

# Tiroid Kanserinde Moleküler Biyoloji

Orhan Yalçın\*, Mine Adaş\*\*

\*S.B. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, \*\*S.B. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji Bölümü

## ÖZET

Tiroid nodüllerinin ameliyat öncesi ayırıcı tanısında sıklıkla ince iğne aspirasyon biopsisi (İİAB) kullanılmaktadır. Sitopatolojik inceleme her zaman kesin sonuç vermemektedir. Şüpheli olgularda ayırıcı tanıya yardımcı moleküler belirteçler güncel uygulamalara girmiştir. Bu teknikler içinde immunositokimyasal ve genetik moleküler belirteçler bulunmaktadır. İmmunositokimyasal belirteçler içinde en yaygın kullanılanı Galectin-3 ve HMBE-1'dir. Genetik belirteçler içinde en sık kullanılan BRAF mutasyon analizidir. Ras ve RET-PTC de bu tümörlerde bulunmakla birlikte tanı değerleri sınırlıdır. Genetik belirteçler prognostik özellikler hakkında da yönlendirici bilgiler sunmaktadır. Bu belirteçlerden yararlanarak hedefe yönelik tedavilerin bulunması yönünde araştırmalar sürdürülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** tiroid kanseri, immunositokimyasal belirteçler, moleküler belirteçler

## SUMMARY

### *Molecular Biology of Thyroid Cancer*

Fine-needle aspiration biopsy (FNA) is often used for preoperative differential diagnosis of thyroid nodules. Cytopathologic examination is not always conclusive. Molecular markers get into current practice in differential diagnosis of suspected cases. These techniques include immunocytochemical and molecular genetic markers. Galectin-3 and HMBE-1 are the most widely used immunocytochemical markers. BRAF mutation analysis is the most commonly used genetic marker. Although there are Ras and RET-PTC in these tumors, their diagnosis value is limited. Genetic markers provide guiding information about prognostic properties. Researches are being carried out to discover targeted therapies by taking advantage of these markers.

**Key words:** Thyroid cancer, immunocytochemical markers, molecular markers

Tiroid kanseri en sık rastlanan endokrin kanseridir. En çok görülen türleri de foliküler hücre kökenli papiller (PTC) ve foliküler kanser (FTC), C hücre kökenli medüller kanserlerdir (MTC). Tiroid kanser onkogenezi konusunda son yıllarda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalara bağlı olarak bazı tedavi ajanları da son yıllarda kullanılmaya başlamıştır.

Moleküler belirteçlerinden tiroid kanserlerinin tanı, ayırıcı tanı, prognoz belirlenmesi ve tedavi olmak üzere birçok aşamalarda yararlanılmaktadır. Moleküler belirteçlerin en çok araştırıldığı alanların başında ameliyat öncesi ve sonrası takip ile tanı aşaması gelmektedir.

Tiroid nodüllerinin ince iğne aspirasyon biyopsisinde (İİAB) olası tanılar, benign, malign ve şüpheli olmak üzere üç kategoride değerlendirilir.

İİAB'ne yardımcı olarak, malign-benign ayrımı yapmaya yardımcı immunositokimyasal ve genetik bazı moleküller araştırılmıştır. Bu sorunları çözecek tek bir belirteç bulunmamakla birlikte ayırıcı tanıya yardımcı olmaktadır. Bu derlemede moleküler ve immunositokimyasal belirteçler klinik uygulanabilirlikleri ile beraber son yayınlanan literatür eşliğinde araştırılmıştır.

**Alındığı Tarih:** 26.3.2012

**Kabul Tarihi:** 12.6.2012

**Yazışma adresi:** Dr. Orhan Yalçın, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Şişli-İstanbul

**e-posta:** orhanyalcin@yahoo.com

### Galektin-3

Galektinler lektin grubundan proteinler olup, hücre yüzeyi ve sitoplazmasına etki ederler. Bazı üyeleri apoptozu uyarır, ancak galektin-3 ise hücreleri malign fenotipe dönüştürür. Adhezyon ve migrasyon dahil hücrelerin davranışlarını değiştirerek tümör hücrelerinin metastaz kabiliyetini artırır<sup>(5)</sup>. Galektin-3'ün İİAB'deki şüpheli veya foliküler neoplazmların tanısına katkısı konusunda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu konuda Sanabria ve ark.<sup>(6)</sup> yaptıkları meta analizde bu belirtecin tek başına klinikte kullanılabilirlikte yeterli olmadiğı sonucuna varmıştırlar.

### HMBE-1

Hector Battiflora Mesothelial Cell Antibody (HMBE-1) malign mesotelioma hücrelerini boyamak için bulunan bir fare monoklonal antikorudur<sup>(7)</sup>. Foliküler orjinli kanserlerde sensitivitesi % 80-90 spesivitesi ise % 60-96 arasındadır<sup>(8,9)</sup>.

### Belirteçlerin kombine kullanımı

HMBE-1 ve galektin-3'ün birlikte kullanımı ile tiroid lezyonlarının tanısında etkinlik artmıştır. Saggiolato ve ark.<sup>(8)</sup> kombine kullanımı ile 125 İİAB örneğinde % 97 duyarlılık ve % 91 özgünlük tespit etmişlerdir. HMBE-1 ve Cyto keratin-19'un birlikte kullanımı ile malignite için % 83 duyarlılık ve % 100 özgünlük tespit edilmiştir<sup>(10)</sup>.

### hTERT ve Telomerase

Kromozomların uçlarını kaplayan bölgesi telomer adını alır. Telomerler DNA duplikasyonuna yardımcı proteinlerdir. Telomerazlar telomerlerin kılmasını önleyen ribonukleoproteinler olup, sağlıklı somatik hücrelerde bulunmakta, ancak malignitelere aktivite arttırmaktadır. Telomerazların katalitik sub ünitleri ise hTERTlerdir. Hem telomerase hem de TERTlerin malign tiroid tümör dokularındaki varlığı için çok sayıda araştırma yapılmış, ancak bu konuda yeteri kadar hassas bulun-

mamışlardır.

### GENETİK BELİRTEÇLER

Tiroid malignitelerinde çevresel faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörler onkogeneze multipl genetik değişikliklere rol açmaktadır. Bu genetik değişiklikler de hücre yüzeyinde sitoplazmada ya da nukleusa etki ederek hücre çoğalmasını etkilemektedirler<sup>(12,13)</sup>.

### RAS Mutasyonu

Rat sarcoma (RAS) bir onkogen ailesidir. H-K ve N ras olmak üzere üç adettir. Kolon pankreas ve akciğer tümörlerinde de görülmüştür<sup>(14-16)</sup>. Tiroid fonksiyon ve tümör oluşumundaki Tirozin Kinaz Reseptörü yolunda rol alır. Aktifleşince Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) sistemini uyarır. Garcia-Rostan ve ark.nın yaptığı çalışmalarda<sup>(17)</sup> Ras mutasyon varlığının kötü prognozu gösterdiğini bildirmiştir. Ras geni mutasyonu hem malign hem benign tiroid tümörlerinde rastlanmıştır<sup>(18,19)</sup>. Fakat papiller tiroid kanserlerinde kötü difransiye, anaplastik ve metastatik kanserlerde görülmesi bu tümörlerde agresif bir seyire işaret etmektedir<sup>(18,19)</sup>. Ras morfolojik olarak iyi difransiye görülen tümörlerin metastaz potansiyelini gösteren bir belirteç olarak değerlendirilebilir<sup>(20)</sup>.

### BRAF Mutasyonu

Raf (v-raf murine sarcoma) geni reseptör tirozin kinaz yolunda ras'tan sonra gelir. Üç adet (A,B,C) kinazın en güçlüsü B-raf'tır<sup>(21)</sup>. BRAF geninde oluşan kırktan fazla mutasyonun en sık görüleni (% 90) T1799A mutasyonudur<sup>(22)</sup>. Bu mutasyon BRAF proteininde V600E (codon 600 de valine glutamat için nokta mutasyon) amino asit değişikliği yapar ve bu da BRAF kinazda devamlı ve onkogenik aktivasyona sebep olur<sup>(23,24)</sup>. Bu mutasyon papiller tiroid kanserindeki bilinen en yaygın mutasyondur. Papillerlerde % 45, anaplastik tiroid kanserlerinde (ATC) % 25 oranında görülür, foliküler ve diğer tiplerde görülmez<sup>(21,24)</sup>. Dolayısıyla diagnostik olarak şüpheli İİABlerin ayırıcı ta-

nısında yardımcı bir yöntemdir. Bir çalışmada BRAF mutasyonunun 0,5-1 cm arasındaki PTC'lerde lenf nodu metastazı riskini belirleyebileceği gösterilmiştir <sup>(25)</sup>. Bazı çalışmalarda ise bu mutasyon ile tümör agresifliği arasında ilişki bulunamamıştır <sup>(26,27)</sup>. Bundan dolayı bu belirteç prognostik değil daha çok tanı belirteci olarak kullanılmaktadır <sup>(20)</sup>. Nüks PTC'lerdeki iyot tutma oranı ile BRAF mutasyonu arasında ilişki bulunmuştur <sup>(28)</sup>. BRAF mutasyonunun bu özelliği ileride klinik çalışmalar ve tedavi yöntemleri için uygun bir hedef olmasını sağlamaktadır.

BRAF mutasyonu olan İİAB örneklerinde iyot uptake yapan NIS (sodyum iyod symporter) enzim ekspresyonu ve NIS pozitif hücrelerin sayısının mutasyonsuz örneklerle göre daha az olduğu tespit edilmiştir <sup>(29)</sup>. BRAF mutasyon analizinin yararlı olabileceği bir senaryo, İİAB'nin şüpheli fakat mutasyon analizinin pozitif olduğu olgudur. Bu olguda frozen sonucu papiller karsinom doğrulanırsa, BRAF pozitif olduğu için cerrahi müdahalenin genişliği konusunda yol gösterici olabilir <sup>(30)</sup>.

### PI3K/AKT ve PTEN

Fosfatidil inositol 3 kinase (PI3K)/v-akt murine thymoma viral oncogene (AKT) yolu, TSH reseptörleri ile GTP bağlayıcı protein kaskadı üzerinden oluşur. Bunlarda protein kinaz A ve C aracılığı ile PI3K ve daha sonra AKT yolunu takip ederek etki ederler. Uyarılmış olan AKT hücre proteinlerin fosforilasyonunu sağlar, hücre çoğalmasını uyarır ve apoptozu inhibe eder.

Başka bir tümör supresör gen ürünü Phosphatase and Tensin Homolog (PTEN), PI3K/AKT yolunu inhibe eder. Bu da etkisini fosfatidil inositol trifosfat (PIP) fosforize ederek yapar <sup>(31)</sup>. PI3K ve PTEN mutasyonları rastlanma oranları düşük olduğundan diagnostik olarak fazla yararlı değildir <sup>(32,33)</sup>.

### PAX8 - PPAR $\gamma$

Paired Box- 8 (PAX8) - peroxisome proliferator

activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) mekanizmaları da karsinogeneze tespit edilmiştir. PAX8 geni tiroid folikül hücrelerini çoğaltması için zorunlu bir kopyalama faktörünü kodlar. PPAR $\gamma$  ise tiroid hormonu da dahil bir grup hormon reseptörünün üyesidir <sup>(34)</sup>. FTC ve papiller kanserin foliküler varyantı olgularının yaklaşık % 33'ünde görülmekle birlikte malignite için spesifik değildir <sup>(35,36)</sup>.

### P53 İnaktivasyonu

P53 geni, hücre siklusu, DNA tamiri ve apoptozda önemli rol oynar <sup>(37)</sup>. P53 geninin noktasal mutasyonlarına ATK'nın yaklaşık % 60'ında ve kötü diferansiyel tiroid kanserlerinin (PDTC) % 25'inde rastlanır. Hem iyi diferansiye hem anaplastik komponentleri olan tümörlerde ise yalnızca anaplastik komponent içinde bu mutasyon görünür <sup>(38,39)</sup>. P53 mutasyonu PDTC ve ATC de başlatıcı bir olaydan çok geç dönemde fenotipin değişmesinde rol oynamaktadır <sup>(40)</sup>.

### RET-PTC

RET (Rearranged during transfection) proto-onkogeni parafoliküler C hücrelerinde yüksek oranda görülen, ancak folikül hücrelerinde az görülen bir tirozin kinaz reseptördür. Bu genin, ilgisiz başka bir genin tirozin kinaz alanına bağlanması (Rearrangement) ile aktive olur. Bu reseptörün değişik formlarının aberran üretimi RET-PTC olarak tanınır <sup>(41)</sup>. RET-PTCler RAS/BRAF/MAPK sistemini devamlı olarak aktive eder <sup>(42-44)</sup>. RET-PTC, PTClerin yaklaşık % 20'sinde görülür. Özellikle genç ve daha önce radyasyona maruz kalanlarda daha sıktır <sup>(45)</sup>. Şüpheli İİAB'lerde tanıya yardımcı olur ve RET pozitif bulunması durumunda yapılacak ameliyatı total tiriodektemiye yönlendirir.

Ret protoonkogenin mutasyonları medüller kanserlerin değişik tiplerinde de görülmektedir. Özellikle MEN2A, MEN2B ve ailesel medüller tiroid kanserlerinde (MTC) bu gende mutasyonlar olmaktadır. MEN sendromlu hastaların aile bireyleri bu mutasyon yönünde incelenir. Mutasyona sahip olanlarda ileride medüller kanser gelişeceği görülmüştür <sup>(46)</sup>.

Bu mutasyon tespit edilenlere erken dönemde profilaktik tiroidektomi yapılması gerekmektedir.

### Mikro RNA'lar

Tiroid nodüllerinin preoperatif tanısında, tanıya yardımcı olarak mikro RNA'lar çalışılmıştır. Mikro RNA profili ile mutasyonlar arasında korelasyon tespit edilmiş olup, miR-146b ekspresyonunun papiller kanserlerde ekstratirodial yayılımla birlikte olduğu gösterilmiştir (47,48).

### Proteomiksler

Bir genomun ifade ettiği tüm proteinler proteom olarak adlandırılmaktadır. Bunların araştırılması proteomiks çalışmaları olarak gündeme gelmiştir. İİAB örneklerinde genomik ve proteomik analizler yapılarak benign malign ayrımı yapılmaya çalışılmaktadır (49).

### Tedavide Belirteçlerin Kullanımı

PTC'lerde en sık rastlanan mutasyon BRAF olduğundan terapötik çalışmalar bu mutasyon üzerine yoğunlaşmıştır. BRAF kinazı inhibe etmek için tiroid kanseri hücre kültürlerinde çok sayıda ajan denenmiştir. BAY 43-9006 (sorafenib) BRAF ve reseptör tirozin kinaz ile ilgili anjiyogenezi hedefleyen multikinaz bir inhibitördür. Şimdiye kadar üzerinde en çok çalışılan ajandır (41). Ancak, bu etkisini selektif olarak BRAF üzerinden değil de daha çok vasküler endotelial growth factor (VEGF) üzerinden anjiyogenezi bloke ederek yaptığı düşünülmektedir (50). Sorafenib ile yapılan Faz II çalışmada metastatik tiroid kanserli 30 hastada % 77 klinik yarar sağladığı görülmüştür (51).

### SONUÇ

Tiroid kanseri tanısında bugün klinik olarak kullanılan ve araştırılan çok sayıda moleküler belirteç mevcuttur. Moleküler analiz sitopatolojik olarak şüpheli doku materyallerin tanısının kesinleştirilmesine yardımcı olmaktadır. BRAF gibi bazı mutasyonların bulunması

tiroid lezyonlarının ayırıcı tanısında yardımcı olmanın yanında klinisyene yararlı olabilecek bazı prognostik bilgiler vermektedir. Bu belirteçlere dayanarak hedefe yönelik kemoteropatik ajanlar geliştirilmeye başlanmıştır.

### KAYNAKLAR

1. Yang GC, Liebeskind D, Messina AV. Ultrasound-guided fine-needle aspiration of the thyroid assessed by Ultrafast Papanicolaou stain; data from 1135 biopsies with a two- to six- year follow up. *Thyroid* 2001;11(6):581-9. <http://dx.doi.org/10.1089/105072501750302895> PMID:11442006
2. Yang J, Schnadig V, Logrono R, et al. Fine-needle aspiration of the thyroid nodules; a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. *Cancer* 2007;111(5):306-15. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.22955> PMID:17680588
3. Baloch ZW, Fleisher S, LiVolsi VA, et al. Diagnosis of "follicular neoplasm": a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol* 2002;26(1):41-4. <http://dx.doi.org/10.1002/dc.10043> PMID:11782086
4. Yang GC, Liebeskind D, Messina AV. Should cytopathologists stop reporting follicular neoplasm on fine-needle aspiration of the thyroid? *Cancer* 2003;99(2):69-74. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.10957> PMID:12704685
5. Liu FT, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2005;5(1):29-41. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1527> PMID:15630413
6. Sanabria A, Carvalho AL, Piana de Andrade V, et al. Is galectin-3 a good method for the detection of malignancy in patients with thyroid nodules and a cytologic diagnosis of "follicular neoplasm"? A critical appraisal of the evidence. *Head Neck* 2007;29(11):1046-54. <http://dx.doi.org/10.1002/hed.20642>
7. Sheibani K, Esteban JM, Bailey A, et al. Immunopathologic and molecular studies as an aid to the diagnosis of carcinoma. *Hum Pathol* 1992;23(2):107-16. [http://dx.doi.org/10.1016/0046-8177\(92\)90231-Q](http://dx.doi.org/10.1016/0046-8177(92)90231-Q)
8. Saggiorato E, De Pompa R, Volante M, et al. Characterization of thyroid "follicular neoplasm" in fine-needle aspiration cytological specimens using a panel of immunohistochemical markers: a proposal for clinical application. *Endocr Relat Cancer* 2005;12(2):305-17. <http://dx.doi.org/10.1677/erc.1.00944> PMID:15947105
9. de Micco C, Savchenko V, Giorgi R, et al. Utility of malignancy markers in fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules: comparison of

- Hector Battifora mesothelial antigen-1, thyroid peroxidase and dipeptidyl aminopeptidase IV. *Br J Cancer* 2008;98(4):818-23.  
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6604194>  
 PMid:18212751 PMCID:2259194
10. Scognamiglio T, Hyjek E, Kao J, et al. Diagnostic usefulness of HBME1, galectin-3, CK19 and CITED1 and evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2006;126(5):700-8.  
<http://dx.doi.org/10.1309/044V86JN2W3CN5YB>  
 PMid:17050067
  11. Kirkpatrick KL, Mokbel K. The significance of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) in cancer. *Eur J Surg Oncol* 2001;27(8):756-60.  
<http://dx.doi.org/10.1053/ejso.2001.1151>  
 PMid:11735173
  12. Weinberg RA. Oncogenes, antioncogenes and the molecular basis of multistep carcinogenesis. *Cancer Res* 1985;49:3713.
  13. Friend SH, Dryja TP, Weinberg RA. Oncogenes and tumor-suppressing genes. *N Engl J Med* 1988;318:618.  
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198803103181007>  
 PMid:3278233
  14. Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR et al. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancer. *Nature* 1987;327:293.  
<http://dx.doi.org/10.1038/327293a0>  
 PMid:3587348
  15. Bos JL, Ras oncogenes in human cancer: A review. *Cancer Res* 1989;49:4682.  
 PMid:2547513
  16. Anderson MW, Reynolds SH, You M, et al. Role of proto-oncogene activation in carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1992;98:13.  
<http://dx.doi.org/10.1289/ehp.929813>  
 PMid:1486840 PMCID:1519627
  17. Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL et al. "Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer," *Journal of Clinical Oncology* 2003;21(17):3226-35.  
<http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2003.10.130>  
 PMid:12947056
  18. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristic of thyroid papillary carcinomas. *American J Surg Pathol* 2006;30:216-222.  
<http://dx.doi.org/10.1097/01.pas.0000176432.73455.1b>  
 PMid:16434896
  19. Riviera M, Ricarte-Filho J, et al. Molecular genotyping of papillary thyroid carcinoma follicular variant according to its histological subtypes (encapsulated vs infiltrative) reveals distinct BRAF and RAS mutation patterns. *Mod Pathol* 2010;23:1191-1200.  
<http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2010.112>  
 PMid:20526288
  20. Theoharis C, Roman S, Sosa AJ. The molecular diagnosis and management of thyroid neoplasms, *Cur Opin Oncol* 2012;24:35-41.  
<http://dx.doi.org/10.1097/CCO.0b013e32834dcfca>  
 PMid:22123232
  21. Garnett MJ and Marais R. "Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene". *Cancer Cell* 2004;6(4):316-19.
  22. Ciampi R, Nikiforov YE. "Minireview: RET/PTC rearrangements and braf mutations in thyroid tumorigenesis," *Endocrinology* 2007;148(3):936-41.  
<http://dx.doi.org/10.1210/en.2006-0921>  
 PMid:16946010
  23. Vasko V, Ferrand M, Di Cristofaro J, Carayon P, Henry JF, and De Micco C. "Specific pattern of RAS oncogene mutations in follicular thyroids tumors," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003;88(6):2745-52.  
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2002-021186>
  24. Xing M. "BRAF mutation in thyroid cancer," *Endocrine Related Cancer* 2005;12(2):245-62.  
<http://dx.doi.org/10.1677/erc.1.0978>  
 PMid:15947100
  25. So YK, Son YI, Park JY, et al. Preoperative BRAF mutation has different predictive values for lymph node metastasis according to tumor size. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011;145:422-27.  
<http://dx.doi.org/10.1177/0194599811404649>  
 PMid:21750338
  26. Puxeddu e, Moretti S, Elisei R, et al. BRAF(V599E) mutation is the leading genetic event in adult sporadic papillary thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2441-20.
  27. Trovisco V, Soares P, Preto A, et al. Type and prevalence of BRAF mutations are closely associated with papillary thyroid carcinoma histotype and patients' age but with tumor aggressiveness. *Virchows Arch* 2005;446:589-95.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00428-005-1236-0>  
 PMid:15902486
  28. Liu D, Liu Z, Jiang D, Dackiw AP, and Xing MM, "Inhibitory effects of the mitogen-activated protein kinase kinase inhibitor CI-1040 on the proliferation and tumor growth of thyroid cancer cells with BRAF or RAS mutations," *Journal of Clinical endocrinology and Metabolism* 2005;92(12):6373-79.
  29. Romei C, Ciampi R, Faviana P, et al. BRAFV600E mutation, but not RET/PTC rearrangements, is correlated with a lower expression of both thyroperoxidase and sodium iodide symporter genes in papillary thyroid cancer. *Endor Relat Cancer* 2008;15:511-20.  
<http://dx.doi.org/10.1677/ERC-07-0130>  
 PMid:18509003
  30. Mekel M, Nucera C, Hodin RA et al. "Surgical implications of B-Raf (V600E) mutation in fine-needle aspiration of thyroid nodules." *The American Journal of Surgery* 2010;200:136-43.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjsurg.2009.08.029>  
 PMid:20637346
  31. Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, and Gonzalez-Baron M. "P13K/Akt signalling pathway and cancer," *Cancer Treatment Reviews* 2004;30(2):193-204.

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2003.07.007>  
PMid:15023437
32. Sipos JA, Mazzaferri El. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables. *Clin Oncol* 2010;22:395-404.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clon.2010.05.004>  
PMid:20627675
33. Nikiforov YE. Molecular diagnostics of thyroid tumors. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:569-77.  
PMid:21526955
34. Wang Y, Hou p., Yu et al. "high prevalence and mutual exclusivity of genetic alterations in the phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway in thyroid tumors," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007;92(6):2387-90.  
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2006-2019>
35. Ying H, Suzuki H, Zhao LI, willingham MC, Meltzer P, and Cheng SY. "Mutant thyroid hormone receptor g represses the expression and transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor g during thyroid carcinogenesis," *Cancer Research* 2003;63(17):5274-80.  
PMid:14500358
36. Marques AR, Espadilha C, Catarino AL et al. "Expression of PAX8-PPARg1 rearrangement in both follicular thyroid carcinomas and adenomas," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002;87(8):3947-52.  
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.87.8.3947>
37. Castro P, Rebocho AP, Soarez RJ et al. "PAX8-PPARg rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2006;91(4):213-20.  
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2005-1336>
38. Ito T, Seyama T, Mizuno T et al. "Genetic alterations in thyroid tumor progression: association with p53 gene mutations," *Japanese Journal of Cancer Research* 1993;84(5):526-31.
39. Matias-Guiu X, villanueva A, Cuatrecasas M, Capella G, De Leiva A, and Prat J. "p53 in a thyroid follicular carcinoma with foci of poorly differentiated and anaplastic carcinoma," *Pathology Research and Practise* 1996;192(12):1242-49.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0344-0338\(96\)80159-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0344-0338(96)80159-2)
40. Legakis I, Syrigos K. Recent Advances in Molecular Diagnosis of Thyroid Cancer, *Journal of Thyroid Research*, 2011, doi: 10.4061/2011/384213  
<http://dx.doi.org/10.4061/2011/384213>  
PMid:21603167 PMCID:3095897
41. Tang K-T, Lee Ch. BRAF Mutation in Papillary Thyroid Carcinoma: Pathogenic Role and Clinical Implications. *J Chin Med Assoc* 2010;73(3):113-28.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1726-4901\(10\)70025-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1726-4901(10)70025-3)
42. Knauf JA, Kuroda H, Basu S, Fagin JA, RET/PTC-induced dedifferentiation of thyroid cells is mediated through Y1062 signaling through SHC-RAS-MAP kinase. *Oncogene* 2003;22:4406-12.  
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1206602>  
PMid:12853977
43. Melillo RM, Castellone MD, Guarino V, De Falco V, Cirafici AM, Salvatore G, Caiazzo F, et al. The RET/PTC-RAS-BRAF linear signaling cascade mediates the motile and mitogenic phenotype of thyroid cancer cells. *J Clin Invest* 2005;115:1068-81.  
PMid:15761501 PMCID:1062891
44. Mitsutake N, Miyagishi M, Mitsutake S, Akeno N, Mesa C Jr, Knauf JA, Zhang L, et al. BRAF mediates RET/PTC-induced mitogen-activated protein kinase activation in thyroid cells: functional support for requirement of the RET/ PTC-RAS-BRAS pathway in papillary thyroid carcinogenesis. *Endocrinology* 2006;147:1014-9.  
<http://dx.doi.org/10.1210/en.2005-0280>  
PMid:16254036
45. Nikiforov YE, Rowland JM, Bove KE, Monfortemunoz h, Fagin JA. Distinct pattern of ret oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children. *Cancer Res* 1997;57:1690-4.  
PMid:9135009
46. Lips CJM, Landsvater RM, Hoepfener JWM, et al. Clinical screening as compared DNA analysis in families with multiple endocrine neoplasia type 2A. *N Engl J Med* 1994;331:828.  
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199409293311302>  
PMid:7915822
47. Nikiforova MN, Chiosea SI, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocr Pathol* 2009;20:58-91.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s12022-009-9069-z>  
PMid:19352602
48. Chou CK, Chen RF, Chou FF et al. miR-146 is highly expressed in adult papillary thyroid carcinomas with high risk features including extra-thyroidal invasion and the BRAF (V600E) mutation. *Thyroid* 2010;20:489-494.  
<http://dx.doi.org/10.1089/thy.2009.0027>  
PMid:20406109
49. Giordano TJ. Genome-wide studies in thyroid neoplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008;37:311-331.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2007.12.005>
50. KIM S, Yazici YD, Calzada G, Wang ZY, Younes MN, Jasser SA, EL-Naggar AK, et al. Sorafenib inhibits the angiogenesis and growth of orthotopic anaplastic thyroid carcinoma xenografts in nude mice. *Mol Cancer Ther* 2007;6:1785-92.
51. Gupta-Abramson V, Troxel AB, nollere A, puttaswamy K Readlinger M, Ransone K, Mandel SJ, et al. Phase II trial of sorafenib in advanced thyroid cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:4714-9.  
<http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.16.3279>  
PMid:18541894 PMCID:2653134