doi: 10.1038/nature00766.
9. Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2005;12(2):245-62. doi: 10.1677/erc.1.0978.
10. Acquaviva G, Visani M, Repaci A, Rhoden KJ, de Biase D, Pession A, Giovanni T. Molecular pathology of thyroid tumours of follicular cells: a review of genetic alterations and their clinicopathological relevance. *Histopathology*. 2018;72(1):6-31. doi: 10.1111/his.13380.
11. Afkhami M, Karunamurthy A, Chiosea S, Nikiforova MN, Seethala R, Nikiforov YE, et al. Histopathologic and Clinical Characterization of Thyroid Tumors Carrying the BRAF(K601E) Mutation. *Thyroid*. 2016;26(2):242-7. doi: 10.1089/thy.2015.0227.
12. Manié S, Santoro M, Fusco A, Billaud M. The RET receptor: function in development and dysfunction in congenital malformation. *Trends Genet*. 2001;17(10):580-9. doi: 10.1016/s0168-9525(01)02420-9.
13. Plaza-Menacho I. Structure and function of RET in multiple endocrine neoplasia type 2. *Endocr-RelatCancer*. 2018;25(2):T79-T90. doi: 10.1530/ERC-17-0354.
14. Eng C, Clayton D, Schuffenecker I, Lenoir G, Cote G, Gagel RF, et al. The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis. *JAMA*. 1996;276(19):1575-9. PMID: 8918855.
15. Mizuno T, Iwamoto KS, Kyoizumi S, Nagamura H, Shinohara T, Koyama K, Seyama T, Hamatani K. Preferential induction of RET/PTC1 rearrangement by X-ray irradiation. *Oncogene*. 2000;19(3):438-43. doi: 10.1038/sj.onc.1203343.
16. Pasca di Magliano M, Di Lauro R, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(24):13144-9. doi: 10.1073/pnas.240336397.
17. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro MT, Missero C, Chiovato L, et al. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet*. 1998;19(1):83-6. doi: 10.1038/ng0598-83.
18. Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, et al. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell*. 1999;4(4):611-7. doi: 10.1016/s1097-2765(00)80211-7.
19. Raman P, Koenig RJ. Pax-8-PPAR- γ fusion protein in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(10):616-23. doi:10.1038/nrendo.2014.115.
20. Harrington L, McPhail T, Mar V, Zhou W, Oulton R, Bass MB, Arruda I, Robinson MO. A mammalian telomerase-associated protein. *Science*. 1997;275(5302):973-7. doi: 10.1126/science.275.5302.973.
21. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159(3):676-90. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.050.
22. Fenton CL, Lukes Y, Nicholson D, Dinauer CA, Francis GL, Tuttle RM. The ret/PTC mutations are common in sporadic papillary thyroid carcinoma of children and young adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(3):1170-5. doi: 10.1210/jcem.85.3.6472.
23. Bongarzone I, Fugazzola L, Vigneri P, Mariani L, Mondellini P, Pacini F, et al. Age-related activation of the tyrosine kinase receptor protooncogenes RET and NTRK1 in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(5):2006-9. doi: 10.1210/jcem.81.5.8626874.
24. Pillai S, Gopalan V, Smith RA, Lam AK. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma an update of its clinicopathological features and molecular biology. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015;94(1):64-73. doi: 10.1016/j.critrevonc.2014.12.001.
25. Wang X, Cheng W, Liu C, Li J. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: current evidence on clinicopathologic features and molecular biology. *Oncotarget*. 2016;7(26):40792-9. doi: 10.18632/oncotarget.8215.
26. Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(11):5399-404. doi: 10.1210/jc.2003-030838.
27. Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of

- papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations. *Am J ClinPathol*. 2003;120(1):71-7. doi: 10.1309/ND8D-9LAJ-TRCT-G6QD.
28. Acquaviva G, Visani M, Repaci A, Rhoden KJ, de Biase D, Pession A, et al. Molecular pathology of thyroid tumours of follicular cells: a review of genetic alterations and their clinicopathological relevance. *Histopathology*. 2018;72(1):6-31. doi: 10.1111/his.13380.
 29. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW 2nd, Tallini G, et al. RAS point mutations and PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(5):2318-26. doi: 10.1210/jc.2002-021907.
 30. Fallahi P, Giannini R, Miccoli P, Antonelli A, Basolo F. Molecular diagnostics of fine needle aspiration for the presurgical screening of thyroid nodules. *Curr Genomics*. 2014;15(3):171-7. doi: 10.2174/1389202915999140404100347.
 31. Nikiforov YE. Genetic alterations involved in the transition from well-differentiated to poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinomas. *Endocr Pathol*. 2004;15(4):319-27. doi: 10.1385/ep:15:4:319.
 32. Soares P, Lima J, Preto A, Castro P, Vinagre J, Celestino R, et al. Genetic alterations in poorly differentiated and undifferentiated thyroid carcinomas. *Curr Genomics*. 2011;12(8):609-17. doi: 10.2174/138920211798120853.
 33. Mian C, Sartorato P, Barollo S, Zane M, Opocher G. RET codon 609 mutations: a contribution for better clinical managing. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012;67(Suppl 1):33-6. doi: 10.6061/clinics/2012(-sup01)07.
 34. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(10):569-80. doi: 10.1038/nrendo.2011.142.
 35. Gharib, H.; Papini, E. Thyroid nodules: clinical importance, assessment, and treatment. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 2007, 36(3), 707-735, vi.
 36. Baloch ZW, LiVolsi VA, Asa SL, Rosai J, Merino MJ, Randolph G, et al. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol*. 2008;36(6):425-37. doi: 10.1002/dc.20830.
 37. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016;26(1):1-133. doi: 10.1089/thy.2015.0020.
 38. Jinih M, Foley N, Osho O, Houlihan L, Toor AA, Khan JZ, et al. BRAFV600E mutation as a predictor of thyroid malignancy in indeterminate nodules: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2017;43(7):1219-27. doi: 10.1016/j.ejso.2016.11.003.
 39. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Kloppner JP, Zhu Z, et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(6):2092-8. doi: 10.1210/jc.2009-0247.
 40. Basolo F, Pisaturo F, Pollina LE, Fontanini G, Elisei R, Molinaro E, et al. N-ras mutation in poorly differentiated thyroid carcinomas: correlation with bone metastases and inverse correlation to thyroglobulin expression. *Thyroid*. 2000;10(1):19-23. doi: 10.1089/thy.2000.10.19.
 41. Rodrigues HG, de Pontes AA, Adan LF. Use of molecular markers in samples obtained from preoperative aspiration of thyroid. *Endocr J*. 2012;59(5):417-24. doi: 10.1507/endocrj.ej11-0410.
 42. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, Cibas ES, Chudova D, Diggans J, et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *N Engl J Med*. 2012;367(8):705-15. doi: 10.1056/NEJMoa1203208.
 43. Chudova D, Wilde JI, Wang ET, Wang H, Rabbee N, Egidio CM, et al. Molecular classification of thyroid nodules using high-dimensionality genomic data. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(12):5296-304. doi: 10.1210/jc.2010-1087.
 44. McIver B, Castro MR, Morris JC, Bernet V, Smallridge R, Henry M, et al. An independent study of a gene expression classifier (Afirma) in the evaluation of cytologically indeterminate thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(11):4069-77. doi: 10.1210/jc.2013-3584.
 45. Brauner E, Holmes BJ, Krane JF, Nishino M, Zurakowski D, Hennessey JV, et al. Performance of the Afirma Gene Expression Classifier in Hürthle

- Cell Thyroid Nodules Differs from Other Indeterminate Thyroid Nodules. *Thyroid*. 2015;25(7):789-96. doi: 10.1089/thy.2015.0049.
46. Harrell RM, Bimston DN. Surgical utility of Afirma: effects of high cancer prevalence and oncocytic cell types in patients with indeterminate thyroid cytology. *Endocr Pract*. 2014;20(4):364-9. doi: 10.4158/EP13330.OR.
47. Duick DS, Klopper JP, Diggans JC, Friedman L, Kennedy GC, Lanman RB, et al. The impact of benign gene expression classifier test results on the endocrinologist-patient decision to operate on patients with thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytopathology. *Thyroid*. 2012;22(10):996-1001. doi: 10.1089/thy.2012.0180.
48. Lithwick-Yanai G, Dromi N, Shtabsky A, Morgenstern S, Strenov Y, Feinmesser M, et al. Multicentre validation of a microRNA-based assay for diagnosing indeterminate thyroid nodules utilising fine needle aspirate smears. *J Clin Pathol*. 2017;70(6):500-7. doi: 10.1136/jclinpath-2016-204089.
49. Walts AE, Sacks WL, Wu HH, Randolph ML, Bose S. A retrospective analysis of the performance of the RosettaGX® Reveal™ thyroid miRNA and the Afirma Gene Expression Classifiers in a cohort of cytologically indeterminate thyroid nodules. *Diagn Cytopathol*. 2018;46(11):901-7. doi: 10.1002/dc.23980.
50. Zhang M, Lin O. Molecular Testing of Thyroid Nodules: A Review of Current Available Tests for Fine-Needle Aspiration Specimens. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(12):1338-1344. doi: 10.5858/arpa.2016-0100-RA.
51. Saji M, Ringel MD. The PI3K-Akt-mTOR pathway in initiation and progression of thyroid tumors. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;321(1):20-8. doi: 10.1016/j.mce.2009.10.016.
52. Labourier E, Shifrin A, Busseuier AE, Lupo MA, Manganelli ML, Andruss B, et al. Molecular Testing for miRNA, mRNA, and DNA on Fine-Needle Aspiration Improves the Preoperative Diagnosis of Thyroid Nodules With Indeterminate Cytology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(7):2743-50. doi: 10.1210/jc.2015-1158.
53. Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, Durso MB, Nikiforov YE. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(11):E1852-60. doi: 10.1210/jc.2013-2292.
54. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, et al. Highly accurate diagnosis of cancer in thyroid nodules with follicular neoplasm/suspicious for a follicular neoplasm cytology by ThyroSeq v2 next-generation sequencing assay. *Cancer*. 2014;120(23):3627-34. doi: 10.1002/cncr.29038.