



T.C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PAPİLLER TİROİD KANSERLERİNDE PD-L1 VE BRAF V600E
BOYANMA SKORLARININ PROGNOSTİK FAKTÖRLER İLE
İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Duygu TÜRKBAY ŞİMŞEK

ANKARA, 2020



T.C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PAPİLLER TİROİD KANSERLERİNDE PD-L1 VE BRAF V600E
BOYANMA SKORLARININ PROGNOSTİK FAKTÖRLER İLE
İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Duygu TÜRKBEY ŞİMŞEK

TEZ DANIŞMANI:

Dr. Öğr. Üyesi Dr. Eda YILMAZ AKÇAY

ANKARA, 2020

10/04/2019 tarih ve KA 19/117 no'lu sayı

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitim sürecimde ilgisini, sevgisini, bilgisini eksik etmeyen beni her zaman destekleyen, yüreklendiren, çalışma ortamımızı aile ortamına çeviren Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. B. Handan Özdemir'e çok teşekkür ederim. Bilgi ve tecrübelerini aktaran ve her zaman yanımda olan değerli hocalarım Prof. Dr. Özlem Özen ve Prof. Dr. Nihan Haberal Reyhan'a çok teşekkür ederim.

Tezimin ve eğitimimin her aşamasında bana rehberlik eden, uzmanlık tezimin planlanmasında, çalışmalarımın yapılmasında destek olan değerli ablam, tez danışmanım Sn. Dr. Öğr. Üyesi Dr. Eda Yılmaz Akçay'a çok teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan, bilgi ve tecrübelerini aktaran, rehberlik eden, canım ablalarım Doç. Dr. Gonca Özgün, Doç. Dr. Merih Tepeoğlu, Doç. Dr. Ebru Şebnem Ayva, Doç. Dr. Ayşen Terzi, Dr. Öğr. Üyesi Dr. Pelin Börcek ve Dr. Öğr. Üyesi Dr. Alev Ok Atılğan'a çok teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bana çok şey öğreten, her zorlukta yanımda olan ve desteklerini eksik etmeyen canım kıdemlilerim Uzm. Dr. Emrah Kumcu, Uzm. Dr. Çiğdem Sercan, Uzm. Dr. Onur Oral'a, canım çömezim Dr. Merve Nur Çelik'e çok teşekkür ederim.

Sabahlarımın vazgeçilmezi olan, desteklerini ve dostluklarını eksik etmeyen canım ön oda arkadaşlarım Melis Deniz Göçer, Ayşegül Yücel Polat, Ceren Gülgör ve Pınar Arıbal'a çok teşekkür ederim.

Güler yüzleri, sabır ve yardımları için bölüm sekreterlerimiz Ayten Şahin, Neşe Güneş ve Ümit Yılmaz'a teşekkür ederim. Patoloji mutfağında beraber çalıştığım tüm teknisyen ve laboratuvar personeline teşekkür ederim. Her sabah güler yüzü ile beni karşılayan, Huriye Aksu'ya ve yardımlarını eksik etmeyen Turan Yeşilbaş, işlerimizi kolaylaştıran Mustafa Akdemir ve Ali Gültekin'e teşekkür ederim.

Her an yanımda olan, sevgisini ve desteğini esirgemeyen, kızları olmaktan gurur duyduğum canımdan çok sevdiğim birtanecik emektar annem Emel Türkbey ve canımdan çok sevdiğim, beni her zaman koruyup kollayan birtanecik babam Burhan Türkbey'e sonsuz teşekkürler. Var olduğu için kendimi çok şanslı saydığım, her zaman yanımda olan, desteğini, şefkatini eksik etmeyen canımdan çok sevdiğim birtanecik kardeşim Utku Türkbey'e çok teşekkür ederim.

Tanıştığımız ilk günden beri sabrı, sevgisi ve desteği ile her zaman yanımda olan beraber büyüdüğüm, yol arkadaşım canım eşim Kaya ve aramıza yeni katılan neşeli, enerjik, gülüşü ile içimi ısıtan, sahip olduğum için minnettar olduğum, bana dünyanın en güzel duygularını yaşatan, hayatıma bambaşka bir anlam katan canım kızım Durucuęum, iyi ki varsınız.

Duygu Türkbey Şimşek

ANKARA, Eylül 2020



ÖZET

Tiroid karsinomu, tüm endokrin tümörlerin en yaygın olanıdır. Tiroid kanserinin insidansı ve ölüm oranları giderek artmaktadır. Papiller tiroid karsinomu (PTC), iyi prognozlu tiroid karsinomlarının en büyük bölümünü oluşturmaktadır. Bununla birlikte, tüm tiroid kanserlerinin yaklaşık %10'unun prognozu kötüdür. Bu nedenle, hasta prognozunun daha iyi tahmin edilmesini ve uygun tedavinin planlanmasını kolaylaştıran klinikopatolojik faktörlerin belirlenmesi önemlidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda PTC'lerde prognozu belirlemede kullanılan standart kriterlerin yanı sıra, PD-L1 boyanma oranları ve BRAF V600E mutasyon durumunun belirlenmesinin önemli alternatifler olabileceği öne sürülmektedir. Tümöre eşlik eden Hashimoto tiroiditinin (HT) tümör mikro çevresi ve PTC ilerlemesi üzerindeki etkisi halen araştırılmaktadır.

Programlanmış ölüm reseptörü-1 / programlanmış ölüm ligandı-1 (PD-1 / PD-L1) sinyal yolu dahil, bağışıklık kontrol noktası yollarının, self-toleransa aracılık etmede ve kontrol etmede önemli rolü olduğu bilinmektedir. Bu mekanizma, bazen immün sistemden kaçmak için kanser hücreleri tarafından manipüle edilebilir. Son zamanlarda, PD-1 / PD-L1 yolunun monoklonal antikörlerle bloke edilmesinin birçok farklı malignitede çarpıcı klinik sonuçlar ortaya çıkardığı keşfinden dolayı bağışıklık kontrol noktası proteini PD-1 ve ligand PD-L1'e artan bir odaklanma vardır. PD-1 aktive T hücreleri üzerinde eksprese edilir, özellikle tümörü infiltre eden T lenfositler (TIL'ler), tarafından yüksek ekspresyona sahiptir.

Son yıllarda PTC gelişimden ve invazivliğinden sorumlu olduğu düşünülen bir takım moleküler yollar aydınlatılmıştır. Bu bağlamda en çok kabul gören BRAF V600E mutasyonunun belirgin bir rol oynadığı RET-RAS-RAF-MEK-ERK (mitogen-aktive edici protein kinaz) yolağı olmuştur.

Bu çalışmanın amacı aşağıdaki soruları yanıtlamaktır: (1) PTC'lerde PD-L1 ekspresyonunu hangi klinikopatolojik faktörler etkiler? (2) PTC'lerde BRAF V600E ekspresyonunu hangi klinikopatolojik veriler etkiler? (3) BRAFV600E boyanma skorları yüksek olan PTC hastalarında, kötü prognostik sonuçları açıklamaya yardımcı olabilecek immün mekanizmlardan biri olan artmış PD-L1 ekspresyonu ile BRAF V600E ekspresyonu arasında ilişki var mıdır? (4) HT zemininde gelişen ve gelişmeyen PTC'ler ile PD-L1 ekspresyonu arasında fark var mıdır?

Bu tez çalışmasına, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan Haziran 2013 ile Aralık 2019 tarihleri arasında total tiroidektomi yapılmış, çapı 1 cm ve üzerinde PTC tanısı almış olgular dahil edilmiştir. Tespit edilen 81 PTC vakasının 71 tanesi klasik varyant, 4 tanesi folliküler varyant, 4 tanesi onkositik varyant ve 2 tanesi diffüz sklerozan varyanttır. Çalışmaya dahil edilen bu vakaların 42 tanesine HT eşlik etmektedir. Olgulara ait Hemotoksilen & Eozin kesitleri tekrar gözden geçirilip klinikopatolojik parametreler değerlendirilmiştir. PD-L1 ve BRAF V600E antikorları immünohistokimyasal yöntem ile tüm olgularda çalışılmıştır.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı şekilde 55 yaşından küçük vakaların tümü TNM evre I iken, TNM Evre II olan tüm vakalar 55 yaşından büyüktür ve PTC tanısı alan kadın hastaların oranı erkek hastalardan yaklaşık 4 kat fazla saptanmıştır. Lenf nodu metastazı olan ve lenfovasküler invazyon izlenen vakalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde multifokalite saptanmıştır. Klinikopatolojik parametrelerden minimal ekstratiroidal yayılım ile lenfovasküler invazyonun korole olduğu saptanmıştır. Mikroskopik cerrahi sınır pozitif vakalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ekstratiroidal yayılım görülmüştür. HT olan kadın hastaların sayısı erkek hastalardan 7 kat fazladır.

Tümör varyantlarına göre PD-L1 ekspresyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. Onkositik varyant PTC'lerde klasik varyanta göre daha fazla boyanma izlenmiştir. PD-L1 ekspresyon oranlarının diğer klinikopatolojik parametreler olan TNM evresi, multifokalite, pN, pT, ekstratiroidal yayılım, cerrahi sınır ve lenfovasküler invazyona göre karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamamıştır. HT varlığına göre PD-L1 ekspresyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiş olup HT olan PTC hastalarında PDL-1 ekspresyon oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır.

pT1b evresinde BRAF V600E boyanma skorlarının pT1a'ya göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. BRAF V600E boyanma skorlarının diğer klinikopatolojik parametreler olan TNM evresi, multifokalite, pN, tümör varyantı, ekstratiroidal yayılım ve lenfovasküler invazyona göre karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamamıştır. HT zeminde gelişen ve gelişmeyen PTC hastalarında BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak PD-L1 henüz PTC için kabul edilmiş bir prognostik marker olarak kullanılmamakla birlikte HT zemininde gelişen PTC'lerin prognozunu belirleme ve tedaviyi yönlendirme açısından PD-L1 bir marker olarak kullanılabileceği önerilmiştir.

pT1b evresinde BRAF V600E boyanma skorlarının pT1a'ya göre daha yüksek olması nedeniyle ileri pT evresinde BRAF V600E boyanma skorlarının daha yüksek olabileceğini ve ileri evre hastalığı ön görmekte kullanılabileceği düşünülmüştür. Ayrıca mikroskopik cerrahi sınır pozitif olan vakalarda BRAF V600E boyanma skorlarının daha yüksek olması BRAF V600E pozitifliğinin dolaylı yoldan rekürren hastalığı ön görebileceğini düşündürmüştür. Literatürde BRAF V600E mutasyonu varlığının kötü prognostik parametreler ile ilişkisinin gösterilmesi nedeniyle çalışmamızda PD-L1 boyanma oranları ile BRAF V600E skorunun korele bulunması PD-L1'in kötü prognozu tahmin etmede yararlı olabileceğini düşündürmüştür. Ancak mevcut bulguların daha fazla sayıda hasta ile yapılacak çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Papiller tiroid karsinomu, PD-L1, BRAF V600E, Hashimoto tiroiditi.

ABSTRACT

The Relationship of PD-L1 and BRAF V600E Staining Scores with Prognostic Factors in Papillary Thyroid Cancers

Thyroid carcinoma is the most common of all endocrine tumors. Thyroid cancer incidence and mortality rates are gradually increasing. Papillary thyroid carcinoma (PTC) constitutes the largest portion of thyroid carcinomas with good prognosis. However, about 10% of all thyroid cancers have a poor prognosis. Therefore, it is important to identify clinicopathological factors that facilitate better estimation of patient prognosis and planning the appropriate treatment. In the studies conducted for this purpose, it is suggested that determining the PD-L1 staining rates and BRAF V600E mutation status as well as the standard criteria used to determine the prognosis in PTCs may be important alternatives. Also, the effect of concurrent Hashimoto thyroiditis (HT) on tumor microenvironment and PTC progression is not well understood.

It is known that immune checkpoint pathways, including the programmed death receptor-1 / programmed death ligand-1 (PD-1 / PD-L1) signaling pathway, play an important role in mediating and controlling self-tolerance. This mechanism can sometimes be manipulated by cancer cells to evade the immune system. Recently, there is an increased focus on the immune checkpoint protein PD-1 and ligand PD-L1, due to the discovery that blocking the PD-1 / PD-L1 pathway with monoclonal antibodies has striking clinical consequences in many different malignancies. PD-1 is expressed on activated T cells, especially high expression by tumor-infiltrating T lymphocytes (TILs).

In recent years, some molecular pathways that are thought to be responsible for the development and invasiveness of PTC have been elucidated. In this context, the most widely accepted pathway has been the RET-RAS-RAF-MEK-ERK (mitogen-activating protein kinase) pathway, in which the BRAF V600E mutation plays a prominent role.

The purpose of this study is to answer the following questions: (1) Which clinicopathological factors affect PD-L1 expression in PTCs? (2) Which clinicopathological data affect BRAF V600E expression in PTCs? (3) Is there a relationship between BRAFV600E expression and increased PD-L1 expression, one of the immune mechanisms that may help explain poor prognostic outcomes, in PTC patients with high BRAFV600E staining scores? (4) Is there a difference between PD-L1 expression and PTCs that develop and do not develop in the HT background?

In this thesis study, patients who underwent total thyroidectomy between June 2013 and December 2019 in the archive of Başkent University Faculty of Medicine Ankara Hospital Department of Pathology and diagnosed with PTC with a diameter of 1 cm or more were included. Of the 81 PTC cases detected, 71 were reported as classical variant, 4 as follicular variant, 4 as oncocytic variant and 2 as diffuse sclerosing variant. 42 of these cases included in the study were accompanied by HT. Hematoxylin & Eosin sections of the cases were reviewed and clinicopathological parameters were evaluated. PD-L1 and BRAF V600E antibodies were studied in all cases by immunohistochemistry.

Statistically significant, while all patients under the age of 55 are TNM stage I, all cases with TNM stage II are older than 55 years and the proportion of female patients diagnosed with PTC is approximately 4 times higher than male patients. A statistically significant level of multifocality was detected in cases with lymph node metastasis and lymphovascular invasion. It was found that lymphovascular invasion with minimal extrathyroidal spread was corole. A statistically significant minimal extrathyroidal spread was observed in cases with positive surgical margins. The number of female patients with HT was found to be 7 times higher than male patients.

A statistically significant difference was observed between the PD-L1 expression rate according to the tumor variants. Comparison of PD-L1 expression rates according to other clinicopathological parameters such as TNM stage, tumor size, multifocality, pN, pT, extrathyroidal invasion, surgical margin and lymphovascular invasion was not found to be significantly different. A statistically significant difference was observed between the PD-L1 expression rate in the presence of HT, and it was found that the PDL-1 expression rate was higher in PTC patients with HT.

BRAF V600E staining scores were found to be higher than pT1a in the pT1b stage. Comparison of BRAF V600E staining scores according to other clinicopathological parameters such as TNM stage, tumor size, multifocality, pN, tumor variant, extrathyroidal invasion and lymphovascular invasion was not found to be significantly different. BRAF V600E staining scores were not found to be statistically different in PTC patients with and without HT.

As a result, although PD-L1 is not yet used as an accepted prognostic marker for PTC, it has been suggested that PD-L1 can be used as a marker in terms of determining the prognosis of PTCs developing on the basis of HT and directing the treatment. Since BRAF V600E staining scores in pT1b stage were higher than pT1a, it was thought that BRAF V600E staining scores might be higher in advanced pT stage and could be used to predict

advanced stage disease. In addition, the higher BRAF V600E staining scores in cases with positive surgical margins suggested that BRAF V600E positivity might indirectly predict recurrent disease. The correlation between PD-L1 staining rates and BRAF V600E score in our study, due to the fact that the presence of BRAF V600E mutation is associated with poor prognostic parameters in the literature, suggested that PD-L1 may be useful in predicting poor prognosis. However, the current findings should be supported by studies with more patients.

Keywords: Papillary thyroid carcinoma, PD-L1, BRAF V600E, Hashimoto thyroiditis.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
	İçindekiler
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER	xiv
RESİMLER	xv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tiroid Embriyolojisi	3
2.2 Tiroid Anatomisi	3
2.3 Tiroid Histolojisi	5
2.4 Tiroid Fizyolojisi	7
2.5 Tiroid Glandının Makroskopik Örneklenmesi	8
2.6 Tiroid Tümörlerinin Genel Özellikleri	10
2.6.1. İnsidans ve Epidemiyoloji	10
2.6.2. Etiyoloji ve Patogenez	10
2.6.3. Klinik Bulgular, Tanı ve Tedavi	11
2.6.4. Tümör Evrelemesi	12
2.6.5. Prognostik Faktörler	14
2.6.6. WHO 2017 Tiroid Gland Tümörleri Sınıflaması	17
2.7. Papiller Tiroid Karsinomu	19
2.7.1. Epidemiyoloji ve İnsidans	19
2.7.2. Etiyoloji	19
2.7.3. Klinik Özellikler	20
2.7.4. Makroskopik Özellikler	20
2.7.5. Mikroskopik Özellikler	21
2.7.6. Histopatolojik Varyantlar	24
2.7.7. Prognoz	30

2.7.8. Prediktif Faktörler	31
2.8. Kronik Lenfositik Tiroidit (Hashimoto veya Otoimmün Tiroidit)	31
2.8.1. Tanım	31
2.8.2. Epidemiyoloji	31
2.8.3. Patogenez	31
2.8.4. Patoloji	33
2.8.5 Varyantlar	34
2.9 Kullanılan İmmünohistokimyasal Markerler ve Mekanizmaları	35
2.9.1 PD-L1 (Programlanmış Ölüm Ligandı-1)	35
2.9.2. BRAF V600E	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	48
3.1. Olguların Genel Özellikleri	48
3.2. Hemotoksilen & Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi	48
3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri	49
3.4. İmmünohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi	49
3.4.1. PD-L1 Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi	49
3.4.2. BRAF V600E Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi	52
3.5. İstatistiksel Analiz	54
4. BULGULAR	55
4.1. PTC Hastalarının Klinikopatolojik Parametreleri	55
4.2. Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması	56
4.3. PD-L1 Boyanma Skorları ve Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması	59
4.4. BRAF V600E Boyanma Skorları ve Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması	62
4.5 BRAF V600E ve PD-L1 Boyanma Skorlarının Karşılaştırılması	66
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇLAR	76
7. ÖNERİLER	78
8. KAYNAKLAR	79

KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
CTL	: Sitotoksik T lenfosit
CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit Antijeni 4
FTC	: Folliküler tiroid karsinomu
HLA	: Human Leukocyte Antigen (İnsan lökosit antijeni)
HÖS	: Hastaya özgü sağkalım
HT	: Hashimoto tiroiditi
IFN	: İnterferon
IHK	: İmmünohistokimya
KLT	: Kronik lenfositik tiroidit
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
NK	: Naturel Killer
PD-1	: Programlanmış hücre ölümü Reseptörü-1
PD-L1	: Programlanmış hücre ölüm Ligandı-1
PTC	: Papiller tiroid karsinomu
RAİ	: Radyoaktif İyot
TCR	: T hücre reseptörü
Tg	: Tirogloblin
TILs	: Tümörü infiltre eden T lenfositler
Treg	: Regulator T hücreleri
WHO	: The World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Tiroid bezi anatomisi- anterior görünüm	4
Şekil 2.2. Tiroid bezi anatomisi- posterior görünüm	5
Şekil 2.3. Tiroid bezi histolojisi	7
Şekil 2.4. Kanseri hücrelerinde bağışıklık kontrol noktası sinyal yolları	36
Şekil 2.5. PD-L1'in aktive T hücreleri tarafından salgılanan interferon gama ile indüklenmesi	40
Şekil 2.6. MAPK yolunun şematik gösterimi	44

RESİMLER

	<u>Sayfa</u>
Resim 2.1. Minimal ekstratiroidal yayılım	15
Resim 2.2. Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu	15
Resim 2.3. Fibrovasküler kor içeren papiller yapılar	22
Resim 2.4. Nükleer büyüme, kontur bozukluğu, üst üste binme ve nükleer yarıklanmalar gösteren PTC hücreleri	23
Resim 2.5. Nükleer psödoinklüzyon	23
Resim 2.6. Psammom cisimleri	24
Resim 2.7. Papiller yapılanma gösteren klasik varyant PTC	25
Resim 2.8. Foliküler varyant PTC	26
Resim 2.9. Onkositik varyant PTC	27
Resim 2.10. Diffüz Sklerozan Varyant PTC	28
Resim 2.11. Hashimoto Tiroiditi	34
Resim 3.1. PD-L1 antikoru ile negatif / skor 0 boyanma	50
Resim 3.2. PD-L1 antikoru ile skor 1 boyanma	51
Resim 3.3. PD-L1 antikoru ile skor 2 boyanma	51
Resim 3.4. BRAF V600E antikoru ile negatif / skor 0 boyanma	52
Resim 3.5. BRAF V600E antikoru skor 1 boyanma	53
Resim 3.6. BRAF V600E antikoru ile skor 2 boyanma	53
Resim 3.7. BRAF V600E antikoru ile skor 3 boyanma	54

TABLÖLAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Differansiye tiroid kanserlerinde TNM evrelemesi	13
Tablo 4.1. Papiller Tiroid Kanseri hastalarının klinikopatolojik verileri	57
Tablo 4.2. Lenf nodu metastazı ve tümör multifokalitesinin değerlendirilmesi	57
Tablo 4.3. Lenfovasküler invazyon ve tümör multifokalitesinin değerlendirilmesi	57
Tablo 4.4. Lenfovasküler invazyon ve minimal ekstratiroidal yayılımın değerlendirilmesi	58
Tablo 4.5. Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu ve minimal ekstratiroidal yayılımın değerlendirilmesi	58
Tablo 4.6. HT ve cinsiyetin karşılaştırılması	58
Tablo 4.7. Tümör varyantlarındaki HT durumu	59
Tablo 4.8. PD-L1 skorlanması ve klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması	60
Tablo 4.9. BRAF V600E skorlanması ve klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması	65
Tablo 4.10. PD-L1 ve BRAF V600E skorlarının karşılaştırılması	66

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Papiller tiroid karsinomu (PTC) endokrin organların en sık görülen malignitesidir ve insidansı son on yılda artmıştır (1). PTC, tiroid kanserlerinin yaklaşık % 90'ını oluşturur (2). Özellikle HT olan hastalarda, genel popülasyon insidansının iki katından fazla olduğu düşünülen PTC geliştirme riski mevcuttur. Prognoz mükemmel olup 10 yıllık genel sağ kalım %90'ın üzerindedir, bununla birlikte tanı anında ileri hastalığı olanlarda sonuçlar daha kötüdür (3). Bu hastaların %10'undan fazlasında, özellikle lenf nodu metastazı bulunan hastalarda, kanser nüksü veya uzak metastaz gelişebilir ve kansere bağlı ölüm oluşabilir (2, 3). İlerlemiş hastalığa sahip bu hasta grubunda cerrahi ve radyoaktif iyot ablasyonu ile birlikte yeni terapötik stratejilerin kullanılması yararlı olabilir (3).

Son yıllarda PTC gelişimden ve invazivliğinden sorumlu olduğu düşünülen bir takım moleküler yollar aydınlatılmıştır. Bu bağlamda en çok kabul gören BRAF V600E mutasyonunun belirgin bir rol oynadığı RAS-RAF-MEK-ERK (mitogen-aktif edici protein kinaz) yolu olduğu olmuştur. İnsan kanserleri, immün sistem tarafından potansiyel olarak tanınabilen neoantijenler üreten çok sayıda genetik ve epigenetik değişiklik barındırır (2). PD-1 ve bunun ligandı olan PD-L1 melanom ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri gibi birçok kanserde tedavi için umut verici immünoterapötik rolü vurgulanmıştır (4, 5). Her ikisi de hücre yüzey glikoproteinleri olup makrofaj kökenli hücrelerde ve T hücrelerinde normal olarak eksprese edilir. PD-1'in ligandlarından biri olan PD-L1 veya PD-L2'ye bağlanması, sitotoksik T hücre yanıtını inhibe ederek PD-L1 veya PD-L2'yi eksprese eden hücrelerin immün toleransına yol açabilir. Tümör mikroçevresindeki IFN γ salınımı ve onkogenik sinyalleme sayesinde PD-L1 tümör hücrelerinde yapısal olarak eksprese edilir (4). PD-1/PD-L1 eksenini, normal fizyolojik durumda otoreaktif T hücrelerini inhibe etmek için kritiktir, ancak immün yanıtı kaçmak için neoplastik hücreler tarafından manipüle edilebilir. PD-L1 ve PD-L2 gibi immünmodülatör proteinlerin neoplastik hücrelerde ekspresyonu birçok malignitede tanımlanmış olup agresif klinikopatolojik seyir ve kötü prognoz ile ilişkilidir (3). Melanom, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, renal hücreli karsinom, prostatik karsinom ve kolorektal karsinom gibi kanserlerde PD-1 ve PD-L1 antikollarının kullanıldığı klinik denemeler cesaret verici sonuçlar sunmaktadır (2).

Differansiye tiroid karsinomlu hastalarda cerrahi ve postoperatif RAİ temel tedavi prosedürü olmakla birlikte bazı PTC hasta grubunda RAİ tedavisine yanıt alınmadığı durumlar mevcuttur. Bu RAİ tedavisine dirençli PTC vakalarında BRAF V600E

mutasyonu insidansı daha fazla olarak bulunmuştur (6). Bu bağlamda RAI'ye dirençli PTC vakalarında yeni tedavi modaliteleri geliştirmek önem kazanmıştır. PTC olgularında özellikle BRAF V600E mutasyonu statüsü göz önüne alındığında PD-L1 ekspresyon durumu ile ilgili literatürde çok az bilgi mevcut (2, 4). Bu nedenle BRAF V600E statüsü ile PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi incelemek immünoterapi için aday seçiminde kullanılabileceğinden büyük önem arz etmektedir. Bu bilgiler ışığında PTC'li vaka grubunda BRAF V600E statüsünü immünhistokimyasal olarak belirleyerek bu vakalarda PD-L1 ekspresyon oranlarının ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

Bu çalışma ile PTC olgularında BRAF V600E mutasyonun varlığının immünhistokimyasal olarak değerlendirilmesi ve mutasyonu içeren vakaların PD-L1 boyanma oranlarının ve HT zemininde gelişmiş PTC vakalarının PD-L1 boyanma oranlarının araştırılması amaçlanmıştır. Daha önce literatürde yapılan çalışmalarda BRAF V600E ile PD-L1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş olup RAI tedavisine refrakter PTC vakalarının PD-L1'i hedefleyen immünoterapilerle tedavi edilebileceği önerilmiştir. Bizim çalışmamız HT zemininde gelişmiş PTC'de PD-L1 ve BRAF V600E ekspresyonunu da değerlendirmeyi hedeflemektedir. Bu bağlamda PD-L1 ve BRAF V600E ekspresyonlarının kıyaslanması, klinikopatolojik veriler ile ilişkisinin gösterilmesi hedeflenmiş olup tedaviye dirençli vakalarda PD-L1 üzerinden etki eden yeni tedavi modalitelerinin PTC vakalarında kullanılabilirliğine dair literatüre katkıda bulunmak amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tiroid Embriyolojisi

Tiroid bezi embriyoda gelişen ilk endokrin organdır. Bir medial ve iki lateral taslaktan gelişir (7). Medial taslak fertilizasyonun yaklaşık 24. Gününde median bir endoderm kalınlaşmasından gelişmeye başlar (8). Embriyodaki bu taslak erişkindeki dilin foremen çekumuna karşılık gelen bir orta hat yapısıdır (9). Hyoid ve larinks kıkırdaklarının ventralinden geçerek orta hat boyunca tiroglossal kanalın bir komponenti olarak aşağı iner, kısa süre içerisinde tiroglossal kanal ile dile bağlanır (8, 9). Aşağı doğru hatalı göç veya tiroglossal kanalın artıkları, ektopik tiroid dokusu, tiroglossal kanalı kistleri ve servikal fistüller gibi gelişimsel anomalilere neden olur (7). Tiroglossal kanal hiyoid kemiğin anteriorunda yer alır ve oblitere olurken normal bireylerin %40'ında piramidal lobu oluşturacak şekilde kaybolur (9).

İki lateral taslak ise 4. brankial poş kompleksinden köken alan ultimobronşial cisimciklerden meydana gelir. Paratiroid taslağı ile birlikte aşağı inerek, 8-9. haftalarda median tiroid taslağı ile birleşir (7).

Tiroid taslakları 2. ve 3. trakea halkaları önünde istmus, sağ ve sol lobları oluşturacak solid bir yapı halini alır. 7. haftada tiroid bezinin tam şeklini aldığı ve normal konumuna ulaştığı düşünülmektedir (8). Folliküler hücre kord ve tabakaları bu haftada oluşmaya başlar. Folliküller ise 10. Haftada oluşur (7).

C hücreleri nöral krest kökenlidir ve tiroid oluşumundan önce ultimobronşial cisimciklere göç eder (7).

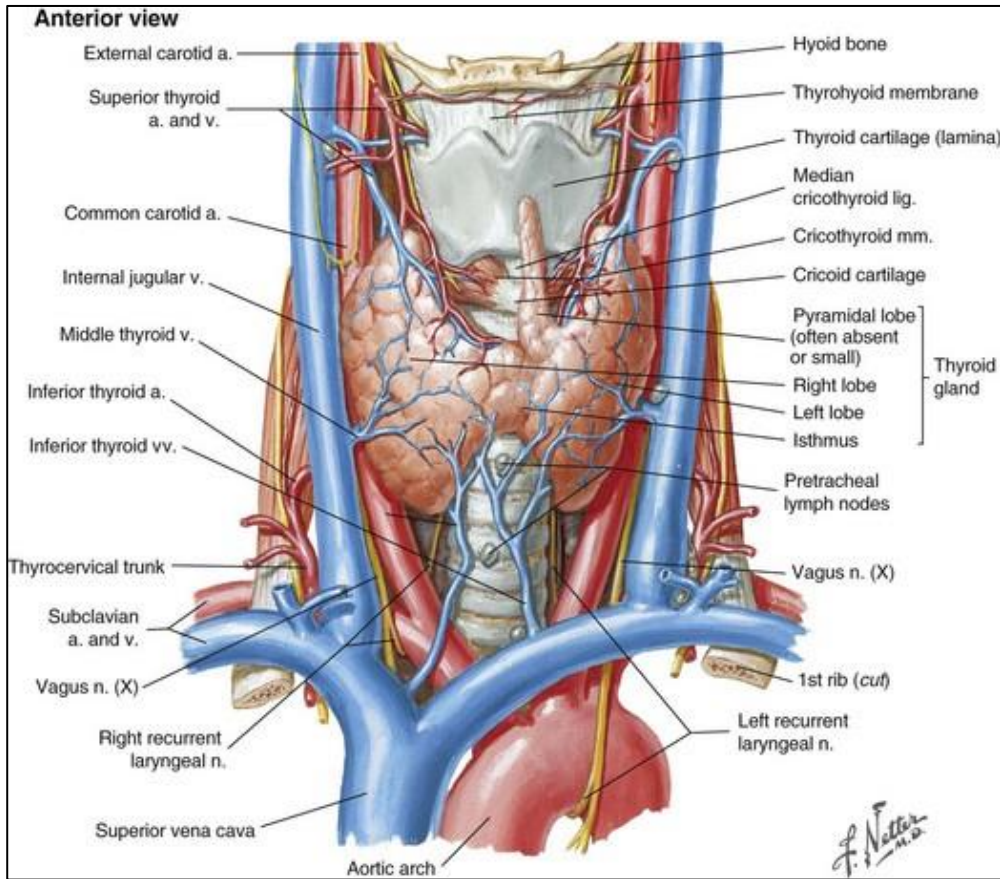
2.2 Tiroid Anatomisi

Tiroid bezi fascia servikalisin lamina pretrachealisinden çıkan bir kılıf içerisinde yer almakta olup komşu yapıları olan trakea ve larinkse yapışıktır. Larinkse yapışık olması nedeniyle yutkunma esnasında larinksin hareketini takip eder. Trakea ile yakın komşuluğu nedeniyle patolojik büyüme esnasında trakeaya bası yapabilir (10). Tiroid bezi C5-T1 vertebrae arasında yerleşim göstermektedir (11). Tiroid bezi bezin parankimine de uzanımlar gösteren kapsüla fibroza adı verilen bağ dokusundan bir kapsüle sahiptir.

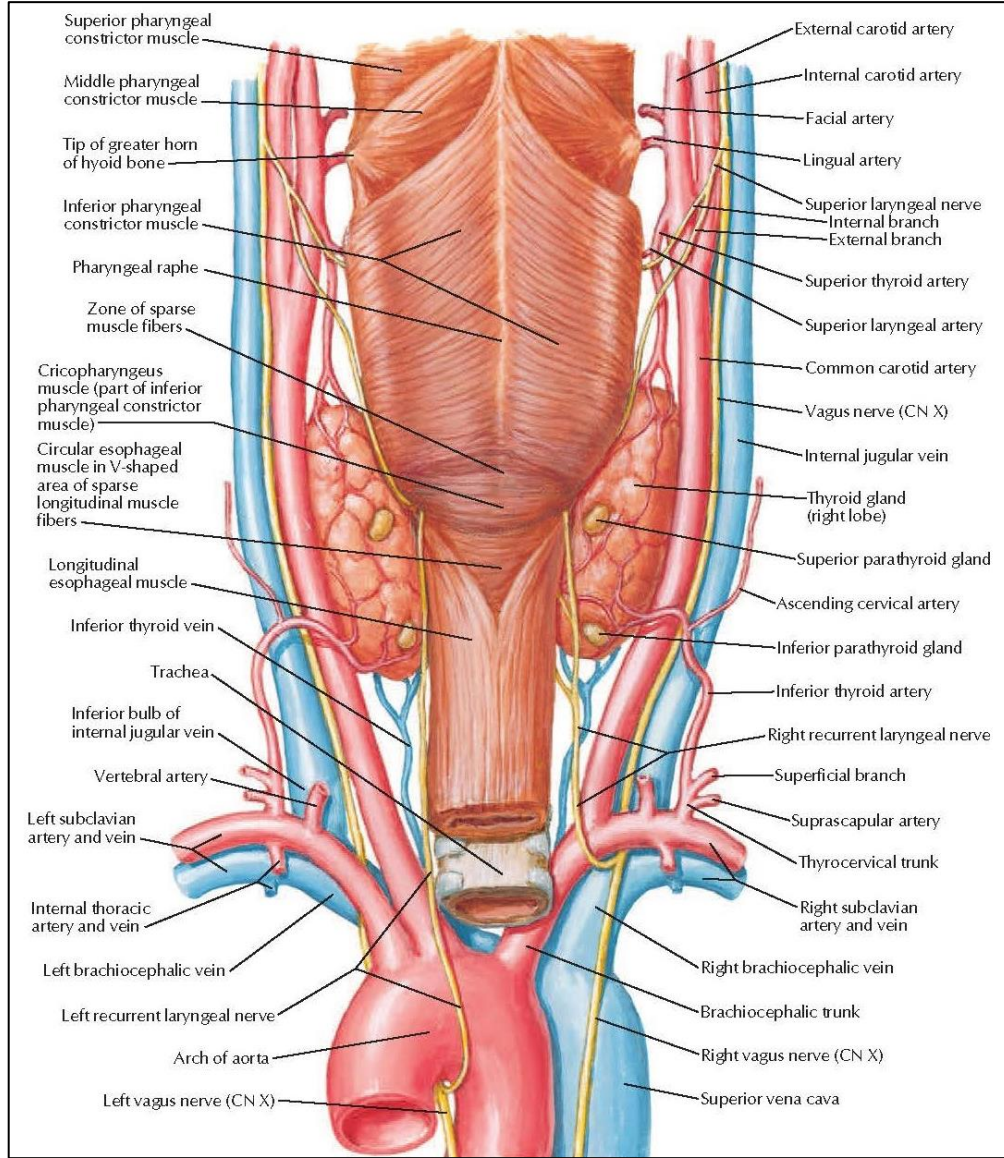
Normal erişkin tip tiroid bezi kahverengi-kırmızı renkli, kelebek şeklinde olup iki lateral (sağ ve sol) lob ve bunları birbirine bağlayan istmusdan oluşmaktadır. Her iki lateral

lob yaklaşık 2-2,5 cm genişliğinde, 5-6 cm uzunluğunda ve 2 cm derinliğindedir. Bir lob diğerinden daha büyük boyutta olabilmektedir. İstmus ise değişken derecede genişliğe sahip olabilir. Tiroid glandında %40 oranında piramidal lob bulunur ve genellikle istmus üzerinde uzanım göstermektedir. Normal erişkin tiroid glandının ağırlığı 15-25 gr arasında değişmektedir (7). Ağırlığı menstürasyon ve gebelik dönemlerinde artar (11) (şekil 2.1).

Lateral lobların arka yüzünde, tiroidin fibröz kapsülü ile lamina pretrachealis arasında bilateral, iki çift paratiroid bezi, arteri A. thyroidea inferior ve siniri N. laryngeus recurrens bulunur (11). Karmaşık ve zengin bir lenfatik ağa sahiptir. Lenfatik damarları aşağıdaki nodlara drene olan toplayıcı damarları oluşturmak üzere, subkapsüler bölgede birleşirler: (1) perikapsüler; (2) iç juguler zincir; (3) pretrakeal, paratrakeal ve prelarengeal (isthmus yakınında bulunan pretrakeal düğüm bazen Delphian düğümü olarak adlandırılır); (4) tekrarlayan laringeal sinir zinciri; ve (5) retrofaringeal ve retroözofageal (9) (şekil 2.2).



Şekil 2.1. Tiroid bezi anatomisi- anterior görünüm (Tiroid bezi Netter FH, MD. İnsan Anatomisi Atlası, Netter (3rd ed). 2003).



Şekil 2.2. Tiroid bezi anatomisi- posterior görünüm (Tiroid bezi Netter FH, MD. İnsan Anatomisi Atlası, Netter (3rd ed). 2003).

2.3 Tiroid Histolojisi

Tiroid histolojisinin temel yapı taşı olan folikül oval yuvarlak bir yapı olup bazal membran üzerine oturmuş tek katlı kübik epitelyal hücrelerden meydana gelir (7) (şekil 2.3). Bu hücreler lipozomlar, ve endoplazmik retikulum ve küçük mitokondri kompleksi içerir. Nukleusları yuvarlak olup homojen kromatin yapısına sahiptir. Bu follikül hücreleri ile döşeli yapının lümeninde kolloid bulunur (12). Kolloid folliküler hücrelerinden sekrete edilen proteinlerin oluşturduğu visköz materyaldir. Folliküller gevşek bir bağ doku ile birbirinden ayrılır. Follikül boyutu fonksiyonel durumuna göre farklılık göstermekte olup ortalama boyutu 200 µm'dir. Hiperplastik ve neoplastik durumlarda çevrede basıya

uğrayan folliküller uzamış bir görünüm alabilir (7). İntralüminal kolloid aktif foliküllerde yeniklenmiş görünümde olup soluk eozinofilik boyanırken, inaktif foliküllerde koyu eozinofilik boyanmaktadır. Değişken oranlarda PAS (periyodik asit schiff) pozitifler. Lümeninde hemen her zaman miktarı yaşla birlikte artış gösteren kalsiyum oksolat kristalleri bulundurulur. Bu kristallerin varlığı özellikle frozen kesitlerde tiroid dokusunu paratiroid dokusundan ayırmamıza yardımcı olabilir (9). Tirogloblinin içerisindeki asidik gruplara bağlı kolloid amfofilik veya bazofilik boyanabilir (7). Hiperplastik durumlarda belirgin hale gelen aktif olarak sekresyon yapan glandlarda görülen daha geniş folliküllerin lümenine protrude olan daha küçük follikül toplulukları ile karakterli durum "Sanderson's Polster" olarak adlandırılmaktadır (9).

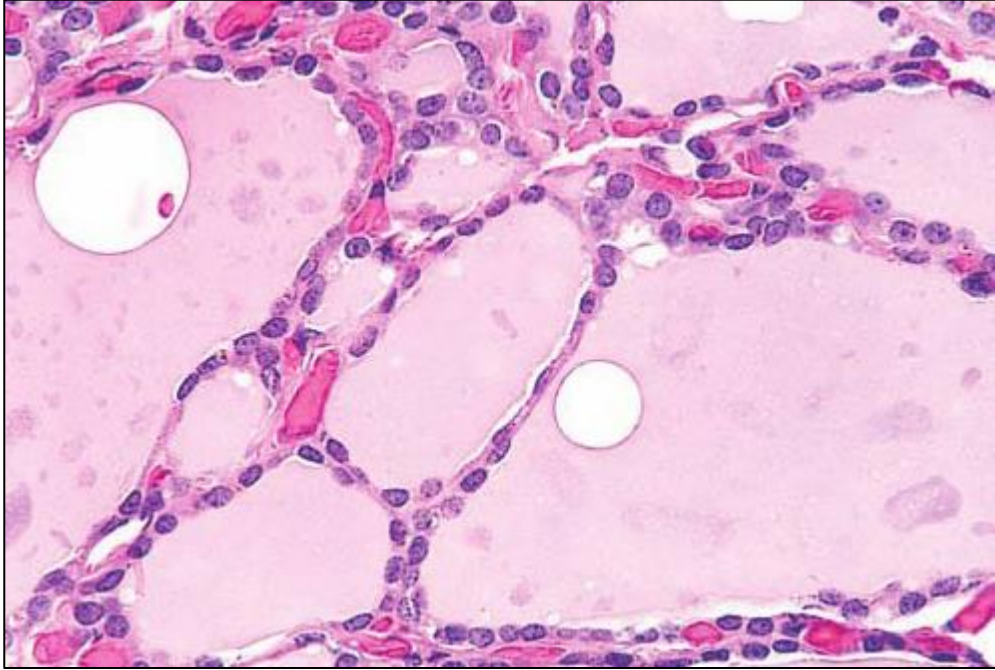
Döşeyici hücreler folikül hücreleri ya da tirosit olarak da isimlendirilmekte olup çeşitli şekil ve boyutlardadırlar. Flattened (endotel benzeri), kuboidal ve kolumnar olmak üzere üç ana morfolojide karşımıza çıkmaktadırlar. Endotel benzeri flattened hücreler görece inaktiftir. Kuboidal hücreler çok sayıda olup kolloidi salgılayan hücrelerdir. Daha az sayıdaki kolumnar hücreler ise tiroglobulin içeren kolloidi yeniden absorbe ederek, aktif hormonlara dönüştüren ve kan dolaşımına girmesini sağlayan hücrelerdir. Tüm follikül hücre tipleri bazal membran üzerine oturmuş basal kısımları ve follikül lümenine bakan apikal kısımlarıyla belli bir polirasyon göstermektedirler. Dinlenme halindeki follikül hücreleri santral yerleşimli oval-yuvarlak nükleusu, ekzantirik yerleşimli bir nükleol içermekte olup, granüler veya kümelenmiş kromatin yapısına sahiptir. Aktif follikül hücrelerinde, nükleus daha büyük, bazal yerleşimli, sitoplazması ise daha geniş olup apikal yerleşimlidir. Sitoplazma, koyu eozinofilik granüler bir görünüm kazanan onkositik hücrelerin oluştuğu durumlar haricinde soluk eozinofilik özelliktedir (7).

Folikül hücrelerinin immünprofilinde sitoplazmik tiroglobulin pozitifliği izlenmektedir. Kolloidal materyal de tiroglobulin ile immünreaksiyon göstermektedir. Ayrıca TTF-1 ve düşük molekül ağırlıklı keratinle de pozitif reaksiyon vermekte olup, değişken oranlarda EMA, vimentin ve östrojen/progesteron reseptörleri ile de immünreaksiyon izlenmektedir (9).

Tiroid glandının diğer bir majör epitelyal komponenti kalsitonin salınımından sorumlu olan C hücreleri ya da parafoliküler hücrelerdir. Bu hücreler nöral krest kökenli olup tiroide ultimobronşial cisimcikler yoluyla ulaşırlar bu nedenle C hücreleri, tiroidin üst orta kısmında ve lateral lobların üst 1/3'ünde yer alır. Sayıları yaşa bağlı olarak değişkenlik göstermekte olup infantlarda ve ileri yaşta sayıca daha fazladırlar. Hatta ileri yaşta nodüler agregatlar oluşturabilirler. Bu hücreler nörosekretuar tip yoğun kor granüllere sahiptir (9).

Normal tiroid stromasında az sayıda plazma hücreleri ve birkaç adet lenfositik gruba rastlanmaktadır. Bu yapılar lenfosittik tiroiditlerde daha abartılı olabileceği gibi normal tiroid dokusunda da bulunabilmektedir. Stromada tiroid lobüllerini ince fibröz septalar ayırmakta olup kişisel değişkenlikler mevcuttur (13).

Tiroid dokusunda ultumobronşial cismlerin artığı olduğu düşünülen neonatallerin tiroidinde %90 oranında tespit edilen solid hücre adaları mevcuttur. Yer yer şeffaf hücreler içeren poligonal oval hücrelerden oluşurlar. Müsinöz sekresyon içeren lüminalar bulunabilir. Metaplastik folliküller, C hücre hiperplazisi ve papiller mikrokarsinomdan ayırd edilmeleri gerekmektedir. Bu solid adalar haricinde epitel dōşeli kistler, ektopik paratiroid, ektopik timus dokusu, tükürük bezi dokusu veya heterotopik kartilaj gibi brankial poşla ilişkili bazı embriyolojik artıklar da tiroid içerisinde görülebilir (9).



Şekil 2.3. Tiroid bezi histolojisi. Lümeninde kolloid bulunan oval yuvarlak bir yapıya sahip folliküller ve folikülleri dōşeyen bazal membran üzerine oturmuş tek katlı kübik epitelyal hücreler

2.4 Tiroid Fizyolojisi

Tiroid bezi vücut metabolizması üzerine etkili tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3) olarak adlandırılan iki önemli hormon salgılar. Kalsiyum metabolizmasını düzenleyen kalsitonin hormonu da burada sentezlenir. Tiroid bezi fonksiyonunun tamamen durması sonucunda bazal metabolizma hızı normalin %40 altına iner. İleri derecede artan tiroid bezi salgısı ise metabolizma hızını %60 - %100 oranında arttırır. Tiroid tarafından salgılanan

hormonların %93'ünü T4, %7'sini T3 oluşturur. Bu hormonların yapımını ön hipofizdeki tirotropik hücrelerden salınan TSH kontrol eder. Tiroksin oluşumu için yaklaşık haftada 1 mg iyot alımı gerekmektedir. Gıdalar yoluyla alınan ve sonrasında dolaşıma geçen iyodun yaklaşık 1/5' i tiroid bezi tarafından alınır. İyodun tutulmasında başta TSH olmak üzere çeşitli faktörler etki gösterir (14).

Tiroglobulin endoplazmik retikulum ve golgi aparatında üretilir ve folikül hücresi içerisine salgılanır. Tiroglobulin molekülü, 70 adet tirozin aminoasidi içerir ve bu aminoasit tiroid hormonlarını oluşturmak üzere iyotla birleşir. Bu birleşmenin olabilmesi için iyodun peroksidaz enzimi ile okside olması gerekmektedir. Bu enzimin yokluğunda tiroid hormonu oluşamaz. Okside olan iyot, iyodinaz enzimi ile tiroglobulin içerisinde bulunan tirozin aminoasidi ile birleşir. Tirozin önce monoiyodotirozine, sonra diiyodotirozine iyotlanır. Monoiyodotirozin ve diiyodotirozin birleşerek triiyodotirozini oluşturur. Ancak ana ürünü tiroksindir. Bu işlemten sonra her bir tiroglobulin molekülü içerisinde 30 tiroksin molekülü ve az miktarda tiroiyodotironin molekülü depolanır. Tiroglobulin epitelden folikül lümenindeki kolloide boşalır. Kolloid damlacıkları epiteldeki primer lizozomla birleşir. Tiroglobulin lizozomdaki proteolitik enzimler tarafından sindirilir. Serbest kalan T3 ve T4 hücreden perifoliküler kapillerler ve lenfatiklere geçer. Esas aktif hormonlar serbest T3 (fT3) ve serbest T4 (fT4)'dür (12).

Tiroidden salınan hormonların büyük kısmını T4, az bir kısmını T3 oluşturmaktadır. Buna rağmen periferde ve kanda T4'ün büyük kısmı daha aktif olan T3 formuna çevrilir. Serbest T3 ve T4 hücre membranından geçerek hücre içerisindeki spesifik reseptörüne bağlanır. Bu etkileşim sonucunda bazal metabolizma hızında artışa sebep olan karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasında değişiklikler izlenir (14).

Tiroidden salgılanan diğer bir hormon ise kalsitonindir. Bu hormon parafoliküler C hücrelerinin sitoplazmalarında granüller halinde depolanmakta olup en yakın kan kapillerlerine ekzositozla boşaltılır ve kan kalsiyum düzeyini etkiler. İskelet sistemi tarafından kalsiyum emilimini artırır. Sonuç olarak kan kalsiyum seviyesini düşürerek kemik rezorbsiyonunu önler (15).

2.5 Tiroid Glandının Makroskopik Örneklenmesi

Cerrahi patolojik incelemelerde çoğu zaman tiroid bezi ile ilgili karşımıza nodülektomi (tiroid nodülünün enükleasyonu), lobektomi, subtotal tiroidektomi veya total tiroidektomi gibi spesmenler gelmektedir.

Tiroid materyaline makroskopik yaklaşımda öncelikle spesmene oryante olunur, spesmen tipi belirlenir, boyutları ölçülür ve tartılır. 5 mm kalınlığında uzunlamasına kesiler atılır ve çevrede paratiroid bezi veya lenf nodu varlığı araştırılır (9).

Materyal oryantasyonunda; tiroid bezinin ön yüzünün daha konveks ve arka yüzünün ismik alanda trakeanın yerleştiği kısmın olduğu dikkate alınmalıdır ancak multinodüler guatr hastalarında nodüllerin düzensiz büyümesi ve yerleşmesi nedeniyle bu oryantasyonun yapılması zorlaşabilmektedir. Bu durumda cerrahi ekibin materyali işaretlemesi veya lobları ayrı ayrı göndermesi uygun olacaktır. Tiroid bezinin gerçek bir kapsül yapısı yoktur, derin servikal fasyanın uzantısı olan inkomplet fibroadipöz doku bezi sarar ve stromayı oluşturmak için bez içerisine uzantılar gönderir. Ayrıca istmus komşuluğunda musculus levator glandulae kası parankim içine ve psödokapsüle uzanımlar göstermektedir. Makroskopik incelemede tiroid dış yüzeyinin boyanması, subkapsüler karsinomların cerrahi sınır durumunun belirlenmesine ve tiroid dışı yumuşak dokulara tümör yayılımının değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Materyal dilimlendikten sonra en az 5 katı kadar formol içerecek şekilde 24 saat formalin ile fiksasyona bırakılır, daha büyük materyallerde daha uzun süre beklenebilir. Fiksasyon sonrasında kesit yüzeyleri dikkatle incelenir. Nodül varlığında nodüllerin görünümü, sayısı, boyutu, yerleşim yeri, sınırları, kapsül varlığı ve cerrahi sınırlara uzaklığı değerlendirilir. Nodüllerde kanama, kalsifikasyon, nekroz varlığı incelenir.

Diffüz veya inflamatuvar lezyonlarda her lobdan üçer örnek ve istmusdan bir örnek alınması önerilmektedir. 5 cm' e kadar olan enkapsüle nodüllerin çevresinin tümü ve boyutu arttıkça her artan cm başına birer örnek daha alınmalıdır. Kapsül ve çevre doku ilişkisi iyi örneklenmelidir. Multinodüler tiroid glandında 5 nodüle kadar tüm nodüllerden çevre normal tiroid dokusu ilişkisini gösterecek şekilde birer örnek alınmalı ayrıca daha büyük nodüllerde örnek sayısı artırılmalıdır. Papiller karsinom vakalarında tüm tiroid glandı cerrahi sınırları ayrıca olacak şekilde örneklenmelidir. Papiller karsinom dışı invaziv karsinomlarda tümörden üç örnek tümör dışı tiroidden 3 örnek ve rezeksiyon sınırından 1 örnek alınmalıdır. Ayrıca tüm vakalarda paratiroid glanlarının tümü örneklenmelidir (9).

2.6 Tiroid Tümörlerinin Genel Özellikleri

2.6.1. İnsidans ve Epidemiyoloji

Tiroid maligniteleri endokrin sistem tümörleri arasında en sık görülen malign tümörlerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm kanserlerin %1'ini, kanserden ölümlerin ise %0,2'sini oluşturmaktadır. Tiroid kanserlerinin ise en sık görülen tipi PTC'lerdir ve diyetle iyot eksikliği olmayan ülkelerde tiroid malignitelerinin %80-85'i oluşturlar (12).

Türkiye Kanser Araştırmaları Birliği'nin verilerine göre Türkiye'deki tiroid kansinomlarının sıklığı 8/100000 olarak bildirilmiştir (16).

Tiroid kanserleri çocuklarda nadir olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsidansı ikinci dekatta artmaya başlar ve 5. ve 6. dekatlarda pik yapmaya devam eder en sık görülen üç kanser tipi papiller karsinom (%80), folliküler karsinom (%15) ve medüller karsinom (%3)'dur. Anaplastik karsinom çok daha nadir görülmekte olup daha yaşlı hasta grubunda karşımıza çıkar (17).

2.6.2. Etiyoloji ve Patogenez

Tiroid tümörlerinin gelişiminde genetik yatkınlık, endojen hormonal faktörler ve çevresel risk faktörleri rol oynar. Çevresel etkenler genotoksik ve nongenotoksik etkiler olmak üzere ikiye ayrılır. Genotoksik etkiler RAI'ye bağlı, nongenotoksik etkiler ise iyot eksikliğine bağlı oluşan TSH stimülasyonu sonucu görülmektedir (15).

İyonize radyasyona maruz kalmak RET ve TRK rearanjmanına yol açan DNA kırıklarına yol açması nedeniyle tiroid kanseri gelişiminde risk faktörüdür. Geçmiş yıllarda akne, tinea kapitis, servikal tüberküloz lenfadenit ve timik büyüme gibi benign hastalıkların tedavisi amacı ile baş ve boyun bölgesine uygulanan radyasyona bağlı olguların %9'unda 10 yıl sonra tiroid kanseri gelişmiştir. Ayrıca 1986 yılındaki Ukrayna'da Çernobil nükleer kazasından sonra radyasyona maruz kalan çocukların büyük kısmında tiroid kanser insidansının artış gösterilmesi iyonize radyasyon etkilerine örnek teşkil etmektedir (18).

Var olan benign tiroid nodülü/adenomu veya multinodüler guatr, tiroid kanseri gelişiminde rol oynayan diğer bir risk faktörüdür. Kanser gelişim riski tanı aldıktan sonra ilk 10 yılda risk en yüksektir. Kanser gelişim riski bu 10 yılı izleyen süre boyunca da

yüksek kalır. İyi diferansiye tiroid kanseri olan hastaların yaklaşık %15, anaplastik karsinom tanısı alan hastaların da yaklaşık %25’inde nodüler guatr mevcuttur (17).

Tiroid fonksiyonu yetersizlikleri nedeniyle sürekli ve şiddetli TSH uyarımı sonucunda tiroid bezinde düzensiz büyüme görülür. İyot eksikliği, tiroidin hormon üretme yeteneğindeki yetersizlik, diyetle veya ilaç olarak alınan guatrojenler TSH oranındaki artışa neden olarak tiroid kanseri riskini yükseltir (19). İyot alımının fazla olduğu ülkelerde alımın az olduğu ülkelere kıyasla PTC daha sık görülmektedir.

PTC lenfosittik tiroidit ile anlamlı bir ilişki göstermektedir (18).

2.6.3. Klinik Bulgular, Tanı ve Tedavi

Tiroid tümörleri klinikte sıklıkla asemptomatik nodüller şeklinde karşımıza çıkmakla birlikte, yutkunmada güçlük ve nefes almada zorluk gibi klinik bulgular gösterebilir (17).

Klinik ve radyolojik bulgular malignite şüphesini işaret ettiğinde ince iğne aspirasyonu kesin tanı koydurucu yöntemdir (20). İnce iğne aspirasyon biyopsileri en güvenilir olan yöntemdir ve %70-80 vakada kesin benign veya malign tanısı koydurmaktadır. Diğer vakalar belirsiz gruba girmekte olup bu grubun büyük bir kısmını folliküler lezyolar oluşturmaktadır. BT ve MR görüntülemeler lenf nodu tutulumunu ve çevre dokular tümör yayılımını belirlemede kullanılabilmektedir (17). Şüpheli lenf nodu varlığında ince iğne aspirasyonu yapılması cerrahi prosedüre ek lenf nodu diseksiyonu gerekip gerekmeyeceği konusunda yol gösterici olabilir. Klinik olarak metastaz şüphesi varlığında BT, MR, radyonükleotid kemik taraması ve pozitron emission tomografi (PET) gibi ek tetkikler kullanılabilir (21).

Tiroid kanseri tanısı alan hastalarda çoğunlukla total yada totale yakın tiroidektomi yapılmaktadır. Lenf nodu diskesiyon medüller karsinom ve nodal tutulumu olan hastalarda tiroidektomiye eklenmektedir. Belirsiz tanı grubunda lobektomi yapıp intraoperatif incelmede malign tanısı alan vakalarda tamamlayıcı tiroidektomi uygulanmaktadır (17).

Primer tümör kategorizasyonunda histolojik değerlendirmede ölçülen en büyük tümör boyutu kullanılmalıdır. Ekstratiroidal yayılım ve gross ileri hastalık tiroid çevresi yumuşak dokuya tümör uzanımı olarak tanımlanmaktadır. Lenf nodu metastazı daha çok santral (level VI) bölge lenf nodlarına olmaktadır (21).

Postoperatif RAİ tedavisi differansiye tiroid karsinom vakalarında tümör boyutu 1 cm’in üstünde, multifokal veya ekstratiroidal yayılım olduğunda verilmektedir. RAİ

tedavisi ayrıca rezidü mikroskopik ve metastatik hastalığı elimine etmek ve geride kalan normal tiroid dokusunu ortadan kaldırıp klinik tedaviyi kolaylaştırmayı sağlamaktadır. Differansiye tiroid karsinomunun uzun süreli takiplerinde USG ve serum tiroglobulin değerleri kullanılmaktadır. (17).

2.6.4. Tümör Evrelemesi

Klinik evrelemede sıklıkla Amerikan Kanser Komitesi'nin (American Joint Committee on Cancer - AJCC) oluşturduğu evreleme sistemi kullanılmaktadır (21).

AJCC TNM tanımları

Primer tümör (pT):

Papiller, Foliküler, Az diferansiye, Hurtle hücreli ve Anaplastik Tiroid Karsinomları için;

- pTX: Değerlendirilemiyor
- pT0: Primer tümör bulgusu yok
- pT1: Tümör boyutu 2 cm veya daha az, tiroidle sınırlı
 - pT1a: Tümör, tiroidle sınırlı en büyük boyutta 1 cm veya daha az
 - pT1b: Tümör boyutu 1 cm'den fazla 2 cm'den azdır, tiroidle sınırlıdır.
- pT2: Tümör 2 cm'den büyük 4 cm'den küçüktür, tiroid ile sınırlıdır.
- pT3: Tümör boyutu 4 cm'den daha fazla, tiroid ile sınırlı veya yalnızca strep kasları invaze eden ekstratroidal yayılım mevcut
 - pT3a: Tümör boyutu 4 cm'den daha fazla, tiroid ile sınırlı
 - pT3b: Tümör herhangi bir büyüklükte, strep kaslara (sternohyoid, sternotiroid, tirohyoid veya omohyoid kaslar) invazyon göstermekte
- pT4: Strep kaslar haricinde gross ekstratiroidal yayılım mevcut
 - pT4a: Tümör herhangi bir boyuttadır, deri altı yumuşak dokular, larenks, trakea, özofagus veya laringeal sinire invazedir.
 - pT4b: Tümör prevertebral fasyayı veya karotid arteri veya mediastinal damarları invaze eder.

Bölgesel Lenf Nodu (pN):

- pNX: Değerlendirilemiyor

- pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok
- pN1: Bölgesel lenf nodu metastazı
- pN1a: Level VI ve Level VII (pretrekeal, paratrekeal, prelaringeal/Delphian, üst mediastinal) lenf nodlarına metastaz mevcut
- pN1b: Unilateral, bilateral veya kontralateral boyun lenf nodlarına veya retrofaringeal lenf nodlarına (Level I, II, III, IV, V) metastaz mevcut

Uzak Metastaz (pM):

- pMX: Uzak metastaz değerlendirilemiyor
- pM0: Uzak metastaz yok
- pM1: Uzak metastaz var

AJCC prognostik evre grupları

Tablo 2.1. Differansiye tiroid kanserlerinde TNM evrelemesi

Tanı anındaki hasta yaşı	pT	pN	pM	Evre
55 yaş altı	Herhangi T	Herhangi N	M0	Evre I
55 yaş altı	Herhangi T	Herhangi N	M1	Evre II
55 yaş ve üstü	T1	N0/NX	M0	Evre I
55 yaş ve üstü	T1	N1	M0	Evre II
55 yaş ve üstü	T2	N0/NX	M0	Evre I
55 yaş ve üstü	T2	N1	M0	Evre II
55 yaş ve üstü	T2T3a/T3b	Herhangi N	M0	Evre II
55 yaş ve üstü	T4a	Herhangi N	M0	Evre III
55 yaş ve üstü	T4b	Herhangi N	M0	Evre IVa
55 yaş ve üstü	Herhangi T	Herhangi N	M1	Evre IVb

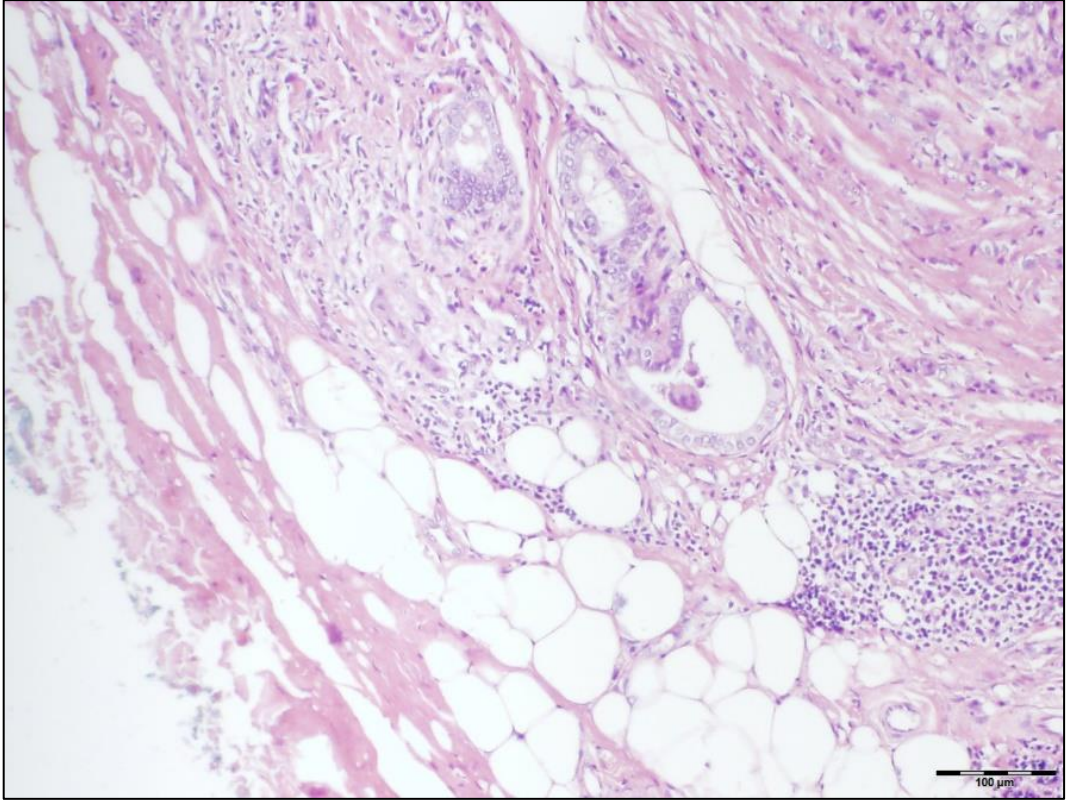
2.6.5. Prognostik Faktörler

Tanı anındaki yaş

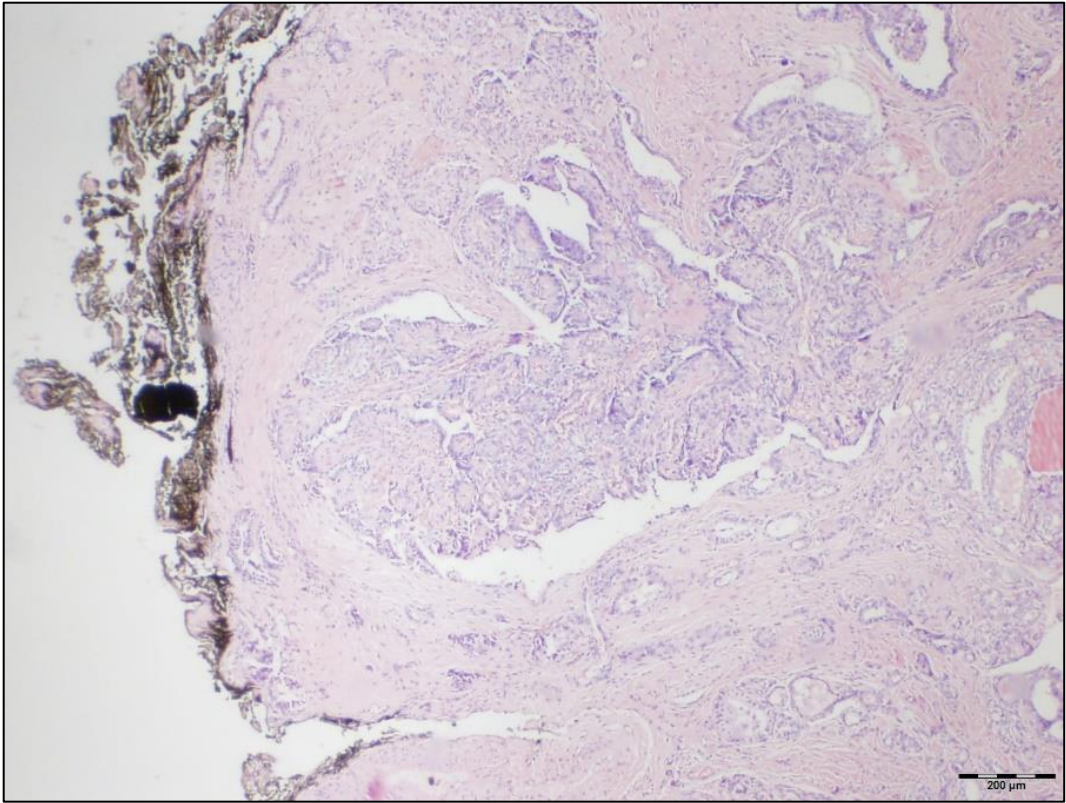
Çoğu maligniteden farklı olarak, tiroid kanseri tanısında yaş hastalığa özgü sağkalım (HÖS) için bağımsız prediktif faktör olarak tanımlanır. 1979 yılındaki yayınlarda differansiye tiroid karsinomlarında 45 yaş üzerindeki hastaların gidişatının daha kötü olduğu gösterilmiş (22). Son zamanlarda yapılan uluslararası çok merkezli retrospektif bir çalışma, yaş sınırını 45'ten 55 yıla taşıyarak hasta popülasyonunun % 17'sinin sağkalım eğrileri değişmeden daha düşük bir risk kategorisine indirildiği gösterilmiştir (23, 24). Yaş ve gross ekstratiroidal yayılım, diğer bahsedilecek prognostik parametrelerden farklı olarak evreleme için kullanılmaktadır (21).

Ekstratiroidal yayılım

Major yapıları tutan gross invazyondan sadece histolojik olarak belirlenebilen minimal yayılıma kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Evrelemede önemli yere sahip olan gross ekstratiroidal yayılım intraoperatif veya preoperatif olarak saptanabilir. Histolojik ekstratiroidal yayılımın evrelemede yeri yoktur. Gross yayılım differansiye tiroid kanserlerinde hastalık kalıcılığı/rekürrensini artırıp sağkalımı düşürmektedir (21). AJCC ve çoğu diğer evreleme sistemi gross yayılımı rekürrens belirleyicisi olarak kullanmaktadır (25). Patolojik olarak tiroidin gerçek bir kapsül yapısına sahip olmayışı ve bazı durumlarda kendi yapısında yağ ve kas bulundurabilmesi nedeniyle histolojik olarak minimal ekstratiroidal yayılım tanımı subjektif olabilmektedir (21). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, mikroskobik ekstratiroidal yayılımın (resim 2.1), kalıcı/rekürren hastalık için bağımsız bir prognostik faktör olmadığını göstermiştir (26, 27). Bununla birlikte bazı retrospektif çalışmalar lenf nodu metastazı/ekstranodal tutulumla ilişkili olabileceğini göstermiştir ancak hiçbir kalıcı/rekürrens veya sağkalımla ilişkisi için bağımsız belirleyici olabileceğini göstermemiştir (28, 29). Cerrahi sınır pozitifliği ile histolojik ekstratiroidal yayılım eşdeğer tutululabilir. Mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği (resim 2.2) olan ve olmayan hastaların klinik sonuçlarda farklılık yoktur ancak gross olarak pozitif cerrahi sınır mevcudiyeti yüksek ölüm ve rekürrens riski taşımaktadır (21).



Resim 2.1. Minimal ekstratiroidal yayılım (H&E x100 büyütme)



Resim 2.2. Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu (H&E x40 büyütme)

Lenf nodu metastazı

Yüksek çözünürlüklü görüntüleme, geniş boyun diseksiyonu ve titiz bir histolojik inceleme, PTC'li hastaların % 80'inde bölgesel lenf nodu metastazlarının saptanmasını sağlamaktadır. Çoğu vakada lenf nodu metastazı çok küçük odaklar halinde (<1 cm) karşımıza çıkmaktadır. Bir kısım çalışma lenf nodu metastazının differansiye tiroid karsinomlarında özellikle yaşlı hasta populasyonunda prognostik öneme sahip olduğunu savunmaktayken genç hastalarda tartışmalıdır. N1 hastalık T4a, T4b veya M1 hastalığı ile ilişkili değilse, genel sağkalım üzerindeki etkisi daha düşüktür. Rekürrens riski ile ilgili mevcut verilerin aksine, lenf nodu karakteristiklerinin sağkalım ile ilişkili verileri daha belirsizdir. Birçok çalışma, lateral boyun lenf nodu metastazlarının, azalmış sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermiştir bu durum bölgesel metastazların (santral ve lateral boyun bölmeleri) konumuna göre riski farklılaştırmanın temelini oluşturmaktadır (21). Azalmış sağkalımın lokasyonla mı yoksa metastatik lenf nodlarının büyüklüğü / sayısı ile mi ilişkili olduğu açık değildir. Bazı yayınlarda lenf nodu sayısında survival ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (30).

Çoğu çalışmada ektranodal yayılımın kalıcı/rekürren hastalık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bazı yayınlar ise ektranodal yayılımın ekstratiroidal invazyonla ilişkisini göstermiştir (31). Ayrıca, ektranodal yayılımın sağkalım üzerindeki etkisinin klinik bağlama bağlı olduğu ve BRAF mutant tümörleri ile ilişkili olarak görülen daha önemli etkilerin olduğu görülmektedir (32). Günümüzde hiçbir veri sağkalım üzerini etkisini kesin olarak gösterememiştir. Lenf nodu sayısının da sağkalım ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir, ancak özellikle yaşlı popülasyonda ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Küçük hacimli lenf nodu metastazlarının yapısal hastalık nüksü ve HÖS üzerinde çok az etkisi vardır (21).

Histolojik özellikler

WHO Tümörlerin Sınıflandırılması tablosunda tanımlanan spesifik histolojik alt tiplere ek olarak, perinöral invazyon, multifokalite ve yüksek mitotik indeks gibi diğer histolojik özelliklerin prognostik önemi olabilir. Bu özelliklere ve ek olarak vasküler invazyona patoloji raporunda yer verilmelidir.

Foliküler hücreden gelişen tiroid kanserleri klinik olarak önemsiz (yaşlılarda papiller mikrokarsinomlar) ile ölümcül (anaplastik tiroid kanseri) arasında değişen bir

biyolojik davranış spektrumu sergiler. .Az diferansiye tiroid kanserleri ve PTC'nin tall cell varyantları, hobnail varyantları ve kolumnar hücre varyantları gibi daha agresif varyantların bazılarında daha kötü prognoz görülebilir (21).

2.6.6. WHO 2017 Tiroid Gland Tümörleri Sınıflaması (33):

- -Foliküler adenom
- -Hyalinize trabeküler tümör
- -Diğer enkapsüle foliküler paternli tiroid tümörleri
 - Malignite potansiyeli belirsiz folliküler tümör
 - Malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör
 - Papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv foliküler tiroid neoplazisi (NIFTP)
- Papiller tiroid karsinomu (PTC)
 - Papiller karsinom
 - Folliküler varyant PTC
 - Enkapsüle varyant PTC
 - Papiller mikrokarsinom
 - Kolumnar hücreli varyant PTC
 - Onkositik varyant PTC
- Foliküler tiroid karsinomu (FTC)
 - Minimal invaziv
 - Enkapsüle anjiyoinvaziv
 - Yaygın invaziv
- Hurthle (onkositik) hücreli tümörler
 - Hurthle hücreli adenom
 - Hurthle hücreli karsinom
- Az diferansiye tiroid karsinomu
- Anaplastik tiroid karsinomu
- Skuamöz hücreli karsinom
- Meduller tiroid karsinomu
- Mikst meduller ve foliküler tiroid karsinomu
- Mukoepidermoid karsinom
- Eozinofili ile karakterli sklerozan mukoepidermoid karsinom

- Müsinöz karsinom
- Ektopik timoma
- Timus benzeri diferansiasyon gösteren iğsi hücreli epitelyal tümör
- İntratiroidal timik karsinom
- Paraganglioma ve mezenkimal/stromal tümörler
 - Paraganglioma
 - Periferik sinir kılıfı tümörü
 - Schwannom
 - Malign periferik sinir kılıf tümörü
 - Benign vasküler tümör
 - Hemanjiyom
 - Kavernöz hemanjiyom
 - Lenfanjiyom
 - Anjiyosarkom
 - Düz kas tümörleri
 - Leiomyom
 - Leiomyosarkom
 - Soliter fibröz tümör
- Hematolenfoid tümörler
 - Langerhans hücreli histiositoz
 - Rosai-Dorfman hastalığı
 - Foliküler dendritik hücreli karsinom
 - Primer tiroid lenfoması
- Germ hücreli tümörler
 - Benign teratom
 - İmmatür teratom
 - Malign teratom
- Sekonder tümörler

2.7. Papiller Tiroid Karsinomu

2.7.1. Epidemiyoloji ve İnsidans

Papiller tiroid karsinomu (PTC) çocuk ve erişkinlerin en sık görülen tiroid kanseridir. Son yıllarda yüksek çözünürlüklü görüntüleme yöntemlerinin gelişmesi ile birlikte PTC insidansı artmıştır (33). PTC insidansı coğrafik ve etnik faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Sıklıkla kadınları etkilemekte olup kadın erkek oranı yaklaşık 3:1 dir. (34). İnsidansdaki artışa rağmen PTC'ye bağlı mortalite oranları değişmemiş olup hatta bazı ülkelerde azalmıştır (33). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bazı PTC tipleri ile sınırlı olmasına rağmen, agresif kanserlerin bir markerı olan BRAF mutasyonun son dekatlarda sabit olduğu hatta arttığı bildirilmiştir (35).

2.7.2. Etiyoloji

İyonize radyasyona maruz kalmak tiroid kanseri gelişiminde iyi bilinen bir risk faktörüdür. Eksternal radyasyon ve radyoiodine internal maruziyet, tiroid kanseri gelişim riskini artırır. Radyasyon maruziyetinden sonra tümör gelişimi için ortalama 20 sene geçtiği belirtilmekle birlikte bu süreç oldukça değişkendir. Radyasyonun papiller karsinom gelişimindeki etkisini gösteren en önemli kanıt Chernobyl nükleer kazasından sonra Belarus ve Ukrayna'da papiller karsinom insidansında görülen belirgin artıştır. Üstelik bu bölgedeki olguların çoğunu da özellikle bu bölgede yaşayan çocukluk çağında bu kazaya maruz kalan insanlar oluşturmaktaydı (34).

Diet ile iyot alımının yüksek olduğu bölgelerde PTC insidansı daha yüksektir. İyot eksikliği olan bölgelerde diete iyot eklenmesiyle folliküler ve anaplastik tiroid kanserlerinde düşüş olurken oransal olarak PTClarında artış izlenmiştir. Bu artışın diete iyot eklenmesinden mi yoksa diğer tiroid kanseri tiplerinin azalmasından kaynaklanan göreceli bir artış olduğu bilinmemektedir (34). Yapılan bir çalışmada yüksek iyot içeriği olan bölgelerde BRAFV600E mutasyonunun prevalansının da yüksek olduğu gösterilmiş ve bu korelasyonun artmış PTC insidansının arkasındaki mekanizma olabileceği öne sürülmüştür (36).

Benign tiroid hastalığı öyküsü PTC için iyi bilinen bir risk faktörüdür. Var olan soliter tiroid nodülleri, adenomları ve daha az olmak üzere multinodüler guatr artmış karsinom riski taşımaktadır. Otoimmün hastalıkların PTC ile ilişkisi oldukça tartışmalıdır.

Literatürde bazı yazarlar Graves ve HT hastalarında PTC insidansının arttığını rapor etseler de, literatürde bu hipotezin doğru olmadığını savunanlar da mevcuttur. PTC ve tiroiditler incelediğimiz materyallerde sık karşımıza çıkan durumlardır. Bu nedenle aralarındaki ilişkinin etyolojik bir ilişki değil tesadüfi bir birliktelik olduğu düşünülmektedir. Yine de son saptanan moleküler bulgulara göre PTC için karakteristik olan RET/PTC rearanjmanı çoğu HT'inin glandlarında da mevcuttur ve bazı tümör supresör genlerde kayıplar rapor edilmiştir. Birinci derece yakınlarında tiroid kanseri varlığı riski normal popülasyona göre 5-9 kat artırmaktadır. PTC'lerin %5'i ailesel olup ya hereditör multi-kanser sendromlarının bir parçası olarak ya da izole olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk grup için ailesel adenomatöz polipozis (FAP) ve PTC ilişkisi iyi bilinen bir gruptur (34).

2.7.3. Klinik Özellikler

PTC, klinikte sıklıkla asemptomatik nodüller şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Tümör odakları çok büyük olduğunda veya çevre dokulara invazyon gösterdiğinde bası semptomları, yutkunmada ve nefes almada zorluk gibi klinik bulgular gösterebilir (37).

Tanı ve takipte USG (Ultrasonografi), BT(Bilgisayarlı Tomografi) ve MR (Manyetik Rezonans) gibi görüntüleme yöntemleri oldukça faydalı olmaktadır. Bu yöntemler arasında papiller karsinom tanı ve takibinde en sık kullanılan USG'dir. Ultrasonografik olarak papiller karsinomlar genellikle hipoekoik nodüller şeklinde olup solid görünümde, noktasal mikrokalsifikasyonlar içerebilen, sınırları düzensiz ve kaotik bir damarlanmaya sahiptir. Ayrıca boyun bölgesindeki lenf nodlarında kistik görünüm mikrokalsifikasyonların mevcudiyeti metastatik papiller karsinom varlığı açısından şüphe uyandırıcıdır. Sintigrafik yöntemlerle yapılan incelemelerde ise papiller karsinomlar genellikle soğuk nodüller olarak karşımıza çıkmaktadır. Klinik ve radyolojik bulgular eşliğinde malignite şüphesi varlığında ince iğne aspirasyonu kesin tanı koydurucu olabilmektedir bununla birlikte radyolojik ve klinik olarak saptanamayan vakalar multinodüler guatr veya diğer nedenlerle yapılan operasyonlar sonrası insidental olarak saptanabilmektedir (20).

2.7.4. Makroskopik Özellikler

Primer tümörün boyutu milimetrikten çok büyük boyutlara kadar değişkenlik gösterir. Çapı 1 cm'den az olan tiroid kanserlerinin büyük bir kısmı papiller tiptedir. Çoğu

vaka, sert kıvamlı, beyaz kremrenkli, solid olup belirgin şekilde invazivdir. % 10-20'si kapsüllüdür. Vakaların yaklaşık% 10'unda belirgin kistik değişiklikler görülür. Bazen papiller yapılarde seçilebilir (9).

2.7.5. Mikroskopik Özellikler

Mikroskopik olarak klasik PTC'lerin iki kardinal bulgusu vardır; papilla ve nükleer değişiklikler. Fibrovasküler bir kor çevresinde, oval nükleuslu kalabalık hücre gruplarının tek tabakalı veya birkaç tabakalı dizilimi ile oluşan neoplastik papiller yapılar görülür (33) (resim 2.3). Papillaların stroması ödemli veya hiyalinize olabilir ve lenfositler, köpüksü makrofajlar, hemosiderin veya istisnai olarak yağ dokusu içerebilir. Bu papillalar neredeyse her zaman benzer nükleer özellikler gösteren folikül oluşumu ile birliktelik gösterir, iki bileşen arasındaki oran değişkendir. Foliküller düzensiz şekilli, genellikle tübüler ve dallanma eğilimindedir (9).

PTC nükleusları karakteristik birtakım anormallikler içerir (33):

1- Boyut ve şekil değişiklikleri

Nükleer uzama, büyüme ve üst üste binme boyut ve şekil değişikliklerinin başlıcalarıdır. Bu bulguları değerlendirirken tümör içermeyen normal çevre tiroid dokusundaki nükleuslarla PTC nükleusları kıyaslanabilir. Nükleer zarfın yeniden şekillenmesi ile irregüler nükleer konturlar, nükleer psödoinklüzyonlar ve belirgin nükleer yarıklanmalar (groove) oluşur (resim 2.4, resim 2.5). Diğer belirgin nükleer özelliği nükleoplazmanın boş görüntüsüdür ve bu görüntü optik olarak berrak, camsı olarak adlandırılır. Bu görünüm parafine gömülü materyallerde mevcut olup frozen kesitlerde izlenmez.

2- Membran irregüleritesi

Nükleer zarfın yeniden şekillenmesi ile irregüler nükleer konturlar, nükleer psödoinklüzyonlar ve belirgin nükleer yarıklanmalar (groove) oluşur.

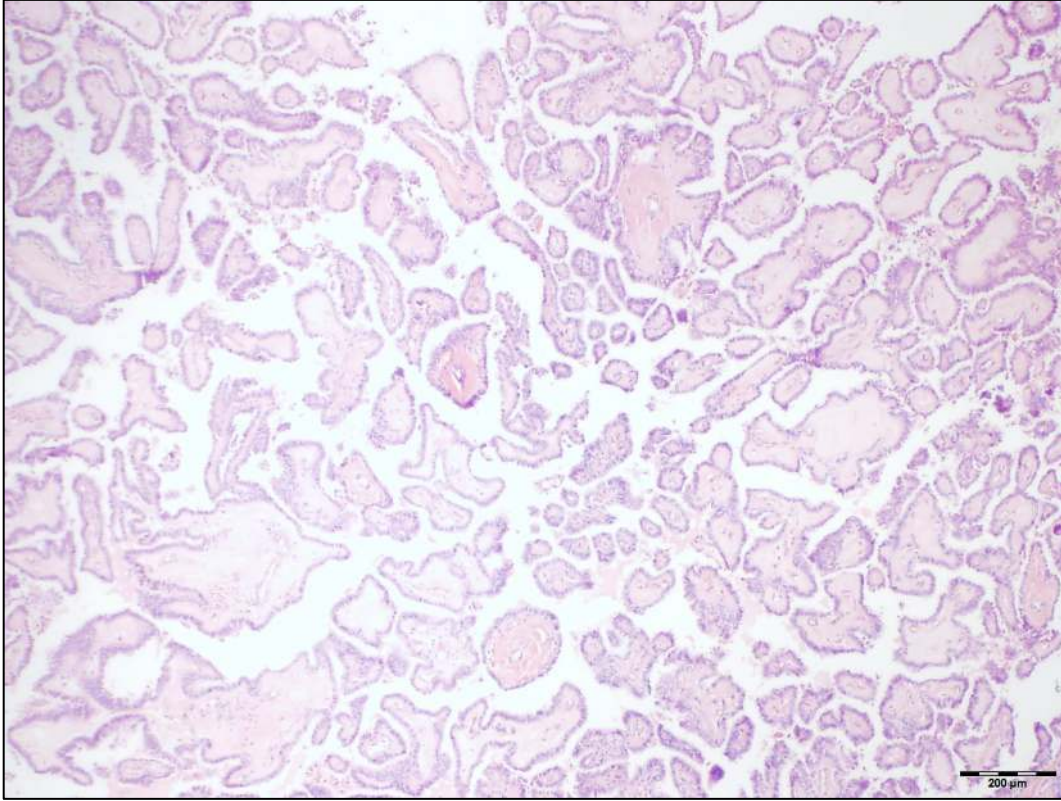
3- Kromatin karakteristikleri

Diğer belirgin nükleer özelliği nükleoplazmanın boş görüntüsüdür ve bu görüntü optik olarak berrak, camsı olarak adlandırılır. Bu görünüm parafine gömülü materyallerde mevcut olup frozen kesitlerde izlenmez.

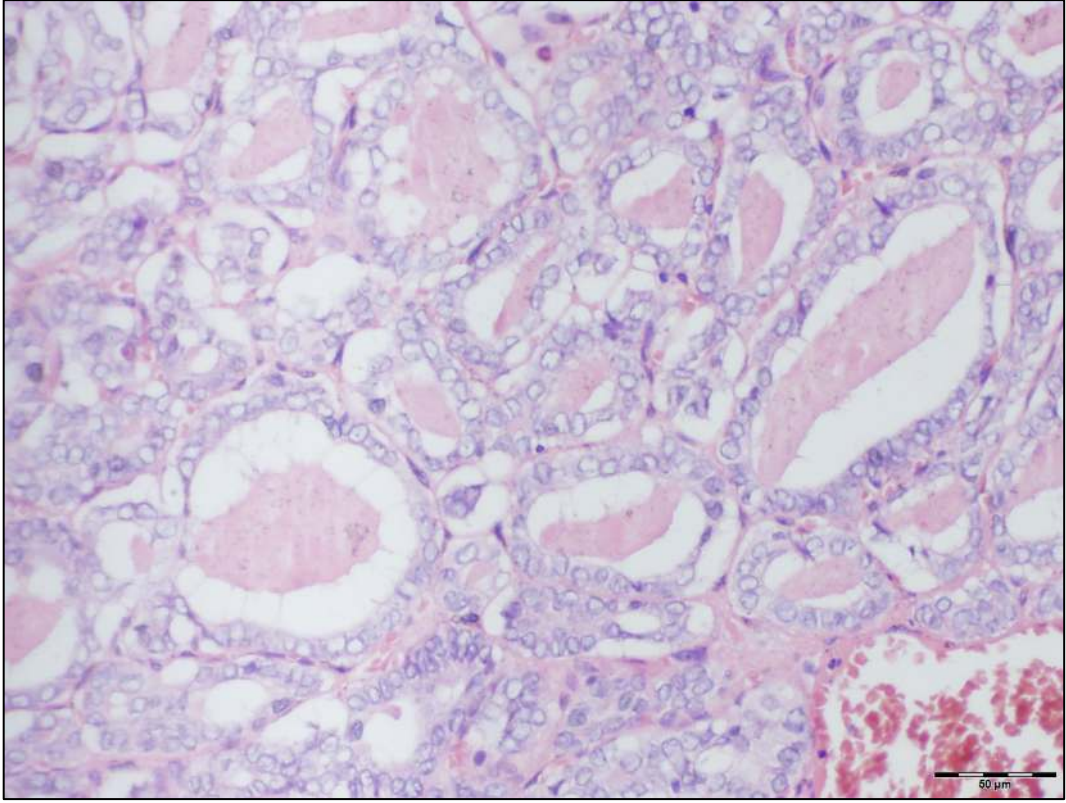
PTC hücrelerinin sitoplazmaları hafif bir eozinofili gösterir. Konvansiyonel PTC'lerde mitoz izlenmez ya da nadiren görülür. Bu durumun istinası ince iğne aspirasyonu sonrası ortaya çıkan mitozlardır. Papiller ve folliküler patternlere ek olarak

solid ve trabeküler pattern gösterebilir. Bu değişiklikle genelde fokal olmakla birlikte bazenneoplazmın çoğunu veya tamamını kapsayabilir.

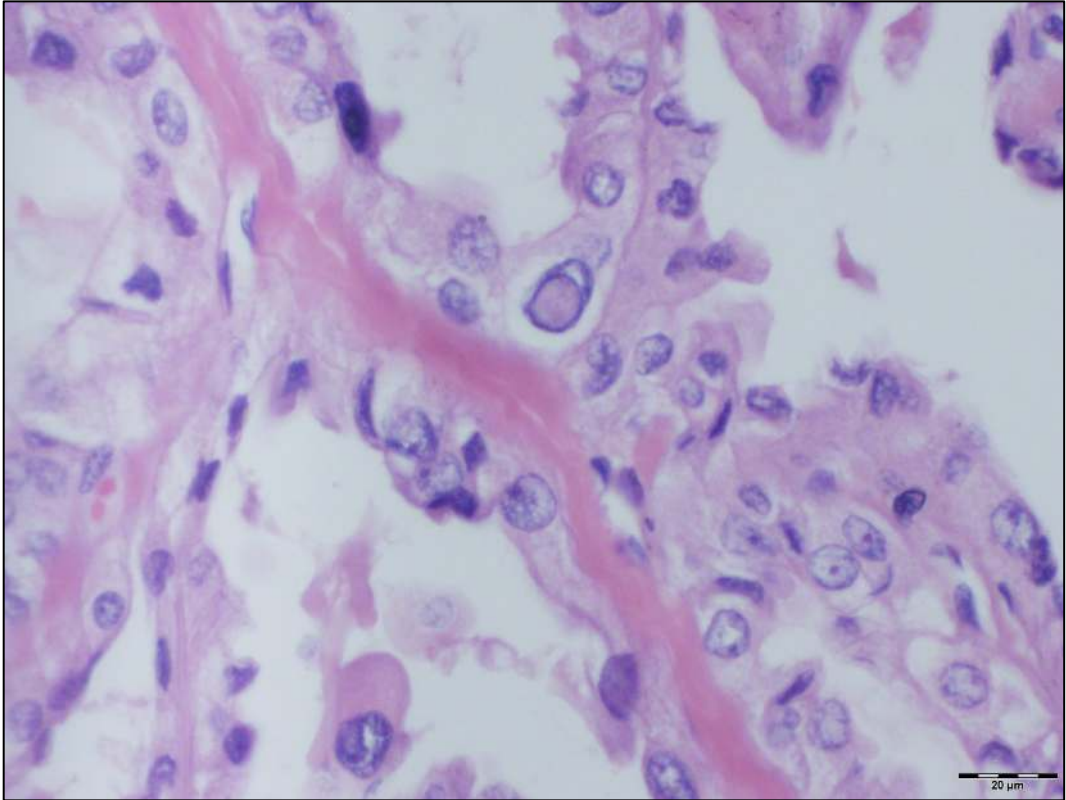
PTC ile klasik olarak ilişkisi olan Psammom cisimleri özellikle papiller baskın papiller büyüme patternine sahip vakalarda bulunan konsantrik yuvarlak kalsifikasyonlardır (resim 2.6). Fokal veya yaygın skuamöz metaplazi de oldukça yaygın bir bulgudur. Özellikle sitolojik materyallerde karşımıza çıkan multinükleer dev hücrelerde dağınık şekilde izlenebilir. Yine kistik değişiklikler de izlenbilir. Lenfovasküler invazyon folliküler karsinomlardaki kadar yağın olmasada PTC'lerde de karşımıza çıkmaktadır (33).



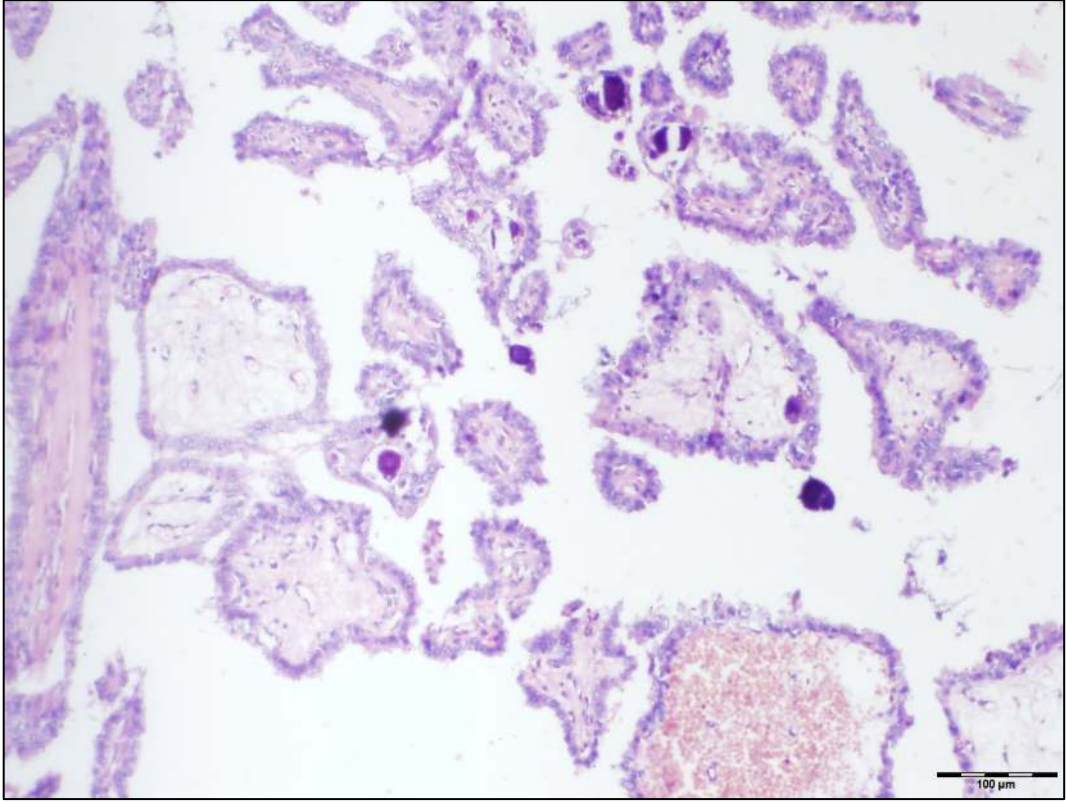
Resim 2.3. Fibrovasküler kor içeren papiller yapılar (H&E x40 büyütme)



Resim 2.4. Nükleer büyüme, kontur bozukluğu, üst üste binme ve nükleer yarıklanmalar gösteren PTC hücreleri (H&E x200 büyütme)



Resim 2.5. Nükleer psödoinklüzyon (H&E x400 büyütme)



Resim 2.6. Psammom cisimleri (H&E x100 büyütme)

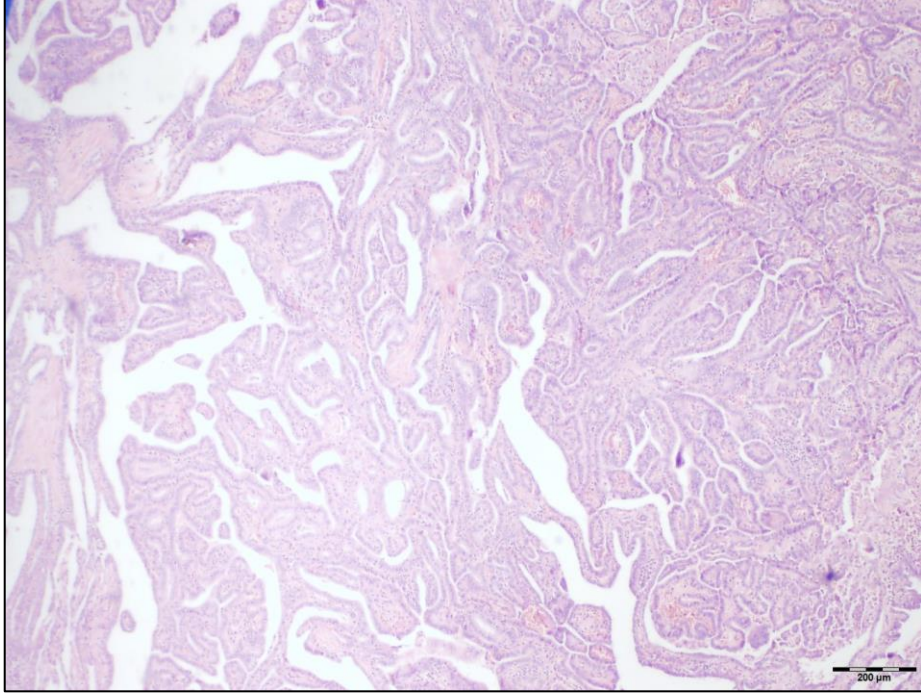
2.7.6. Histopatolojik Varyantlar

Mikrokarsinom

Çapı 1 cm'den küçük olan papiller karsinomlar, “papiller mikrokarsinom” olarak adlandırılır. Genellikle papiller ve/veya foliküler yapılar oluşturur. Çevre tiroid parankiminden keskin sınırla ayrılır (34).

Klasik varyant

Papiller karsinom, fibrovasküler bir kor etrafında sıralanan tek veya çok katlı küboidal epitel hücrelerinden oluşur (resim 2.7). Tümör hücre nükleusları berrak görünümde olup yer yer sitoplazmanın nükleusun içine kıvrılması sonucu psödoinklüzyonlar ve yarıklanmalar görülebilir. Tümör içinde “Psammom cisimciği” denilen konsantrik kalsifiye yapılar görülebilir. Lenfatik invazyon sıklıkla eşlik ederken, vasküler invazyon beklenmez (33).



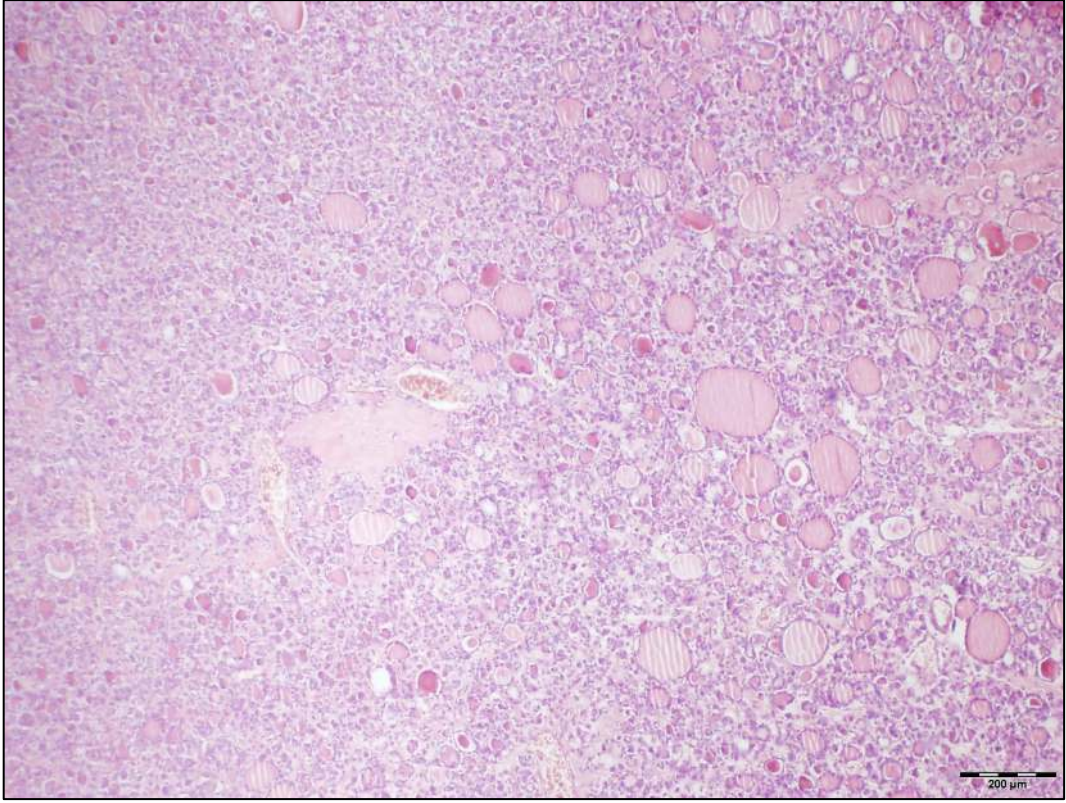
Resim 2.7. Papiller yapılanma gösteren klasik varyant PTC (H&E x40 büyütme)

Enkapsüle varyant

Arkitektürel ve sitolojik olarak tipik PTC görünümüne sahip olmakla birlikte tamamiyle intakt veya fokal küçük bir alanda tümör ile infiltrate ve tümörü çepeçevre saran fibröz bir kapsül ile karakterizedir (33).

Foliküler varyant

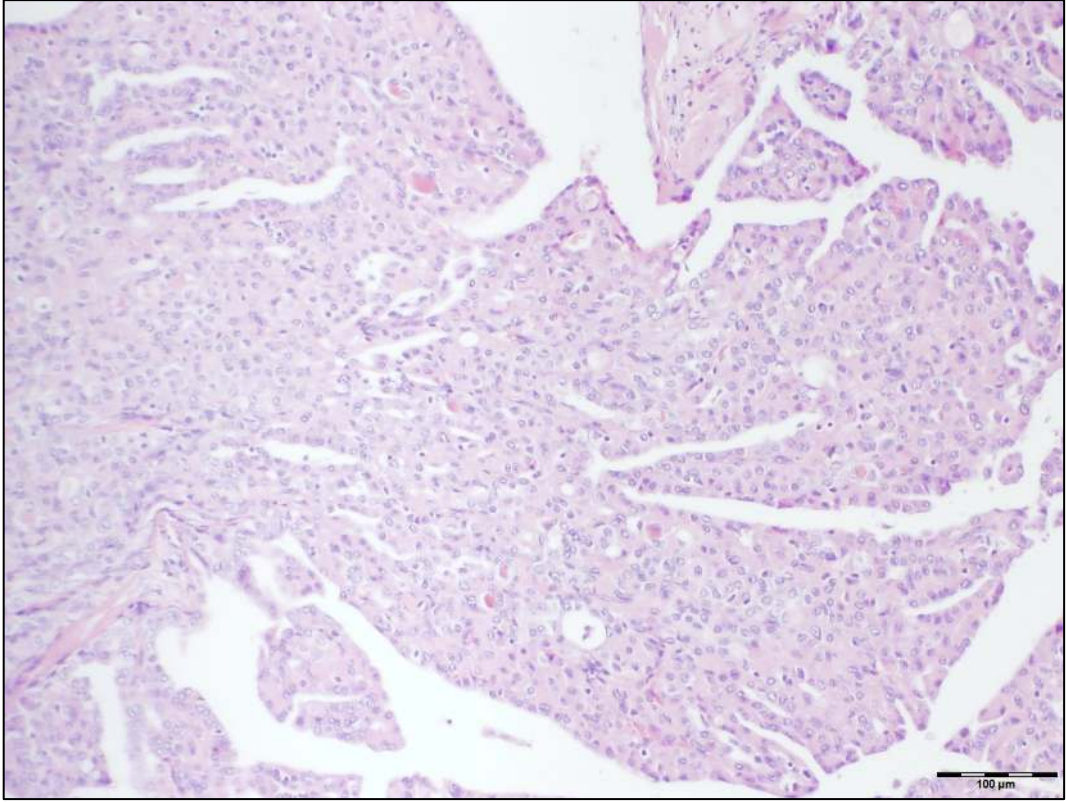
Foliküler varyant tümörler sıklıkla enkapsüledir. Klasik nükleer özelliklere sahip, ancak gerçek papilla yapısı oluşturmayan tümörlerdir. Bazal membran üzerinde gelişigüzel dizelenen ve polarite kaybı içeren hücrelerin oluşturduğu foliküler arkitektürden baskın büyüme gösterir (resim 2.8). Foliküler varyantın, diğer varyantlara göre daha az lenf nodu metastazı ve daha yüksek oranda RAS mutasyonları gösterdiği bilinmektedir (33).



Resim 2.8. Foliküler varyant PTC (H&E x40 büyütme)

Onkositik varyant

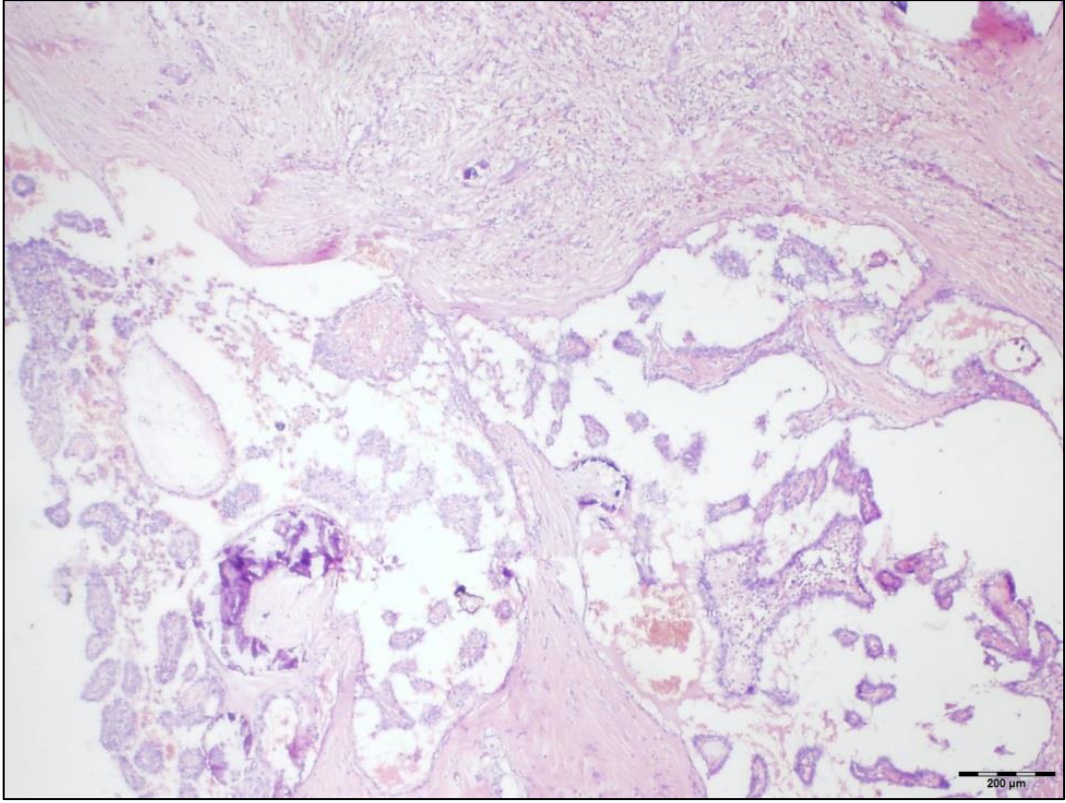
Onkositik varyantta predominant büyüme paterni papiller olmakla birlikte, foliküler ve solid patern de görülebilir. Hücre sınırları belirsiz, sitoplazma granüler-opak ve eozinofilik özelliktedir. Klasik papiller karsinom nükleus özellikleri bu varyantta da mevcuttur (34) (resim 2.9).



Resim 2.9. Onkositik varyant PTC (H&E x100 büyütme)

Diffüz sklerozan varyant

Tek veya her iki tiroid lobunun tümör ile diffüz tutulumu ile karakterize olup tipik olarak çocuklar ve genç kadınlarda izlenir. PTC' lerin yaklaşık % 2' sini oluşturur. Mikroskopik olarak tiroidin tümör ile diffüz tutulumu, yoğun sklerotik fibrozis, yoğun lenfositik infiltrasyon, çok sayıda psammom cisimciği izlenir. Yaygın skuamöz metaplazi alanları görülür (34). (Resim 2.10)



Resim 2.10. Diffüz Sklerozan Varyant PTC (H&E x40 büyütme)

Tall cell varyant

Tümörün en az %50'sini oluşturan eninin en az 3 katı boya sahip olan uzun kolumnar hücrelerden oluşur. PTC'nin klasik özellikleri olan nükleer yarıklanmalar ve psödoinklüzyonlar sık olarak izlenir. Hücre sınırları belirgin olup geniş yoğun eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Uzamış foliküller, ince fibrovasküler kor ve dallanmalar gösteren bitişik duran papillaların varlığı, trabeküler bir patern izlenimi verir (34).

Kolumnar hücreli varyant

Nükleer stratifikasyon gösteren kolumnar hücrelerin yaygın olarak izlendiği bu varyant oldukça nadirdir. Tümör hücrelerinin sitoplazması eozinofilik veya berraktır, subnükleer vakuolizasyon dikkati çeker. PTC'ye ait nükleus özellikleri fokal olarak izlenir. Nükleuslar elonge şekilli, koyu kromatinlidir. Tümörde papiller, foliküler, solid veya kribriform büyüme paterni veya bunların kombinasyonları gözlenebilir. Nadiren psammom cisimcikleri ile iğsi hücreli alanlar ve skuamöz metaplazi odakları saptanabilir (33).

Kribriiform-moruler varyant

İğsi hücrelerden oluşan girdapsı yapılar veya morulalar oluşturan kribriiform, trabeküler, solid, papiller ve foliküler büyüme paternleri gösteren bu tümörde multiple, iyi sınırlı veya enkapsüle tümör nodülleri izlenir. Belirgin kribriiform büyüme paterni ve morulalar bu tümörün en belirgin özellikleridir. Mikrofoliküler yapılar izlenebilir ancak lümenlerinde kolloid nadiren mevcuttur (34).

Hobnail varyant

Bu nadir varyantta tümör hücrelerinin >%30'u hobnail özellikler göstermelidir. Histolojik olarak nükleus sitoplazma oranı artmış ve hücrel kohezyonunu kaybetmiş ezozinofilik sitoplazma ve apikal yerleşimli nükleoller belirgin nükleuslara sahip kompleks papiller veya mikropapiller yapıları çevreleyen folliküllerden oluşmaktadır. Nekroz, mitoz, lenfovasküler invazyon ve ekstratiroidal yayılım, rekürrens, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz sıktır. BRAF V600E mutasyonu sık genetik değişiklik olarak karşımıza çıkmaktadır (33).

Fibromatozis/Fasiitis benzeri stroma içeren papiller karsinoma

Bol miktarda sellüler stroma içeren bu varyant nodüler fasiitisi andıran özellikler gösterir. PTK alanları çevresindeki stromada iğsi hücrelerden oluşan fasiküller izlenir. Miksoid matriks ve dens keloid benzeri kollajen de stromada dikkati çekebilir. Mitotik figürlerin nadir olduğu monoton görünümdeki stromal hücreler ince kromatinlidir ve küçük nükleoller içerir (34).

Solid/trabeküler varyant

Gençlerde, özellikle de iyonize radyasyona maruz kalan çocuklarda sık olarak görülür. Tüm PTC'larının %1–3' ünü oluşturur. Yarısından fazlası ya da tüme yakını solid, trabeküler veya yuvalanmalar şeklinde büyüme gösterirler. Solid patern en sık izlenen büyüme paterni olup, fibröz stroma ile ayrılan tabakalar ve yuvalanmalar oluşturan hücrelerden meydana gelir. Trabeküler paternde anastomozlaşan tümör yapıları izlenir. Yuvalanmalar ile karakterize paternde ise fibrovasküler stroma ile çevrelenmiş belirgin sınırlı tümör adaları mevcuttur (34).

Berrak hücreli (clear cell) varyant

Tümörün yarısından daha fazlasını papiller karsinomun nükleer özelliklerine sahip berrak hücreler meydana getirir. Papiller karsinomun nadir bir varyantıdır. Papiller, foliküler veya solid büyüme paternleri izlenebilir. Bazı tümörlerde berrak hücrelere onkositik hücreler eşlik edebilir. İntra ve ekstrasellüler müküs birikimi bazen gözlenebilir (34).

Warthin benzeri varyant

Lenfoid hücrelerle infiltrate fibrovasküler koron etrafını döşeyen onkositik hücrelerden oluşan papiller yapılarıyla Warthin tümörüne benzerlik göstermektedir. Sıklıkla çevre tiroide de lenfositik tiroidit bulguları eşlik eder. Literatürde dediferansiye alanlar içeren ve anaplastik karsinoma ilerleyen iki ayrı vaka bildirilmiş olsa da bu varyantın prognostik olarak bir önemi yoktur (33).

2.7.7. Prognoz

PTK'lar mükemmel bir prognoza sahiptir. 5 yıllık sağkalım % 96, 10 yıllık sağkalım %93, 20 yıllık sağkalım % 90'ın üzerindedir (9). Geniş serilerde PTK'larda tüm mortalite oranları %1-6.5 tir. Prognoz hastalığın klinik yayılımından etkilenmektedir. Evre I hastalık için 10 yıllık sağkalım oranı %95, Evre IV hastalık için % 15'tir. PTC ile ilişkili bağımsız risk faktörleri; tanı anında hasta yaşı (40-45 yaş üstü hastalarda mortalite oranı yüksektir), tümör boyutu (3-4'cm den büyük tümörlerde artmış ölüm riski mevcuttur), tümör evresi (yaygın gross ekstraselüler yayılım kötü prognostik gösterge) ve uzak metastazdır. Bağımsız olmayan kötü prognostik faktörler; erkek cinsiyet, nodal metastaz, inkomplet cerrahi eksizyon, tümör büyüme paterni (kolumnar hücre, tall cell, hobnail cell, solid veya insuler büyüme paterni). Kötü prognostik moleküler parametreler; TERT promotor mutasyonları ve çoklu eş zamalı mutasyonlardır. PTC'ler için risk değerlendirmesi sağlayan çeşitli prognostik skorlama sistemleri geliştirilmiştir; AMES(hasta yaşı, uzak metastaz, yayılım ve primer tümör boyutu), AGES(hasta yaşı, histolojik grade, yayılım ve primer tümör boyutu), MACIS(uzak metastaz, hasta yaşı, rezeksiyonun yeterliliği, lokal invazyon ve primer tümör boyutu) (33).

2.7.8. Prediktif Faktörler

Klinik seyir için pozitif lenf nodu diseksiyonu da dahil komplet rezeksiyon önemli bir belirleyicidir. İnkomplet rezeksiyon rekürrens riskini arttırmaktadır. İlk tedavi sonrası en sık rekürrens ilk dekada olup artmış mortalite ile ilişkili olabilir. Ortalama rekürrens oranları %15-35 civarındadır. Lenf nodu metastazı artmış rekürrens ile ilişkili olup sağkalım üzerinde etkisi yoktur. Ekstranodal yayılım, ekstraparatiroidal yayılım ile ilişkili olu kanser spesifik mortalite ve belirgin artmış rekürrens ile ilişkilidir. Rekürren hastalığı saptamak için serum tg seviyelerine bakmak oldukça duyarlıdır (33).

2.8. Kronik Lenfositik Tiroidit (Hashimoto veya Otoimmün Tiroidit)

2.8.1. Tanım

Hashimoto tiroiditi veya otoimmün tiroidit olarak da bilinen kronik lenfosittik tiroidit follikül destüksiyonu ile karakterli otoimmün bir hastalıktır. İlk defa 1912 yılında hastalığa ismini veren Hakura Hashimoto struma lenfomatoza terimini kullanılarak 4 vaka tanımlamıştır. Follikül hücrelerinin immün aracılı kaybına bağlı olarak hipotiroidi bulguları ile tanınırlar (34).

2.8.2. Epidemiyoloji

Hastalık tüm yaş grubundan insanı etkileyebilmekte olup pik insidansını 5. dekada yapar. Erişkin yaş grubu çocuklardan daha fazla etkilenmekle birlikte adolesan ve çocuklarda görülen en sık tiroidit formu kronik lenfosittik tiroidittir. Kadınlar erkeklere göre 5 kat daha fazla etkilenebilir.

Bazı bireylerde kronik lenfosittik tiroidit geliştirmek için genetik yatkınlık mevcuttur. HLA-DR, sitotoksik T lenfosit ilişkili faktör 4 (CTLA-4) ve Tg gibi tiroid spesifik genler suçlanmaktadır (34).

2.8.3. Patogenezi

Kronik lenfosittik tiroidit patogenezi humoral ve hücre aracılı immün mekanizmalar beraber rol oynamaktadır. Dolaşan antikorlar TSH reseptörü başta olmak üzere tirogloblin ve diğer folliküler hücre antijenlerine karşı gelişmiştir. İmmünolojik,

genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle immüntoleransın bozulması olayı başlatır (9). İlk uyarılan hücre CD4+ T helper lenfositlerdir. İyot alımı, ilaç tedavileri, sigara, enfeksiyonlar ve çevresel toksinler gibi çok sayıda çevresel tetikleyici mevcuttur. Artmış risk ile ilişkili ilaç tedavileri arasında IFN gama ve amiodaron vardır. Çok sayıda bakteriyel ve viral enfeksiyonla ilişki bildirilmiş olmakla birlikte bunlar arasında en kuvvetli ilişkisi gösterilen Hepatit C virüsüdür (34).

Aktive T helper lenfosit follikül hücrelerini zedeleyecek çok sayıda mekanizmayı tetiklemektedir. Salgıladıkları IFN gama gibi sitokinler makrofojlari ve naturel killler (NK) hücrelerini aktive eder. Ayrıca B lenfositleri de uyararak follikül hücrelerinin çeşitli komponentlerine karşı antikor üretimine neden olurlar. CD8+ sitotoksik T lenfositler de perforin ve diğer sitotoksik ajanları ile destrüksiyonda rol oynayabilir.

Foliküler hücrelerin immün hasarın hedefi haline gelmesinde antijen taklîçiliği ve yerel lenfositlerin bunlara karşı aktive olmasının potansiyel rolü üzerinde durulmaktadır. *Borrelia Burgdorferi* ve *Yersinia Enterocolitica*'nın bu otoantijenler ile homoloji gösterdiği için antijen taklîçiliğinde suçlanmakla birlikte net kanıtlanmış bir bilgi yoktur. Bazı yayınlar, enfeksiyon veya birtakım başka nedenlerle uyarılan otoreaktif T hücrelerin normalde tiroide bulunduğunu ancak regülatör T hücreler (Treg) veya diğer tolerans mekanizmaları tarafından süprese edildiğini ve viral bir enfeksiyon gibi bir uyarıcı olması durumunda bu süprese lenfositlerin aktive olduğunu öne sürmektedir.

CTLA-4 T hücre aktivasyonunu süprese eden bir proteindir. Otoimmun tiroidit CTLA-4'ün 3'UTP mikrositabilitesinin AT tekrarlarının uzunluğuna bağlıdır ve burdaki uzunluk artışı; azalmış ekspresyon ve düşük inhibitör aktivite ile ilişkilidir.

Apoptoz follikül hücre destrüksiyonunda önemli rol oynamaktadır. Lenfositik tiroiditte çok sayıda apoptotik folliküler hücreleri izlenir.

TPO ve Tg sekestre antijenler ve folliküler hücre hasarı dışındaki normal koşullarda immün sistem ile ilişki halinde değildirler. Hasar durumlarında T ve B lenfositlerin uyarılması ve bu antijenlere karşı antikor üretilmesi söz konusudur. TPO antijenine karşı gelişmiş antikorlar komplemanı fikse edip antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiteyi aktive edebilecekleri için follikül hücrelerinde yıkıma neden olabilirler. TSH reseptörüne karşı gelişmiş antikorlar da mevcut olup bu antikorların da tiroid bezi fonksiyon bozukluğuna neden olduğu saptanmıştır.

Bazı kronik lenfositik tiroidit vakaları Ig G4 ilişkili sklerozan (veya sistemik) hastalığın bir parçası olarak kendini gösterir. Bu hastalığın patolojik görünümü IgG4

pozitif plazma hücreleri ve kitle benzeri lezyon oluşturabilecek yoğun stromal fibrozis ile karakterli lenfoplazmasitik infiltrasyon şeklindedir (34).

2.8.4. Patoloji

Kronik lenfosittik tiroidit gösteren tiroid bezi normal boyutunun 2-4 katına kadar diffüz genişleme gösterir. Bu genişleme genelde simetriktrir. Eđer piramidal lob mevcut ise göreceli olarak belirgin görünümdeedir. Kesit yüzeyi folliküler kaybı ve lenfosittik infiltratı yansıtacak şekilde normal kırmızı kahverenkli renginden daha soluk görünümde, sarı-krem-pembe renkli ve nodüler izlenebilir.

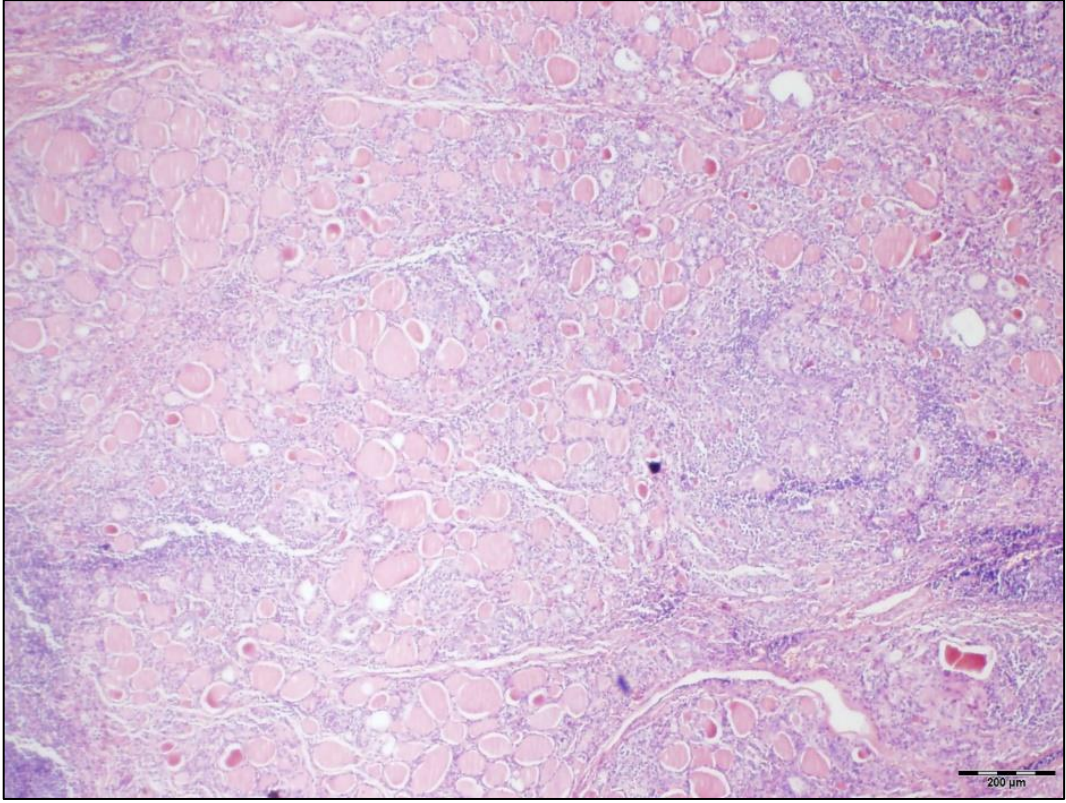
Mikroskopik olarak iki esas anormali stromada lenfoplazmasitik infiltrasyon ve follikül epitel hücrelerinde onkositik değışikliklerdir (9) (Resim 2.11). Glandların lenfositler ve plazma hücreleri ile infiltrasyonu karakteristiktir. Bu infiltrasyon diffüz olup yoğunluğu değışkenlik göstermektedir. İnterlobüler septalarda artmış fibröz doku izlenebilir. Bu histopatolojik bulgular tiroid fonksiyonu ile korelasyon göstermektedir.

T lenfositlerden baskın T ve B lenfositlerden oluşan karışık bir popülasyon mevcuttur. Germinal merkez oluşumu da kronik lenfosittik tiroidit için karakteristiktir. Bu germinal merkezlerde de lenf nodunda olduğu gibi B lenfositler çoğunluktadır. Plazma hücreleri poliklonaldır.

Belirli bir derecede fibrozis mevcuttur. Belirgin, yoğun fibrozis fibröz ve fibröz atrofik varyantlar için önemli bir özelliiktir. İnfalamasyon alanlarındaki follikül epitel hücrelerinde belirgin reaktif değışiklikler mevcuttur. Bu değışiklikler papiller karsinoma benzer nükleer irileşme ve şeffaflanma ile karakterizedir ancak farklı olarak aktif inflamasyon alanlarında ve periferde doğru kademeli olarak azalma gösterecek niteliktedir.

Çok sayıda mitokontri içeriğinden dolayı bol ince granüler eozinofilik sitoplazmaya sahip genişlemiş folliküler hücreler onkositik hücreler olarak adlandırılır. Mitokondrileri sitokrom c oksidazdaki moleküler ve fonksiyonel defekte bağılı olarak anormal fonksiyon gösterir. Ayrıca nükleer genişleme ve belirgin nükleole sahiptirler.

Kronik lenfosittik tiroiditte özellikle fibröz ve fibröz atrofik varyantlarında skuamöz metaplazi de görülebilir. Subakut granüloamatöz tiroiditle karışmayacak kadar az sayıda multinükleer dev hücreler izlenebilir (34).



Resim 2.11. Hashimoto Tiroiditi Stomada lenfoplazmasitik infiltrasyon ve follikül epitel hücrelerinde onkositik değişiklikler (H&E x40 büyütme)

2.8.5 Varyantlar

Fibröz varyant

Kronik lenfosittik tiroiditin klasik formunda interlobuler septalarda hafif-orta fibrozis görülür. Bu varyantta ise tiroid normal arkitektürünü ortadan kaldıracak ve yoğun folliküler atrofinin eşlik ettiği belirgin yoğun fibröz doku artımı izlenmektedir. Riedel tiroiditinden farklı olarak invaziv ekstratiroidal fibrozis eşlik etmez. Klasik formdaki gibi diffüz lenfoplazmasitik infiltrat, germinal merkezler ve oksifilik metaplazi mevcuttur. Skuamöz metaplazi daha sık ve belirgin şekilde görülür. Genellikle orta ileri yaş hastalarda ve semptomatik guatr ve hipotiroidi ile karşımıza çıkmaktadır.

Fibröz varyantın artmış IgG4 pozitif plazma hücreleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada kriter olarak bir büyük büyütmede (x400) >20 IgG4 pozitif plazma hücreleri ve %30 IgG4/IgG oranı kullanılmış ve IgG4 pozitif plazma hücrelerinden zengin grupta daha yüksek stromal fibrozis, lenfoplazmasitik infiltrasyon ve folliküler hücre dejenerasyonu dikkati çekmiştir (34).

Fibröz atrofik varyant

Histolojik olarak fibröz varyanta benzerlik göstermektedir. Bu iki varyant arasındaki fark fibröz atrofi içeren küçük boyutlu glandların varlığıdır. Genellikle ileri yaş hastalarda ve hipotiroidi ile karşımıza çıkmaktadır. IgG4 pozitif plazma hücreleri varlığı ve bu varyantın klasik kronik lenfosittik tiroiditin veya fibröz varyantın ilerlemiş formu olup olmadığı belirsiz bir durumdur. Yapılan çalışmalarda fibröz atrofi varlığının zamanla ilişkili bir durum olmadığı bildirilmiştir (34).

2.8.5.3 Hashitoksikoz

Diffüz toksik hiperplaziye eşlik eden (Graves hastalığı) kronik lenfosittik tiroidit varlığı söz konusudur. Uniform bir histolojiye sahip değildir, çeşitli varyasyonlar gösterir. Mayo kliniğin 1971 de yayınlanan serisinde bazı vakalarda klasik kronik lenfosittik tiroidite eşlik eden folliküler epitelyal hiperplazi mevcut iken bazı vakalarda daha az oranlarda hiperplazi veya onkositik metaplazi eşlik etmektedir (34).

2.8.5.4 Juvenil varyant

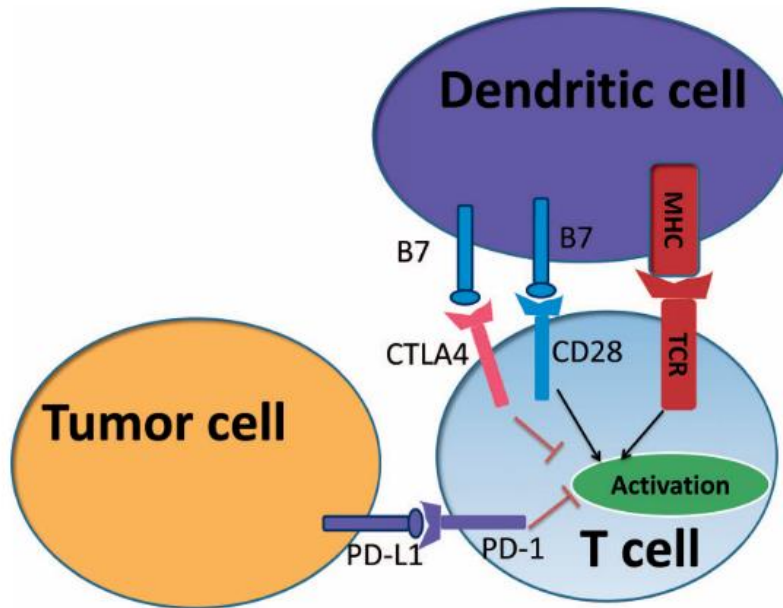
Histolojik olarak daha az folliküler atrofi gösteren daha genç hastalarda karşımıza çıkan bir varyanttır. Hipertiroidizmden hipotiroidizme değişken kliniklerle karşımıza çıkar. Bu varyantı Hashitoksikoz veya sessiz gidişli bir tiroiditten ayırmak zor olabilir. Sınırları belirsiz kriterleri olması geniş klinik antiteler oluşturması nedeniyle sınırlı histopatolojik korelasyona sahiptir (34).

2.9 Kullanılan İmmünohistokimyasal Markerler ve Mekanizmaları

2.9.1 PD-L1 (Programlanmış Ölüm Ligandı-1)

Onkolojide kişisel tedavinin öne çıktığı çağımızda, çoğu insan kanserinde bulunan geniş somatik mutasyonel çeşitlilik, bireysel mutasyonları hedefleyen terapiler için zorluklar yaratmasına rağmen, potansiyel bağışıklık tanıma için yeni bir antijen ortaya çıkarır. Bununla birlikte, kanser hücrelerini tanıyabilecek şekilde uyarılan doğuştan gelen bağışıklık sisteminin hücreleri, aktivasyonlarını ve efektör fonksiyonlarını baskılayan moleküler yollarla kontrol altında tutulur. Prototipik bağışıklık kontrol noktası (immün checkpoint) reseptörü sitotoksik T lenfosit antijeni 4'ün (CTLA-4) bloke edilmesinin,

murin modellerinde tümör gerilemesine olanak sağlaması, ileri evre melanom hastaları için bir tedavi olarak anti-CTLA-4'ün klinik gelişimine ve onaylanmasına yol açmıştır (38). Geniş bir malignite spektrumunun tedavisini dramatik olarak yeniden şekillendirmeye hazır olan bağışıklık kontrol noktası inhibisyonu olarak adlandırılan bu yeni immünoterapi stratejisi, farklı kontrol noktalarını bloke eden ilaçlar, birçok farklı kanser türünün tedavisinde potansiyel terapötik hedefler olarak büyüyen bir kohort çalışmasını hızlandırarak büyük umut vaat etmiştir. Bu hastalar için yeni tedavi seçeneklerini ortaya koymuş ve kanser tedavisine yaklaşımımızda devrim yaratmıştır (38, 39). Programlanmış ölüm reseptörü-1 / programlanmış ölüm ligandı-1 (PD-1 / PD-L1) sinyal yolu dahil, bağışıklık kontrol noktası yollarının, self-toleransa aracılık etmede ve kontrol etmede önemli rolü olduğu bilinmektedir. Bu mekanizma, bazen immün sistemden kaçınmak için kanser hücreleri tarafından manipüle edilebilir (40) (şekil 2.4). Son zamanlarda, PD-1 / PD-L1 yolunun monoklonal antikorlarla bloke edilmesinin birçok farklı malignitede çarpıcı klinik sonuçlar ortaya çıkardığı keşfinden dolayı bağışıklık kontrol noktası proteini PD-1 ve ligand PD-L1'e artan bir odaklanma vardır (41). PD-1'in tümör infiltrate eden lenfositlerde yüksek oranda upregüle olması ve birçok solid kanser tipinde PD-L1 ekspresyonu ile hastaların klinik sonuçları arasındaki korelasyon olması klinik çalışmaların yapılmasını başlatmıştır. Bu çalışmalar PD-1 / PD-L1 hedefli tedavinin etkinliğini göstermiş olup kanser tedavisinde yeni immünoterapi yöntemlerinin oluşmasına olanak sağlamıştır (40) .



Şekil 2.4. Kanser hücrelerinde bağışıklık kontrol noktası sinyal yolları (40)

Mekanizma

Tümör mikroçevresi, tümör hücrelerinin ve konakçı bağışıklık sisteminin etkileşime girdiği ana yerdir. Kanser mikroçevresindeki bağışıklık reaksiyonunun doğasının aydınlatılması, koruyucu tümör bağışıklığını anlamak mevcut kanser immünoterapisini geliştirmek ve güçlendirmek için anahtar rol oynar. Farklı kanser infiltre eden düzenleyici T hücreleri (Tregler), antijen sunan hücreler (APC'ler), miyeloid türevi baskılayıcı hücreler (MDSC'ler) ve efektör T hücresi gibi hücre alt kümeleri insan kanseri mikroçevresindeki bağışıklık tepkilerini oluşturmaktadır. Bununla birlikte programlanmış hücre ölümü 1 ligandı (PD-L1, B7-H1, CD274) ve programlanmış hücre ölümü reseptörü 1 (PD-1, CD279) blokajı da dahil olmak üzere güçlü antitümör etki oluşturmak için bu immünosüpresif mekanizmaları tersine çevirmenin kritik önemi vardır (42).

İnsan lökosit antijeni (HLA) moleküllerinin aracılık ettiği antijen sunumu, etkili bir T hücresi tepkisini başlatmak için yeterli değildir. T hücre reseptörü (TCR) ko-stimülatör yolları, T hücresi aktivasyonunu düzenleyerek bağışıklık sistemi dengesini korumak için çok önemlidir. HLA molekülü aracılığıyla sunulan bir antijenin tanınmasından sonra, hücresel bileşenler belirgin immünolojik sinapslar oluşturmak üzere yeniden düzenlenir. CD28, CTLA-4, ICOS ve PD-1'i içeren CD28 reseptör ailesi, bu sinapsın anahtar elemanlarını içerir. Bu reseptörler ligandları ile etkileştiklerinde, güçlü ko-stimülatör veya inhibitör sinyalleri üretir (43). Tümör hücreleri, hücre yüzeyinde inhibitör reseptör ligandlarını eksprese ederek bu T hücresi yollarını kullanabilmektedir. Terapötik monoklonal antikolar tarafından hedeflenen bu reseptörlerden ilki CTLA-4 veya CD152 idi. CTLA-4, TCR yoluyla T hücresi uyarılmasından sonra upregüle edilir ve CTLA-4, B7'nin (B7.1;CD80 ve B7.2;CD86) CD28'e bağlanmasından daha yüksek affinite ile B7'ye bağlandıktan sonra CD28 kositumilasyonunu inhibe ederek T hücresi aktivasyonunu inhibe eder. Hayvan deneylerinde CTLA-4'ün bloke edilmesinin T hücresi aktivasyonunu arttırabileceği ve sonuç olarak antikanser etkileri gösterebileceği bulunmuş olup bu etkiler insan klinik çalışmalarında doğrulanmıştır. Ancak B7 (CD80 ve CD86) reseptörlerinin sadece APC'lerde sınırlı olması nedeniyle tümör mikroçevresinden ziyade lenfoid organlarda T hücre aktivasyonuna neden olmaktadır (38, 41). 2011 yılında sınıfının ilk terapötik monoklonal antikoru olan anti-CTLA-4 antikoru ipilimumab, FDA tarafından metastatik melanom tedavisi için onaylanmıştır. Ancak blokaj sonrası dolaşan T lenfositlerdeki aktivasyon markerlerinin ekspresyonunun artması ciddi yan etkiler oluşturmuştur (38).

PD-L1 1999 yılında klonlanmıştır (51). PD-1 daha sonra B7-H1 (PD-L1) için bir karşı-reseptör olarak bulunmuştur. B7-H1 bu nedenle bu reseptör-ligand etkileşimini vurgulamak için PD-L1 olarak da bilinir (42). PD-1 / PD-L1 yolağı, self-tolerans ve T hücre aracılı lokal inflamatuvar reaksiyonları düzenleyen bağışıklık kontrol noktası sinyalleme yollarına aittir. CD28 ailesine ait bir hücre yüzey proteini olan PD-1, kromozom 2q37'de bulunan PDCD1 geni tarafından kodlanır. PD-1 aktive T hücreleri üzerinde eksprese edilir, özellikle tümörü infiltre eden T lenfositler (TIL'ler), tarafından yüksek ekspresyona sahiptir (40). PD-1 de CTLA-4 gibi naive ve memory T hücrelerde mevcut olmayıp TCR bağlanmasına bağlı eksprese olurlar. CTLA-4'ün aksine transkripsiyonel aktivasyona ihtiyaç duymaktadır bu nedenle yanıt gecikir. Yine CTLA-4'den farklı olarak PD-1 ağırlıklı olarak tümör mikroçevresi içinde görülür. PD-1 ligandları yaygın olarak tümör hücreleri ve TIL'ler tarafından eksprese edilir (38). PD-1'in yüzey ekspresyonu, TCR sinyalleme üzerine artırılır ve zamana bağlı duyarsızlaşmaya ve TCR'nin neden olduğu göçü durdurma ve sitokin üretiminin kaybına katkıda bulunur. PD-1 T hücreleri dışında, B hücreleri, NK (naturel killer) hücreler ve monositler de dahil olmak üzere aktive edilmiş T olmayan hücreler üzerinde de eksprese edilir, bu da PD-1'in bağışıklığı T hücresinden bağımsız bir şekilde de modüle edebileceğini düşündürür (40). PD-1'in immünreseptör tirozin inhibitör ve switch motifi, inhibitör fosfataz SHP2 ve bazen de inhibitör fosfataz PP2A aktivasyonu yoluyla, TCR aracılı efektör fonksiyonları doğrudan inhibe eder. Dokulara T hücresi göçünü artırır, böylece bir T hücresinin, aynı kökenli peptit-MHC komplekslerinin varlığı için etkileşen hücrelerin yüzeyini incelemesi için gereken süreyi sınırlar. Bu nedenle T hücreleri daha düşük seviyelerde peptit-MHC kompleksi eksprese eden hedef hücreleri pas geçebilir (44). PD-1'in 2 ana ligandı vardır: PD-L1 / CD274 (9 numaralı kromozomda PDCD1LG1 tarafından kodlanmıştır) ve PD-L2 / CD273 (9 numaralı kromozomda PDCD1LG2 tarafından kodlanmıştır) (38, 40). PD-1-PD-L1 etkileşiminin, T hücrelerinin antijene maruz kalma sonrasında inflamatuvar reaksiyonun sınırlanmasında ve T hücresi toleransının uyarılmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, PD-L1 ve PD-L2 arasında farklılıklar vardır (40). PD-L1, aktive T hücreleri ve NK (naturel killer) hücreleri tarafından salgılanan IFN-gama ile indüklenir (şekil 2.5). PD-L1, T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar, Treg hücreleri ve dendritik hücreler gibi birçok immün hücre tipinin yanı sıra vasküler endotel hücreleri ve pankreatik hücreler gibi bazı immün olmayan hücrelerde de eksprese edilir. PD-L2 ise büyük ölçüde makrofajlar ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerle sınırlıdır (38, 40).

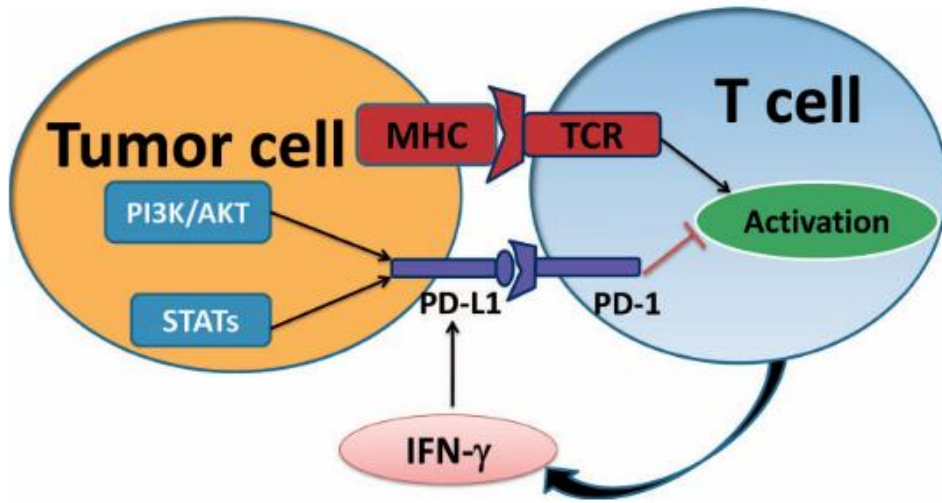
PD-L1 promotör bölgesinin IFN-gamaya yanıt veren birkaç duyarlı alan içermektedir. Dolayısıyla IFN-gamanın lenfoid olmayan dokularda PD-L1 ekspresyonunu etkilediği ve in vitro IFN-gama tedavisinin PD-L1'in upregülasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir (45). Bu nedenle in vivo olarak PD-L1'in IFN-gama aracılı upregülasyonu, periferik toleransa aracılık edebilir. Birçok çalışma, otoimmün ortamlarda IFN-gama'nın immünsüpresif bir rol oynadığını öne sürmüştür. Bu bulgularla uyumlu olarak, PD-L1 ekspresyonunun, deneysel otoimmün ensefalomyelitte ve inflamatuvar miyopatileri olan hastaların kas biyopsilerinde inflamasyon bölgelerinde upregüle olduğu bulunmuştur (45, 46). Bazı otoimmün durumlarda bildirilen IFN-gama'nın faydalı etkisi, inflamasyon bölgelerinde PD-L1 ligand ekspresyonunun indüklenmesine ve daha sonra PD-1 ile bağışıklık mekanizmalarının azalmasına kısmen katkıda bulunabilir (47). Son çalışmalarda T ve NK hücreleri Janus Kinaz 1 (JAK1), JAK2 ve sinyal transducer ve transkripsiyon aktivatörü 1 (STAT1) yolları üzerinden IFN-gama salgılayarak tümör hücre yüzeyleri de dahil olmak üzere PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (48).

PD-1'e bağlanmaya ek olarak, son veriler PD-L1'in PD-1'den daha zayıf afinite ile CD 80 ile de etkileşime girebildiğini ve T hücrelerini inhibe eden sinyaller üretebileceğini ortaya koymuştur. PD-1'i hedef alan antagonistler PD-1'in hem PD-L1 hem de PD-L2'ye bağlanmasını engelleyecektir. Aksine, PD-L1 blokerlerinin çoğu PD-1 / PD-L1 etkileşimini ve PD-L1 / CD80 etkileşimini inhibe ederken PD-1 / PD-L2 etkileşimi üzerinde çok az etkiye sahiptir. Bu tip inhibisyon, daha iyi bir toksisite profili ile daha kesin bir sinyal sağlama potansiyeline sahiptir, çünkü korunmuş PD-1/ PD-L2 etkileşimi belirli bir dereceye kadar self-toleransa katkıda bulunur. Ayrıca PD-L1'in inhibe edilmesi, PD-L1 / CD80 eksenini keserek T hücrelerinin downregülasyonuna da yol açabilir. Dolayısıyla, belirli bir kanserde hangi etkileşimin belirleyici bir rol oynadığına göre PD-1 ve PD-L1 antagonistlerinin gereksiz aktiviteye sahip olmama olasılığı vardır. Dolayısıyla PD-1 / PD-L1 yolunun bloke edilmesinin, tümör dokusundaki T hücrelerinin baskılanmasını tersine çevirebileceği ve T hücrelerinin işlevini eski haline getirebileceği öngörülmüş olup bunun da antitümör bağışıklık yanıtlarını teşvik ederek malignitelerin tedavisine yeni bir yaklaşım getirmiştir (49).

Genel olarak PD-L1 ve PD-1 arasındaki etkileşimler, düzenli immün reaksiyonlar boyunca periferik T hücresi toleransının uyarılmasını ve sürdürülmesini düzenler, T hücresi proliferasyonunu ve sitokin üretimini inhibe eder. Bu nedenle PD-L1, immünitinin hem indüksiyon hem de efektör fazları sırasında otoreaktif T hücrelerinin kritik bir negatif regülatörüdür. PD-L1, naive T hücrelerinin Treglere dönüştürülmesinde kritik bir rol

oyunar. Yapılan çalışmalarda CD4 + T hücrelerinin miyelom hücreleri ile birlikte kültürlenmesi, Treg'lerin üretilmesine yol açar. Üretilen bu Treg'ler baskılayıcı bir fenotipe sahiptir ve doğal olarak oluşan Treg'lere kıyasla artan PD-1 ekspresyonu gösterir (41).

Son yıllarda, spesifik CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin sadece patolojik durumlar varlığında değil, aynı zamanda sağlıklı bireylerde immünregülasyonunda yer alan proteinlerden türetilen epitoplara tanıdığı açıklanmıştır. Yapılan bir çalışmada, PD-L1'den HLA-A2-sınırlı epitop tanımlanmış ve kanserli ve sağlıklı hastaların periferik kanında PD-L1'e karşı doğal, sitolitik T-hücresi reaktivitesinin varlığı gösterilmiştir. PD-L1'e özgü sitotoksik T lenfosit (CTL), immünosüpresif tümör hücrelerinin ve Treg'lerin öldürülmesiyle immüniteyi artırabilmektedir. Bununla birlikte, PD-L1'e özgü CTL'ler, normal bağışıklık hücrelerinin, özellikle de PD-L1 eksprese eden dendritik hücrelerin ortadan kaldırılmasıyla bağışıklığı da baskılayabilir (50). PD-L1'e özgü CTL'lerin işlevinin ve etkilerinin mikroçevreye ve immün yanıtın durumuna göre değişebileceği göstermiştir (41).



Şekil 2.5. PD-L1'in aktive T hücreleri tarafından salgılanan IFN-gama ile indüklenmesi (40)

Kanserlerde PD-L1 ekspresyonunun düzenlenmesi

Tümör mikroçevresi, tümör hücrelerinin ve konakçı bağışıklık sisteminin etkileşime girdiği birincil yerdir. İnsan kanseri mikroçevresindeki bağışıklık tepkilerinin doğasının karakterizasyonu, koruyucu tümör bağışıklığını anlama ve mevcut kanser immünoterapisini iyileştirme ve güçlendirmenin anahtarıdır (42).

Kanser immünoterapisi için PD-1 yolunu bloke eden ilaçların gelişimini teşvik eden önemli bir bulgu, PD-1 ligandlarının birçok insan kanserinde upregülasyonuna karşın PD-1'in TIL'lerde yüksek oranda eksprese edilmesidir (38, 51). PD-L1 solid tümörlerde eksprese edilen ana ligand iken PD-L2 (PD-L1 ile birlikte) B hücreli lenfomalarının bazı alt gruplarında yüksek oranda eksprese edilir.

Tümörde PD-1 ligand artışının intrinsik ve adaptif direnç olmak üzere iki mekanizması vardır. İntrinsik direnç mekanizmasında AKT, STAT3 gibi belli genetik sinyal yollarının artışı nedeniyle tümör hücreleri tarafından eksprese olur. Adaptif direnç mekanizmasında ise aktive CD4 T helper hücreleri, NK hücreleri ve CD8 lenfositler tarafından üretilen IFN-gama gibi spesifik sitokinlere cevaben tümör hücreleri tarafından PD-L1 eksprese edilir. Dolayısıyla tümör mikroçevresindeki TIL'ler ile PD-L1 ekspresyonu koreledir (38) (şekil 2.5).

Kanser hücreleri üzerinde aşırı eksprese edilen PD-L1, aktive edilmiş T hücreleri üzerinde PD-1 ile etkileşime girerek T hücresi yanıtlarının inhibisyonunu ve sitotoksik T hücrelerinin işlev bozukluklarını indükleyebilir. Bu yeniden aktive edilmiş T hücreleri, "T-hücresi tükenmesi" olarak adlandırılan bir durumdadır, yani tümör mikro çevresindeki proliferatif kapasitelerini ve efektör fonksiyonlarını kaybederler. Bu etkilere dayanarak, kanser hücreleri, uyarlanabilir bir bağışıklık direnci mekanizması ile bağışıklık sisteminden kaçmak için PD-1 / PD-L1 yolundan yararlanabilir (49).

PD-L1'in insan kanserlerindeki ekspresyon profili daha önce gözden geçirilmiştir. Tümör hücrelerine ek olarak, tümör çevresel dendritik hücreler (DC'ler), tümörün drene olduğu lenf düğümü DC'leri, makrofajlar, fibroblastlar ve T hücreleri dahil olmak üzere insan tümörüyle ilişkili APC'lerde yüksek seviyelerde PD-L1 protein ekspresyonu gözlenmiştir. PD-L1 ekspresyonu, en potenti IFN-gama olmak üzere birçok sitokin tarafından indüklenebilir veya korunabilir. TIL'ler, IFN-gama sinyal genleri ve PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişki, efektör T hücresinden türetilmiş IFN-gamanın tümör mikroçevresinde yüksek seviyelerde PD-L1 ekspresyonuna katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. İndüklenen tümör PD-L1 ekspresyonu, immün tehdidine yanıt olarak tümör hücreleri için uyarlanabilir bir direnç mekanizması olarak kabul edilir. Ek olarak, onkojenik fosfataz ve tensin homolog (PTEN) kaybı, glioma ve üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde gelişmiş PD-L1 ekspresyonu ile sonuçlanır. Ayrıca T hücreli lenfomada, PD-L1 ekspresyonu, kimerik nükleofosmin (NPM) ve anaplastik lenfoma kinazın (ALK) ekspresyonuna ve enzimatik aktivitesine bağlı olabilir. Böylece, PD-L1 ekspresyonu aynı zamanda intrinsik yolak olan onkojenik yollarla da düzenlenebilir (42).

Deneysel fare modellerinde aşırı PD-L1 ekspresyonu, PD-L1 / PD-1 etkileşimi aracılığıyla T hücre aracılı immün yanıtın inhibisyonu ile sonuçlanır. Bu durum bu etkileşimin bloke edilmesinin kanserlere karşı immünoterapide önemli bir rol oynadığını gösterir. PD-L1, melanom, glioblastom, akciğer kanseri, böbrek kanseri, mide kanseri, kolorektal kanser, pankreas kanseri, meme kanseri ve servikal ve over kanserleri dahil olmak üzere birçok solid tümörde ve multipl miyelom, lenfoma ve çeşitli lösemi tipleri gibi hematolojik malignitelerde eksprese edilir. Aksine, PD-L2 B hücreli lenfomalar gibi hematopoietik tümörlerde eksprese edilmektedir (40).

Bahsedilen bu mekanizmlar üzerinden tedavi protokolleri oluşturmak amacıyla çeşitli ilaçlar üretilmiş olup FDA onayı almıştır. Farklı klinik deneyler, PD-L1 ekspresyonunu ölçmek için farklı ilaç üreticilerinden farklı immünohistokimya (IHK) analizleri kullanmıştır. Bu deneyler, çeşitli PD-L1 epitoplarını tanıyan farklı monoklonal antikör klonlarını kullanır. IHK için sinyalin amplifikasyonu ve tespiti için çeşitli sistemler kullanılır, bu da PD-L1 ekspresyonunun farklı eşik değerlerinde saptanmasına yol açar. Formaldehitte fiksasyon süresi PD-L1'in ekspresyon seviyesini değiştirebilir. Aynı tümör örneğinin farklı bölgelerinde heterojen PD-L1 ekspresyonu vardır. Bu nedenle, küçük biyopsiler üzerinde PD-L1 ekspresyonunun olmaması, sistemik immünolojik manzarayı yansıtmayabilir. Bu durum PD-L1 ekspresyonu negatif olan ve anti-PD-1 veya anti-PD-L1 tedavisine yanıt veren bazı hasta grubunu açıklıyor olabilir (40). Tedavi protokollerinin belirlenmesi için IHK kullanılmasının çeşitli avantajları vardır. Formaldehit ile fiks edilmiş ve parafine gömülmüş dokuda tümör alanının geniş olması, çeşitli hücre popülasyonlarında (tümör ve immün/stromal hücreler) ekspresyonun morfolojiye dayalı görüntülenmesi, testin hızlı olabilmesi ve özellikle moleküler patolojiye dayalı yöntemlerin aksine, patoloji laboratuvarlarında nispeten düşük maliyetli ve yaygın kullanılabilmesi IHK'nın avantajlarıdır.

2.9.2. BRAFV600E

Son yıllarda tiroid kanserinde çok sayıda moleküler değişiklik keşfedilmiş ve karakterize edilmiştir. BRAF gibi bazı moleküler belirteçler, risk sınıflandırmasında ve tiroid kanseri olan hastaların cerrahi ve ameliyat sonrası tedavisini düzenlemek için kullanılabilir (17).

BRAF, insan tümörlerinde en sık mutasyon geçirmiş protein kinaz genlerinden biridir (52). Tüm insan tümörlerinin yaklaşık % 8'i (melanomların % 50'si dahil) BRAF

onkojeninde aktive edici mutasyonlar taşır. Mutasyona uğramış BRAF ve ardından MAPK sinyal yolunun hiperaktivasyonu, bu tümörler için MAPK hedefli tedavilerin kullanımını gündeme getirmiştir (53). Bu tedavilerin altında yatan mantık, tümör hücrelerinin hücreSEL büyümesinin ve hayatta kalmasının, onkojenik yolun devam eden aktivitesine bağlı olmasıdır (54). Driver onkogenlerin keşfi, artan sayıda kanser için terapötik stratejilerde devrim yarattı. Bu stratejiler öncelikle mutasyona uğramış bir onkoproteinin doğrudan inhibisyonuna veya efektör yolunun bir bileşenini hedeflemeye odaklanmıştır (53).

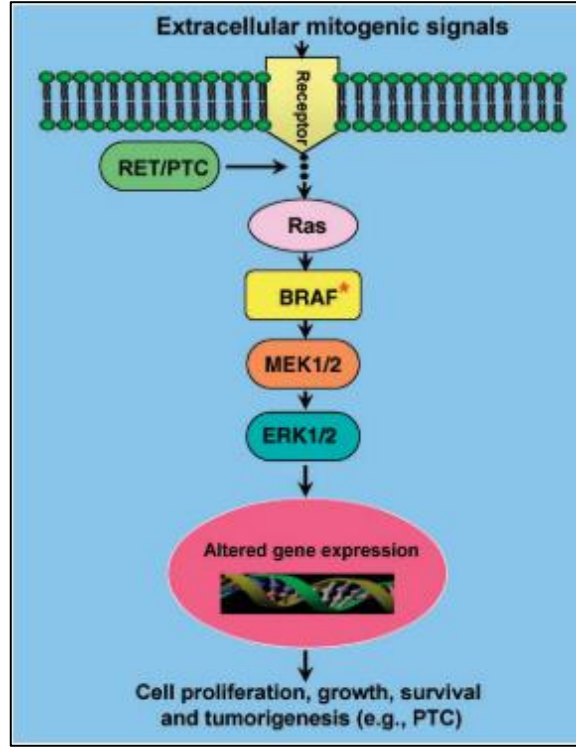
BRAF mutasyonu

2002 yılında, Kanser Genom Projesi, RAS-RAF-MEK-ERK yolağının bir genindeki somatik aktive edici mutasyonların insan malignitelerinde yüksek sıklıkta olduğunu bildirdi (55). Bu mutasyonlar genellikle hücre içi bileşenlerinin mutasyonları veya büyüme faktörü reseptörü tirozin kinazlarının aktivasyonu yoluyla gerçekleşmektedir (52).

RAS-RAF-MEK-ERK (RAS-RAF mitogen activated protein kinase; MAPK) kaskadı hücre büyümesi, proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozu için önemli bir düzenleyici yoldur. Bu yol boyunca sinyal oluşumu, tipik olarak RAS ailesi (HRAS, KRAS ve NRAS dahil) GTPazlarını aktive eden çeşitli plazma membranı büyüme faktörü reseptörleri yoluyla gerçekleşir. Aktif hale getirilmiş RAS proteinleri, RAF kinaz ailesinin (ARAF, BRAF ve CRAF) üyelerini plazma membranına dahil edebilir, bunlarla kompleksleşebilir ve aktive edebilir. Aktif hale getirilmiş RAF kinazlar, MEK/ERK kaskadının diğer kısımlarına nükleer ve sitozolik 150'den fazla downstream hedefine downstream sinyaller gönderir (52, 54) (şekil 2.6).

RAF kinazların 3 formundan biri olan BRAF en poten olanıdır ve 7. kromozomda yer almaktadır. BRAF'ı aktive eden missense nokta mutasyonları, proteinin kinaz domaininde genin 11 ve 15. eksonlarında yer almaktadır. Özellikle, BRAF'taki nükleotid 1779'daki (T1799A) timinin adenine dönüştüren transversiyon mutasyonu, bilinen tüm BRAF mutasyonlarının % 80'inden fazlasını (>%95) oluşturur. Bu mutasyondan kaynaklanan protein ürünü, kodon 600'de (V600E) valin ile glutamik asidin yer değiştirmesi, BRAF kinazı aktive ederek MAPK yolunun hiperaktivasyonuna yol açar (34, 52). Bu düzensiz downstream sinyallemesi, uygunsuz hücre proliferasyonu ve hücrenin sağkalımı ile sonuçlanır. Bu durum onkogeneze katkıda bulunur. Bu mutasyonu taşıyan en sık kanser melanom ve papiller tiroid karsinomudur. Over ve kolorektal kanserler ve

birçok diğ er kanserde de BRAF mutasyonları görülmektedir (52). Bir diğ er daha nadir mekanizma ise kodon 600'  çevreleyen delesyonlar ve insersiyonlar içeren K601E nokta mutasyonu ve radyasyon maruziyeti sonrası gelişen ve PTC'de daha sık görülen AKAP9/BRAF rearanjmanıdır (34).



Şekil 2.6. MAPK yolunun şematik gösterimi (56)

BRAF mutasyonu ve papiller tiroid karsinomu

Papiller tiroid karsinomu (PTC), en yaygın tiroid kanseri türüdür. BRAF gen mutasyonları PTC'nin bazı yayınlarda %35-70'inde bazı yayınlarda %29-%83' nde bildirilmekle birlikte  oğ  çalışmada prevalans% 40-45'e yakındır. Bu durum BRAF gen mutasyonunu PTC'lerinde en yaygın bilinen genetik mutasyon yapar (34, 57, 58).

Tall cell varyantta (% 70-80) olduğu gibi bazı spesifik histolojik varyantlarla daha fazla ilişkilidir. Aynı zamanda klasik papiller büyüme patterni gösteren tümörlerde daha sık karşımıza çıkmaktadır (yaklaşık %60). Bunun aksine folliküler varyant PTC'de %10 oranında izlenmektedir (34, 58). Yapılan diğ er çalışmalarda tall cell varyantta %77, konvensiyonel PTC'de %60 ve folliküler varyantta %12 oranında BRAF mutasyonu saptanmıştır (56). BRAF-pozitif klasik PTC'ler tipik olarak invaziv sınırlara sahip olup fokal tall cell özellikler gösteren alanlar içermektedir (34).

Tiroid kanserinde bulunan BRAF mutasyonu neredeyse tamamen V600E'dir. BRAF mutasyonu, PTC'lerde ve PTC'den gelişmiş undifferansiye karsinomlarda mevcut olup diğer tiroid kanserlerinde veya benign tiroid neoplazmalarında bulunmamaktadır (52). Hashimoto tiroiditi üzerine yapılan bir çalışma dışında adenomatöz guatrda, hiperplastik lezyonlarda veya Hashimoto tiroiditinde mutasyonlar tespit edilmemiştir. Yapılan bir çalışmada, BRAF mutasyonları hem PTC'siz hem de PTC ile birlikte var olan HT alanlarında incelenmiştir. Yalnızca tiroidit alanlarının BRAF mutasyona uğramış PTC alanları ile bir arada bulunduğu saptanmıştır. Bu durum PTC'nin neoplastik hücreleri ile kontaminasyon olasılığını artırmaktadır (58, 59). Folliküler varyant PTC'lerde BRAF'ın başka bir mutasyon formu olan BRAF K6001E mutasyonları %7 oranında saptanmıştır (58).

Mutasyon pozitif kanserler sıklıkla ileri patolojik (TNM) evrelere, ekstratiroidal yayılıma, lenf nodu metastazlarına, tümör persistansı ve nüksüne sahip olduğundan, BRAF mutasyonunun PTC'nin agresifliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (34, 52, 56, 58, 60, 61). Farklı ülkelerden farklı etnik gruplarla yapılan farklı çalışmalarda ekstratiroidal yayılım, ileri evre hastalık ve lenf nodu metastazı ile BRAF mutasyonu arasında ilişki bulunmuştur. Bazı vakalarda primer tümörde mutasyon yok iken lenf nodu metastazında mutasyon görülmüş olup bu durumun lenf noduna metastaze olan tümör hücrelerinde de novo geliştiği düşünülmektedir. BRAF mutasyonu ile büyük tümör boyutu ilişkisi gösterilmiştir ancak küçük tümör boyutu ile ilişkili olduğu gösterilen yayınlar da vardır. Bu yayınlar istisnalar dışlandığında BRAF mutasyonunun invazivliği ve metastazı teşvik ederek PTC'nin agresifliğini arttırdığını ortaya koymaktadır (56, 62).

BRAF mutasyonu yetişkinlerle ilişkili bir mutasyondur ve pediatrik popülasyonlarda nadiren görülür. Erişkin popülasyonda PTC oluşumunu tetikleyen başlıca somatik genetik değişikliktir, Çocuk hasta popülasyonunda RET / PTC rearanjmanı meydana gelme eğilimindedir (34, 56, 63). Yetişkin popülasyonlarda BRAF mutasyonunun ileri yaşla ilişkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Birkaç çalışmada BRAF mutasyonunun erkek cinsiyet ile önemli bir ilişkisi de gözlenmiştir. BRAF mutasyonunun yaşlı ve erkek hastalar için öngörülmesi, yaşlılık ve erkek cinsiyetin tiroid kanserinin ilerlemesi ve saldırganlığı ile bilinen ilişkisini kısmen açıklayabilir (56).

Differansiye tiroid kanserlerinde hastalıksız sağkalım ve nedene yönelik mortaliteyi tahmin etmeye yönelik çok fazla risk klasifikasyon sistemi mevcuttur. Bu sistemler temelde hastaların daha sık takip edilmesi veya RAİ gibi ek tedavi almasını gerektirecek kötü prognozu saptamak için kullanılmaktadır ancak bu sistemlerin hiçbirisi ilk cerrahi

rezeksiyonun genişliği için yönlendirici preoperatif bilgi sağlamamaktadır. Bununla birlikte küçük lokalize tümörlere sahip PTC hastalarının mortalite ve rekürrens riski nedeniyle agresif tedavi gerektirebilecek olanlar preoperatif olarak saptanamamaktadır. Bütün bu sebepler nedeniyle mortalite ve rekürrens riskini öngörebilecek, geniş cerrahi operasyon ve adjuvan tedavi ihtiyacını belirleyebilecek güvenilir bir preoperatif yaklaşım ihtiyacı doğmuştur.

BRAF mutasyonu PTC'de oldukça güvelinir bir prognostik marker olarak öne sürülmüştür. Bu mutasyonun düşük evreli hastalığı olan hastalarda bile tedavi başarısızlığı ve tümör nüksü için bağımsız prediktif faktör olduğu düşünülmektedir (34). Yapılan çalışmalarda düşük evreli (Evre I) PTC'lerde bile BRAF mutasyonu ile PTC rekürrensini önemli bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (62, 64). Ortalama 15 yıllık takip süresi olan papiller karsinomlarla ilgili bir çalışmada, BRAF V600E mutasyonunun tümöre bağlı ölüm için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (61). Çoğu çalışmada olumsuz tümör davranışı ile ilişkisi dökumante edilmiştir. Ancak bazı çalışmalarda böyle bir ilişki bulunamamıştır (56, 65). Bu tutarsız sonuçlar için kesin bir açıklama olmamakla birlikte "olumsuz" çalışmaların çoğunda nispeten az sayıda vaka olması bunu açıklıyor olabilir (56). Güncel bir meta-analizde, BRAF V600E mutasyonunun PTC'li hastalarda nüks riskini artırmadığını göstermiş olup BRAF mutasyonlarının nüks riski üzerindeki etkisini yorumlamak için coğrafi bölge veya tümör evresindeki farklılıkların dikkate alınması gerektiğini vurgulamıştır (66). BRAF mutasyonu undifferansiye ve anaplastik karsinoma ilerlemeye yatkınlık yaratmaktadır. Bu durum da istenmeyen prognoza katkıda bulunmaktadır (34).

Yapılan hayvan deneyleri ve in vitro çalışmalar, BRAF mutasyonunun sadece PTC'nin tümörögenezini başlatmakla kalmayıp, aynı zamanda PTC'nin ilerlemesini sürdürmek için de gerekli olduğu fikrini desteklemektedir (56). Son yapılan çalışmalarda; doku inhibitör matriks metalloproteinase-3 (TIMP3), ölüm ilişkili protein kinase (DAPK), SLC5A8 retinoik asit reseptör $\beta 2$ (RAR $\beta 2$) genleri de dahil olmak üzere PTC'deki birkaç önemli tümör supresör genin aberran metilasyonu ile BRAF mutasyonu arasında yakın bir ilişki gösterilmiştir. BRAF ilişkili hipermetilasyonun ekstratiroidal invazyon, lenf nodu metastazı ve ileri evre gibi yüksek riskli klinikopatolojik karakteristik ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yine son çalışmalarda VEGF aşırı ekspresyonunun BRAF mutasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Metilasyonla TIMP3'ün susturulmasının ve VEGF aşırı ekspresyonun ikili anjiyogenik etki yapması, BRAF mutasyonu ile indüklenen progresyon ve invazivliğin altında yatan moleküler mekanizmayı açıklamaktadır. Nükleer

transkripsiyon faktör kappa B (NF- κ B) sistemi BRAF mutasyonu ilişkili agresiflik ve progresyonda başka bir önemli yolak olarak düşünülmektedir. Bu yolağın MEK / MAPK / ERK sinyallemeinden bağımsız olarak doğrudan BRAF ile uyarılarak gerçekleştiği düşünülmüştür. Bütün bu yollar ve ekstrasitroidal yayılım, lenf nodu metastazı, evre III-IV hastalık ve rekürrens gibi klinikopatolojik veriler ile BRAF mutasyonu ilişkisi, bu mutasyonun risk değerlendirmesinde var olan klinikopatolojik parametrelere ek olarak yeni bir prognostik marker olarak eklenebileceğini göstermektedir (56).

Medikal tedavide BRAF mutasyonu varlığının prognostik marker olarak kullanılması, hastalığın kötü gidişatı ve rekürrensi hakkında bilgi verebileceğinden ilk tedavinin ne kadar agresif olması gerektiği ve sonrasında yapılacak RAİ tedavisinin dozlanımı açısından ön bilgi verebilir. Bu mutasyonun saptanması aynı zamanda hasta takibi sıklığı ve daha iyi tarama ve görüntüleme yöntemleri kullanılmasını da gerektirebilir (56, 60). İnce iğne aspirasyonundan tanı alan PTC vakalarında bu mutasyonun saptanması değerli olabilir. Bu yaklaşımda hastanın ilk cerrahi ameliyatının tipi ve lenf nodu diseksiyonu kararının verilmesi mutasyon durumuna göre planlanabilir (56).

Tiroid hücrelerinde BRAF mutasyonu sodyum iyodür simporterinin ve iyot metabolizmasından sorumlu diğer genlerin işlevinde değişikliğe yol açarak tümörlerin radyoiyot yakalama kabiliyetinin azalmasından sorumlu gibi görünmektedir. Bu durum rekürren hastalıkta tedavi başarısızlığının sebebi olarak düşünülmektedir (34). Yapılan bir çalışmada BRAF mutasyonu olan primer PTC vakalarının rekürrensinde tümörün radyoiyodine aviditesini kaybettiği bulunmuş (62).

Moleküler testler, BRAFV600E mutasyonunun saptanması için altın standart olarak yaygın bir şekilde kabul edilmesine rağmen, moleküler çalışma, her zaman mümkün olmayan pahalı, emek ve zaman gerektiren bir süreç olmaya devam etmektedir. Mutasyona özgü antikorlarla IHC'nin, son 5-10 yılda pratik kullanımı artırmıştır. Mutasyona özgü antikorlar; düşük dereceli gliomalar için IDH1, akciğer adenokarsinomu için EGFR ve ALK, RAS mutant tümörler için SP174 gibi örneklendirilebilir. Son zamanlarda, BRAF mutasyonunun IHC aracılığıyla saptanması için yeni bir yaklaşım oluşturulmuştur. VE1 IHC'nin BRAFV600E mutasyonunu saptamak için performansı üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Çalışmaların çoğu, VE1 IHC ile moleküler genotipleme arasında mükemmel uyumu doğrulamış ve VE1 IHC'nin BRAFV600E genotiplemesine alternatif olarak kullanılabileceğini önermiştir (60). VE1 IHC'nin çeşitli kanserlerde BRAF T1799A mutasyonunun saptanması için pratik uygulaması için, IHC pozitifliğinin kesme değeri kesin olarak belirlenmelidir (67).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Genel Özellikleri

Bu tez çalışmasına, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Patoloji Anabilim Dalında tanı alan Haziran 2013 ile Aralık 2019 tarihleri arasında total tiroidektomi yapılmış, çapı 1 cm ve üzerinde olan papiller tiroid karsinomu (PTC) olguları dahil edildi. Her olgunun hastemizdeki Nukleus dijital dosya arşiv sisteminden klinik öyküleri araştırılarak; hastalara ait ameliyat tipi, radyoaktif iyot (RAİ) tedavisi alımı, takip süresi, uzak metastaz ve rekürrens varlığı, ölüm-sağkalım durumları kaydedildi. Lenf nodu diseksiyonu yapılmayan vakaların pN durumu radyolojik ve klinik verilerden elde edildi.

Çalışmaya Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı.

3.2. Hemotoksilen & Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi

Seçilen olgulara ait %10'luk formaldehit solüsyonu ile tespit edilmiş ve rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklardan elde edilen Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı preparatlar değerlendirildi. PTC varyantı, minimal ekstratiroidal yayılım varlığı, mikroskopik cerrahi sınır tutulumu, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı varlığı, metastatik tümör odağının boyutu, metastatik lenf nodunda ektranodal yayılım varlığı ve HT bulguları tekrar değerlendirildi. PTC varyantı WHO 2017 tiroid tümörleri sınıflaması baz alınarak yapıldı (33). Multifokal tümörlerde en büyük odağın histopatolojik tipi çalışma verilerine dahil edildi. Tümörün tiroid kapsülü/sınırları dışındaki çevre yağ fibröz ve kas dokuya infiltrasyonu minimal ekstratiroidal yayılım olarak kabul edildi (9). Mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği, cerrahi sınır doku boyası ile işaretlenmiş olan alanlarda tümör varlığı pozitif olarak kabul edildi. Vasküler lümeninde tümör hücre gruplarının duvara tutunmuş ve veya endotel ile çevrili olması durumu lenfovasküler invazyon olarak değerlendirildi (34). Metastatik lenf nodunda ektranodal yayılım lenf nodu kapsülü dışına mikroskopik tümör invazyonu varlığında kabul edildi. Mikroskopik olarak stromada lenfoplazmatik infiltrasyon ve follikül epitel hücrelerinde onkositik değişiklikler varlığında HT olarak değerlendirildi (9). Tümör çapı ve tümörün multifokalite

durumu patoloji raporundan kaydedildi. En büyük tümör odağından herhangi farklı bir odak varlığında multifokal olarak kabul edildi.

Tümör evrelendirilmesi “American Joint Committee on Cancer (AJCC)” differansiye tiroid kanserlerinde TNM evrelemesine göre yapıldı (9).

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri

Her bir olgu için komşu tiroid dokusunu da içerecek şekilde tümörü en iyi temsil eden parafin bloklar seçildi. Multifokal olgularda ise en büyük tümör çapına sahip odaktan parafin blok seçildi. Bu parafin bloklardan poli-l-lizin ile kaplı lamlara 3µ kalınlığında kesitler alındı. İmmünohistokimyasal boyama işlemi ‘DAKO Omnis’ cihazında EnVision Flex IHC boyama kitleri kullanılarak otomatik olarak yapıldı. İlgili bloklardan hazırlanan kesitler 60°C’lik etüvde 60 dakika bekletildi. Deparafinizasyon işlemi 25°C’de 1 dakika ‘Clearify (Dako)’ solüsyonu uygulanarak yapıldı. Ardından antijenlerin geri kazanılması için ‘antigen retrieval’ işlemi uygulandı. PD-L1 antikoru için 96 °C’de 20 dakika sitrat tamponunda (EnVFlex HRS, Low pH), BRAFV600E antikoru için 97°C’de 20 dakika sitrat tamponunda (EnVFlex HRS, Low pH) kaynatıldı. Yıkama işleminin ardından; PD-L1 antikoru (Mouse monoklonal, 1:60, clone 22C3, Dako) ve BRAFV600E antikoru (Mouse monoklonal, 1:25, clone MD47, Medaysis) ile 30 dakika inkübasyon işlemi yapıldı. Daha sonra primer antikorla muamele edilmiş kesitlere zemin boyanmanın engellenmesi amacıyla peroksidaz solüsyonu (EnV FLEX Peroxidase-Blocking Reagent,Dako) uygulandı ve 3 dakika inkübe edildi. Yıkama işleminin ardından tüm kesitlere EnV Flex/HRP solüsyonu damlatılarak 20 dakika inkübe edildi. Kesitlere kromojen ve enzim substratı içeren çalışma solüsyonu (EnV Flex Substrate Working Solution, Dako) damlatılıp oda ısısında 5 dakika bekletildikten sonra distile su ile yıkandı. Hematoksilen ile 5 dakika zıt boyama işlemi yapıp alkol, ksilen aşamalarından geçirilerek kapama işlemi gerçekleştirildi.

3.4. İmmünohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

3.4.1. PD-L1 Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

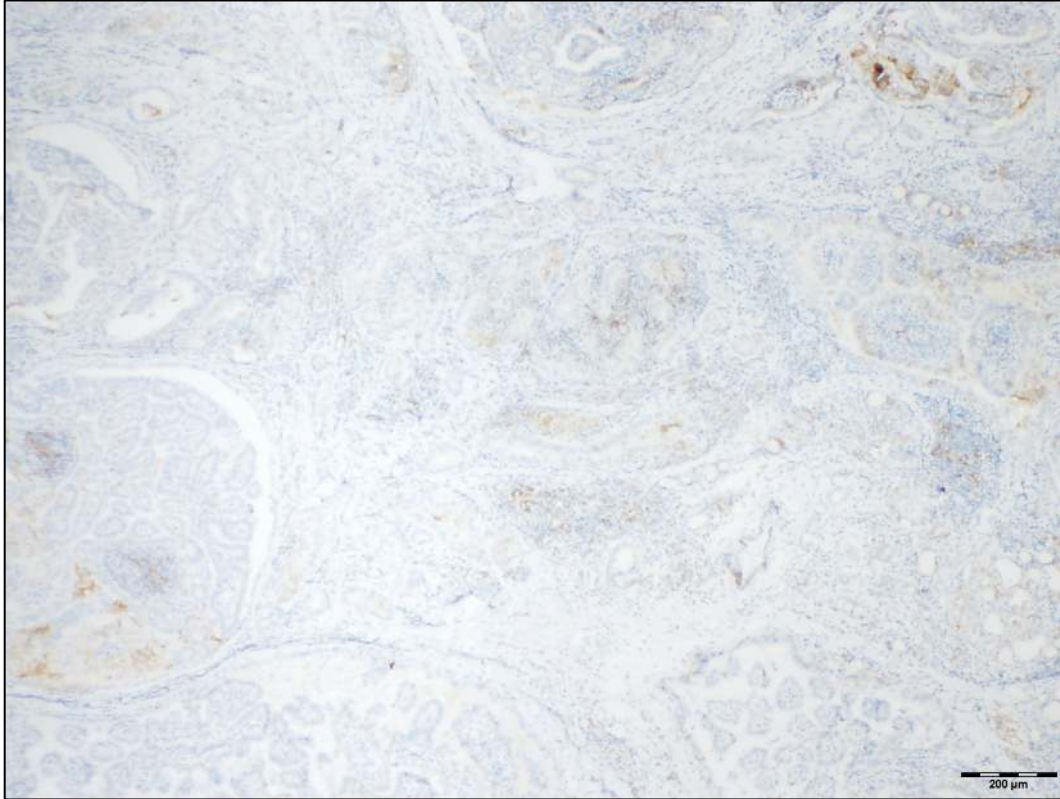
PD-L1 antikorunun, tümör hücrelerinde zemin ve sitoplazmik boyanmadan ayırd edilebilen, herhangi bir yoğunlukta, komplet ve veya parsiyel membranöz boyanma

anlamli olarak tanimlandi. Her kesitteki tüm tümör sahasi değerlendirildi ve pozitif boyanma gösteren hücre oranina göre aşağıda belirtilen şekilde skorlandi (68). Yöntemin pozitif kontrolü için tonsil dokusu kullanildi.

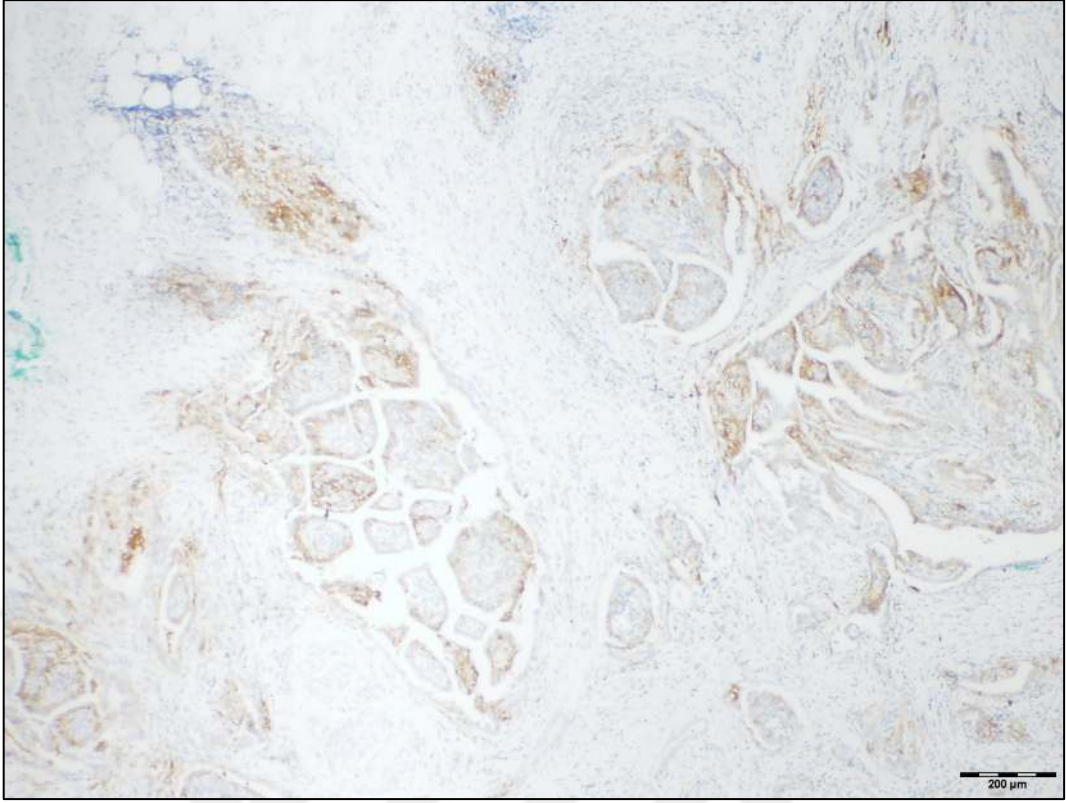
Skor 0 / negatif: %1'den daha az oranda boyanma (resim 3.1)

Skor 1 / pozitif: %1-49 oranında boyanma (resim 3.2)

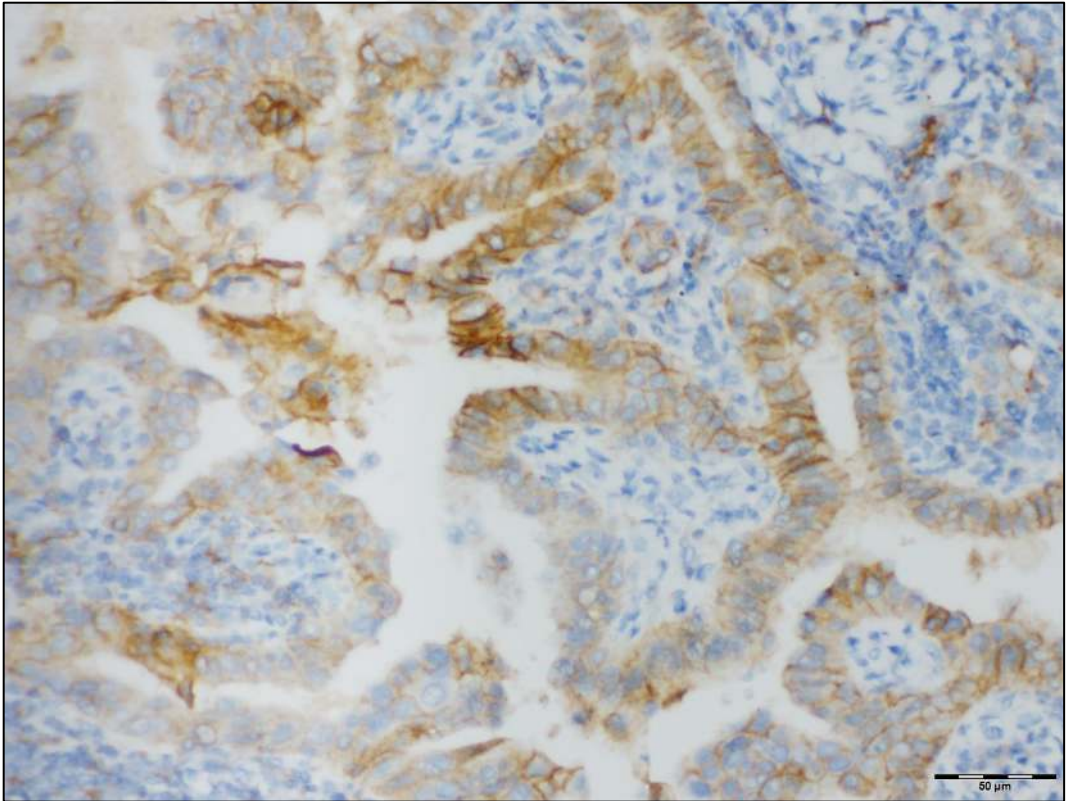
Skor 2 / pozitif: %50 ve üzerinde boyanma (resim 3.3) .



Resim 3.1. PD-L1 antikoru ile negatif / skor 0 boyanma (IHKx40 büyütme)



Resim 3.2. PD-L1 antikoru ile skor 1 boyanma (IHKx40 büyütme)



Resim 3.3. PD-L1 antikoru ile skor 2 boyanma (IHKx400 büyütme)

3.4.2. BRAFV600E Antikoru ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

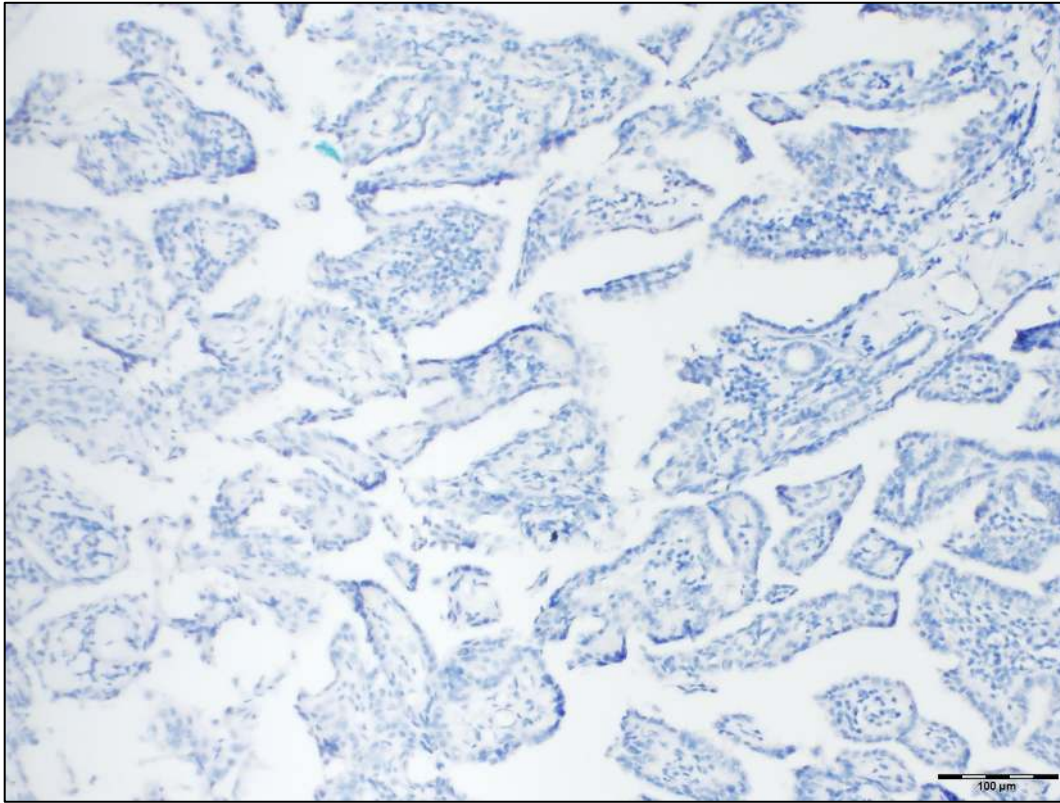
BRAF V600E antikorunun, tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanması anlamlı olarak tanımlandı. Her kesitte tüm tümör sahası değerlendirildi. Tümör hücrelerinin boyanma yoğunluğuna göre aşağıda belirtilen şekilde skorlandı. Boyama yoğunluğu heterojen olduğunda, en yüksek yoğunluğa sahip boyama alanı baz alındı (67, 69). Yöntemin pozitif kontrolü olarak kolon adenokarsinom kullanıldı.

Skor 0 / negatif: Herhangi bir sitoplazmik boyanma yok (Resim 3.4).

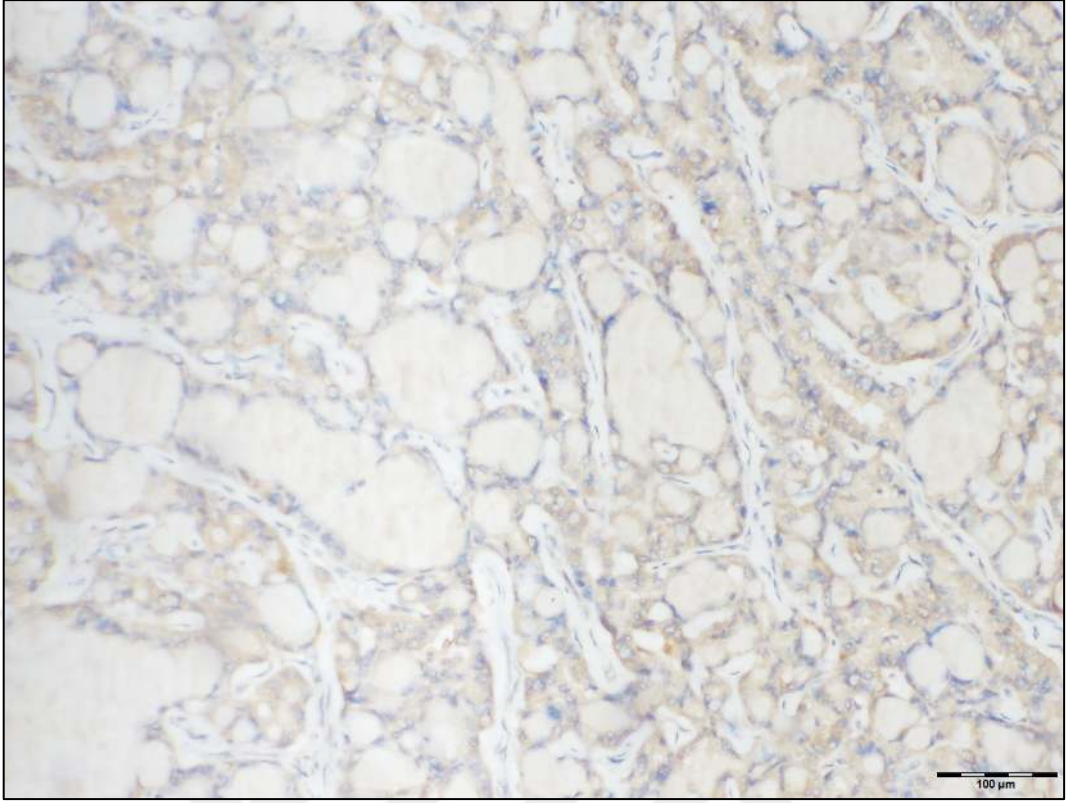
Skor 1: Zorlukla seçilebilen sitoplazmik boyama (Resim 3.5).

Skor 2: Çevre tiroid follikül lümenindeki kolloidden daha zayıf sitoplazmik boyanma (Resim 3.6).

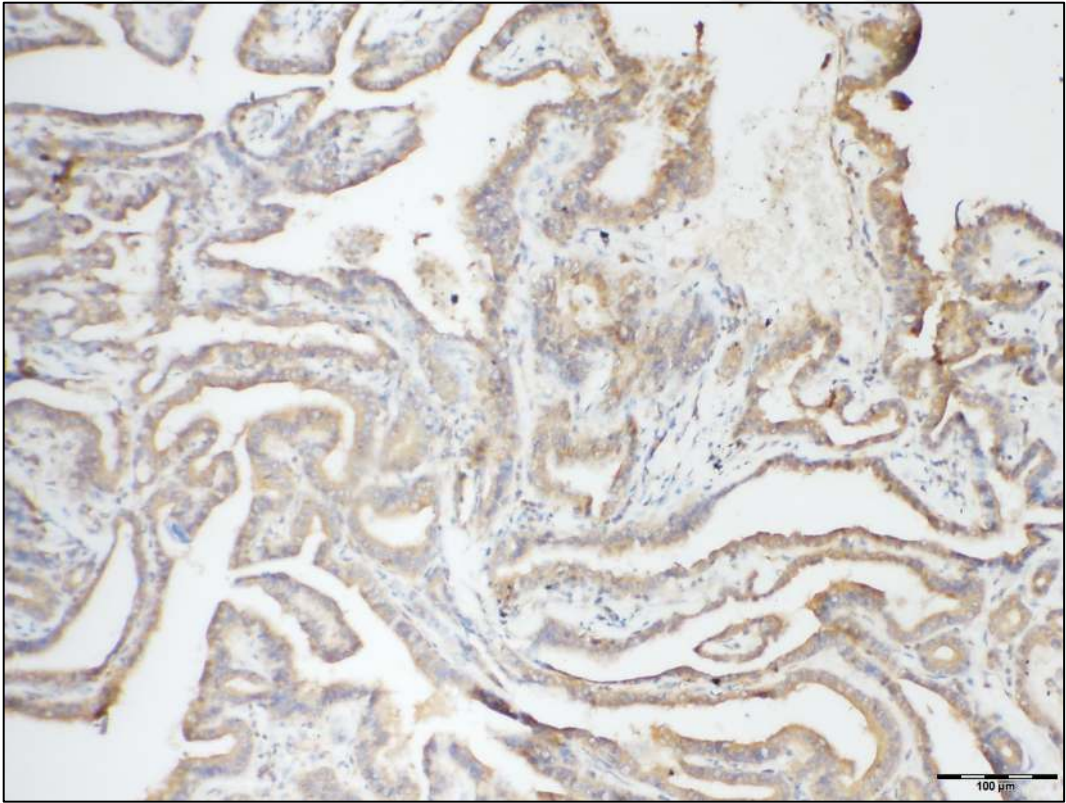
Skor 3: Çevre tiroid follikül lümenindeki kolloidden daha güçlü veya ona eşdeğer sitoplazmik boyanma (Resim 3.7).



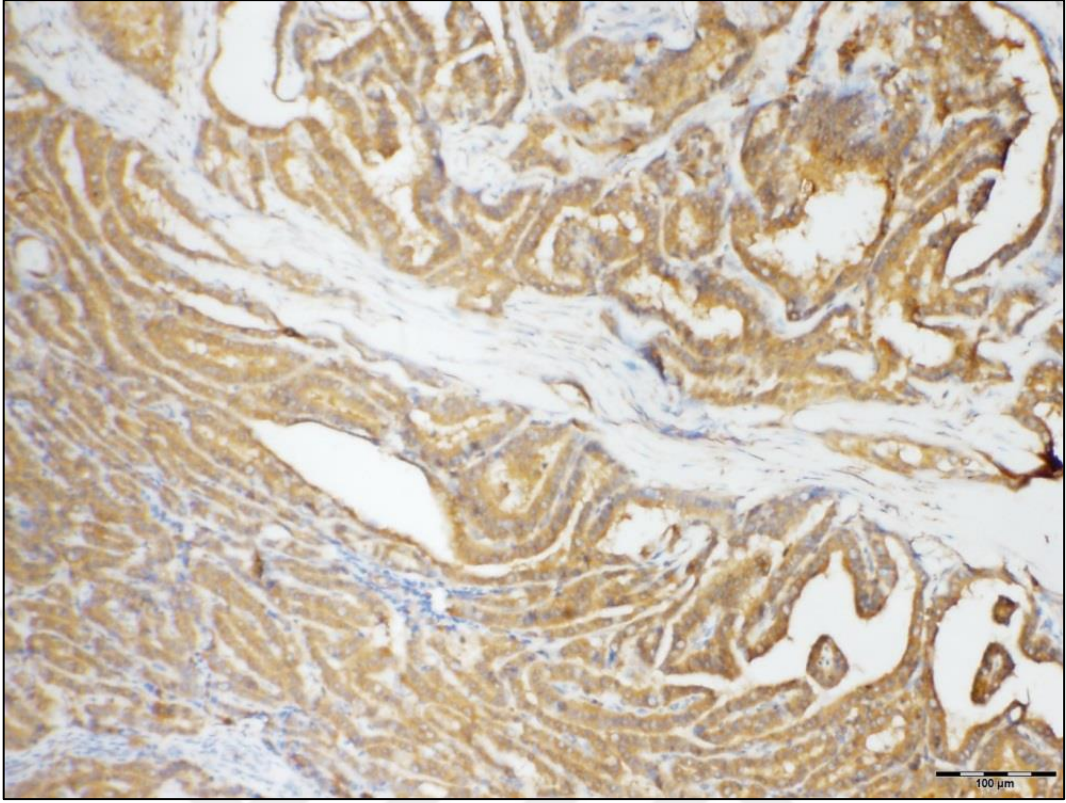
Resim 3.4. BRAF V600E antikoruna ile negatif / skor 0 boyanma (IHKx100 büyütme)



Resim 3.5. BRAF V600E antikoru skor 1 boyanma (IHKx100 büyütme)



Resim 3.6. BRAF V600E antikoru ile skor 2 boyanma (IHKx100 büyütme)



Resim 3.7. BRAF V600E antikoru ile skor 3 boyanma (IHKx100 büyütme)

3.5. İstatiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) for Windows, version 26.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA ile yapılmıştır. Gruplanabilen klinikopatolojik verilerin birbirleri ve immünohistokimyasal veriler ile karşılaştırılmasında Ki-kare testi (*Chi-square test*) kullanıldı. Normal dağılımın olmaması, ordinal değişkenlerin olması ve verilerin bağımsız olması nedeniyle, değerlendirme non-parametrik testler kullanılarak yapıldı. İki'den fazla grubun karşılaştırılmasında *Kruskal Wallis test* ve ikili grupların karşılaştırılmasında *Mann-Whitney U test* kullanıldı. İmmünohistokimyasal veriler arasındaki ilişki *Spearman Correlation Coefficients* testi kullanılarak değerlendirildi. p değerinin 0.05'in altında olması ($p < 0.05$) durumunda sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. PTC hastalarının klinikopatolojik parametreleri

Bu çalışmaya dahil edilen 81 hastanın 62'si (%77) kadın, 19'u (%23) erkektir. Hastaların tanı anındaki ortalama yaşı 45,5 ($\pm 15,04$) median yaş 44 (21-79) olarak hesaplanmıştır. Tanı anındaki yaşı 55'in altında 61 vaka (%75), 55'in üzerinde 20 vaka (%25) mevcuttur. Kadın hastaların tanı anındaki ortalama yaşı 44,9 ($\pm 14,90$) , erkek hastaların ise ortalama yaşı 47,3 ($\pm 15,80$)'dir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların tümü total tiroidektomi ve 28 tanesine (%35) ilaveten boyun diseksiyonu yapılmıştır. Lenf nodu diseksiyonu yapılan 28 vakanın 4 tanesi lateral, 15 tanesi santral ve 9 tanesi santral+lateral boyun diseksiyonudur. Ameliyat sonrasında tüm hastalara RAİ tedavisi uygulanmıştır. Hastaların hiçbirinde tanı anında uzak metastaz mevcut değildir. Hastaların ortama takip süreleri 25,02 ($\pm 17,59$) ay olup en uzun takip edilen hasta 71 ay en kısa takip edilen hasta 2 ay takip edilmiştir. Hastaların hepsi halen yaşamakta olup takipleri süresince hiçbir hastada rekürrens saptanmamıştır.

Hastalara ait klinikopatolojik veriler Tablo 4.1'de görülmektedir.

Klinikopatolojik TNM evreleri incelendiğinde, vakaların 77'si (%95) Evre I, 4'ü (%5) ise Evre II de yer almaktadır. Bu çalışmada evre III ve IV vaka mevcut değildir.

Vakaların tümör boyutlarının ortalaması 1,7 ($\pm 0,99$) cm olarak hesaplandı. Tümör boyutu patolojik T evresine (pT) göre değerlendirildiğinde vakaların 8'i (%10) pT1a, 62'si (%76) pT1b, 7'si (%9) pT2, 4'ü (%5) pT3a olarak kaydedildi.

Boyun diseksiyonu yapılan 28 vakanın 17'sinde (%61) lenf nodu metastazı izlendi. Metastatik lenf nodlarının 6'sı santral bölgede, 4'ü lateral bölgede, 7'si ise santral+lateral bölgede lokalizedir. 7 vakada ektranodal tümör yayılımı mevcuttur. Patolojik lenf nodu (pN) evresi değerlendirildiğinde 64 (%79) vaka pN0 9'u (%14) N0a, 55'i (%86) N0b, 17 vaka (%21) ise pN1 evresindedir.

Histopatolojik olarak PTC varyantları tekrar değerlendirilmesi sonucu 81 olgunun 70'i (%86) klasik, 4'ü (%5) onkositik, 5'i (%6) folliküler, 2'si (%3) diffüz sklerozan varyant olarak saptandı.

Minimal ekstratiroidal yayılım 81 vakanın 27'sinde (%33) izlendi. Mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği vakaların 23'ünde (%28) saptandı. Lenfovasküler invazyon vakaların 32'sinde (%40) izlendi. 43 vakada (%53) ise multifokalite saptandı.

Tümöre eşlik eden HT vakaların 42'sinde (%52) olup 39 vakada (%48) izlenmedi.

Tablo 4.1. Papiller Tiroid Kanseri hastalarının klinikopatolojik verileri

Klinikopatolojik parametreler		vaka sayısı n (%)
Hasta yaşı	<55 yaş	61 (%85)
	≥55 yaş	20 (%25)
Cinsiyet	Kadın	62(%77)
	Erkek	19(%23)
TNM evresi	Evre I	77 (%95)
	Evre II	4 (%5)
pT	T1a	8 (%10)
	T1b	62 (%76)
	T2	7 (%9)
	T3a	4 (%5)
pN	N0	64 (%79)
	N1	17 (%21)
Tümör varyantı	Klasik	70 (%86)
	Onkositik	4 (%5)
	Foliküler	5 (%6)
	Diffüz sklerozan varyant	2 (%3)
Minimal ekstratiroidal yayılım	Var	27 (%33)
	Yok	54 (%67)
Lenfovasküler invazyon	Var	32 (%40)
	Yok	49 (%60)
Multifokalite	Var	43 (%53)
	Yok	38 (%47)
Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu	Var	23 (%28)
	Yok	58 (%72)
Hashimoto tiroiditi	Var	42 (%52)
	Yok	39 (%48)
Toplam		81 (%100)

4.2. Klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

TNM evresinin, 55 yaş eşik değerine göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$). 55 yaşından küçük hastaların tümü TNM evre I iken TNM Evre II olan tüm vakalar 55 yaşından büyük olarak saptandı.

Lenf nodu metastazı olan 17 vakanın 14'ünde (%82) multifokalite mevcut olup 3'ünde (%18) multifokalite izlenmedi. Lenf nodu metastazı olmayan 64 vakanın 29'unda (%45) multifokalite izlenirken 35'inde (%55) multifokalite yoktu (tablo 4.2). Bu iki parametre karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p=0,006$, $r=0,302$) saptanmış olup tümör multifokalitesi olan vakalarda lenf nodu metastazı görülmektedir.

Tablo 4.2. Lenf nodu metastazı ve tümör multifokalitesinin değerlendirilmesi

		Tümör multifokalitesi n (%)		Toplam n (%)	p değeri
		var	yok		
pN	N0	29 (%45)	35 (%55)	64 (%100)	0,006*
	N1	14 (%82)	3 (%18)	17 (%100)	
Toplam n (%)		43 (%53)	38 (%47)	81 (%100)	

Lenfovasküler invazyon izlenen 32 vakanın 22'sinde (%69) multifokalite mevcut olup 10'unda (%31) multifokalite izlenmedi. Lenfovasküler invazyon izlenmeyen 49 vakanın 21'inde (%43) multifokalite izlenirken, 28'inde (%57) multifokalite yoktu (tablo 4.3). Bu iki parametre karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p=0,02$, $r=0,254$) saptandı. Lenfovasküler invazyon izlenen vakalarda daha fazla tümör multifokalitesi mevcuttur.

Tablo 4.3. Lenfovasküler invazyon ve tümör multifokalitesinin değerlendirilmesi

		Tümör multifokalitesi n (%)		Toplam n (%)	p değeri
		var	yok		
Lenfovasküler invazyon	var	22 (%69)	10 (%31)	32 (%100)	0,02*
	yok	21 (%43)	28 (%57)	49 (%100)	
Toplam n (%)		43 (%53)	38 (%47)	81 (%100)	

Lenfovasküler invazyon izlenen 32 vakanın 20'si (%63) minimal ekstratiroidal yayılım göstermekte olup 12'sinde minimal ekstratiroidal yayılım izlenmedi. Lenfovasküler invazyon izlenmeyen 49 vakanın 7'sinde minimal ekstratiroidal yayılım izlenirken 42'sinde (%86) minimal ekstratiroidal yayılım yoktur (tablo4.4). Bu iki parametre karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0,001$, $r=0,5$). Lenfovasküler invazyon izlenen tümörlerde daha fazla minimal ekstratiroidal görülmektedir.

Tablo 4.4. Lenfovasküler invazyon ve minimal ekstratiroidal yayılımın değerlendirilmesi

		Minimal ekstratiroidal yayılım n (%)		Toplam n (%)	p değeri
		var	yok		
Lenfovasküler invazyon	Var	20 (%63)	12 (%37)	32(%100)	< 0,001*
	Yok	7 (%14)	42 (%86)	49 (%100)	
Toplam n (%)		27 (%33)	54 (%67)	81 (%100)	

Mikroskopik olarak cerrahi sınır tutulumu olan 23 vakanın 15'inde (%65) minimal ekstratiroidal yayılım izlenirken 8'inde (%35) minimal ekstratiroidal yayılım yoktur. Cerrahi sınır tutulumu olmayan 58 vakanın 12'sinde (%21) minimal ekstratiroidal yayılım izlenmekte iken 46'sında (%79) minimal ekstratiroidal yayılım yoktur (tablo 4.5). Bu iki parametre karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p<0,001$, $r=0,426$) mevcuttu. Mikroskopik olarak cerrahi sınır tutulumu olan vakalarda minimal ekstratiroidal yayılım görülmektedir.

Tablo 4.5. Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu ve minimal ekstratiroidal yayılımın değerlendirilmesi

		Minimal ekstratiroidal yayılım n (%)		Toplam n (%)	p değeri
		var	yok		
Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu	Var	15 (%65)	8 (%35)	23 (%100)	< 0,001*
	Yok	12 (%21)	46 (%79)	58 (%100)	
Toplam n (%)		27 (%33)	54 (%67)	81 (%100)	

Bu çalışmada 42 vakada (%52) HT saptandı. Bu vakaların 37'si (%88) kadın, 5'i erkektir (tablo 4.6). Cinsiyete göre HT olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p=0,01$). HT olan kadın hastaların sayısı erkek hastalardan 7 kat fazla olduğu görülmektedir.

Tablo 4.6. HT ve cinsiyetin karşılaştırılması

		Hashimoto tiroiditi n (%)		Toplam n (%)	p değeri
		var	yok		
Cinsiyet	kadın	37 (%60)	25 (%40)	62 (%100)	0,01*
	erkek	5 (%26)	14 (%74)	19 (%100)	
Toplam n (%)		42 (%52)	39 (%48)	81 (%100)	

Tümör varyantlarındaki HT varlığı tablo 4.7 'de görülmektedir. HT olan 42 vakanın %79'u klasik varyanttır. Var olan 4 adet onkositik varyantın tümü, 5 folliküler varyantın 4'üne HT eşlik etmektedir.

TNM evresi pT, pN, minimal ekstratiroidal yayılım, lenfovasküler invazyon, multifokalite ve mikroskopik cerrahi sınırı tutulumu ile HT arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.7. Tümör varyantlarındaki HT durumu

		Tümör Varyantı				Toplam n (%)
		klasik	onkositik	foliküler	diffüz sklerozan	
HT	var	33 (%79)	4 (%10)	4 (%10)	1(%1)	42 (%100)
	yok	37 (%94)	0 (%0)	1 (%3)	1 (%3)	39 (%100)
Toplam n (%)		70 (%86)	4 (%5)	5 (%6)	2 (%3)	81 (%100)

Kadınların daha yüksek oranda ve daha erken yaşlarda tanı aldığı görülmüş olsa da yaş ve cinsiyet dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0,05$).

TNM evresi pT, pN, mikroskopik ekstratiroidal yayılım, lenfovasküler invazyon, multifokalite ve mikroskopik cerrahi sınırı tutulumunun cinsiyete arasında anlamlı fark saptanmadı. ($p>0,05$).

pT, pN, minimal ekstratiroidal yayılım, lenfovasküler invazyon, multifokalite ve mikroskopik cerrahi sınır tutulumunun 55 yaş eşik değerine göre karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

4.3. PD-L1 boyanma skorları ve klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen 81 PTC vakasının 35 'i (%43) skor 0 / negatif, 38'i (%47) skor 1 ve 8'i (%10) ise skor 2 olarak değerlendirildi. PDL-1 boyanma skorları ve hastaların klinikopatolojik verileri tablo 4.8'de karşılaştırıldı.

HT eşlik eden 42 (%52) PTC vakasının 10'u (%24) skor 0 / negatif, 24'ü (%57) skor 1 ve 8'i (%19) skor 2 boyanma göstermekteydi. Skor 2 boyanma izlenen 8 vakanın tümünde skor 1 boyanma gösteren 38 vakanın 24'ünde (%63)'ünde HT mevcuttu. HT olmayan 38 vakanın 25'i (%66) skor 0 / negatifti. HT varlığına göre PD-L1 boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p< 0,001$). HT eşlik eden vakalarda PD-L1 boyanma skoru HT eşlik etmeyen vakalara göre daha yüksek saptandı.

Tümör varyantlarına göre boyanma skorlarının dağılımı incelendiğinde 70 klasik varyant PTC vakasının 32'si (%46) skor0 / negatif, 33'ü (%47) skor 1 ve 5'i (%7) skor 2 olarak değerlendirildi. Toplam onkositik varyant sayısı 4 olup bunların 3'ü skor 3 boyanma

göstermekteydi. 5 folliküler varyant vakanın ise 4'ü skor 2 ve 2 diffüz sklerozan varyantın tamamı skor 0 / negatif olarak değerlendirildi. Tümör varyantlarına göre PD-L1 boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,009$). Buna göre onkositik varyant PTC'lerde PD-L1 boyanma skorunun fazla olduğu izlendi.

Tablo 4.8. PD-L1 skorlanması ve klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

		PD-L1 skoru			p değeri
		Negatif / skor 0 (n=35)	skor 1 (n=38)	skor 2 (n=8)	
Hasta yaşı	<55 yaş	28	29	4	0,1
	≥55 yaş	7	9	4	
Cinsiyet	Kadın	24	31	7	0,1
	Erkek	11	7	1	
TNM evresi	Evre I	33	36	8	0,6
	Evre II	2	2	0	
Tümör boyutu	<2 cm	27	30	7	0,4
	2-4 cm	5	7	1	
	>4 cm	3	1	0	
pT	T1a	3	5	0	0,2
	T1b	28	27	7	
	T2	1	5	1	
	T3a	3	1	0	
pN	N0	25	32	7	0,1
	N1	10	6	1	
Tümör varyantı	Klasik	32	33	5	0,009*
	Onkositik	0	1	3	
	Folliküler	1	4	0	
	Diffüz sklerozan varyant	2	0	0	
Minimal ekstratiroidal yayılım	Var	14	12	1	0,1
	Yok	21	26	7	
Lenfovasküler invazyon	Var	17	12	3	0,2
	Yok	18	26	5	
Multifokalite	Var	22	18	3	0,1
	Yok	13	20	5	
Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu	Var	7	14	2	0,2
	Yok	28	24	6	
HT	Var	10	24	8	<0.001*
	Yok	25	14	0	

Tanı anındaki hasta yaşına göre 55 yaşın altındaki vaka grubunda skor 1 boyanma ön plandaydı. Vakaların 28'i (%46) skor 0 / negatif, 29'u (%48) skor 1 ve 4'ü (%7) skor 3 olarak saptandı. 55 yaşın üzerindeki hasta grubunda daha homojen bir dağılım mevcut olup vakaların 7'si (%35) skor 0 / negatif, 9'u (%45) skor 1 ve 4'ü (%20) skor 3 olarak saptandı. 55 yaşından küçük ve büyük hastalarda PD-L1 boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi ($p>0,05$).

Kadın hastalarda skor 1 boyanma ön plandaydı. Vakaların 24'ü (%39) skor 0 / negatif, 31'i (%50) skor 1 ve 7'si (%11) skor 3 olarak saptandı. Erkek hastalarda ise skor 0 / negatif boyanma ön planda olup vakaların 11'i (%58) skor 0 / negatif, 7'si (%37) skor 1 ve 1'i (%5) skor 3 olarak izlendi. Kadın ve erkek hastalarda PD-L1 boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi ($p>0,05$).

TNM evresine göre Evre I olan 77 vakanın 33'ü (%43) skor 0 / negatif, 36'si (%47) skor 1 ve 8'i (%10) skor 2 idi. Evre II olan 4 vakanın yarısı negatif kalan yarısı ise skor 2 idi. TNM evresine göre PD-L1 boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Patolojik T evresine göre skorların dağılımına bakıldığında pT1a'da skor 2 boyanma izlenmedi. 3 vaka (%38) skor 0 / negatif ve 5 vaka (%62) skor 1 olarak izlendi. pT1b'deki 62 vakanın 28'i (%45) skor 0 / negatif, 27'si (%44) skor 1 ve 7'si (%11) skor 2 olarak saptandı. pT2 olan 7 vakada skor 1 boyanma ön planda olup 7 vakanın 5'i (%72) skor 1, 1'i (%14) skor 0 / negatif ve 1'i de (%14) skor 2 idi. pT3a'da skor 2 boyanma izlenmedi. 3 vaka (%75) skor 0 / negatif ve 1 vaka (%25) skor 1 olarak izlendi. Patolojik T evresine göre PD-L1 boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Patolojik lenf nodu evresine göre skor dağılımı incelendiğinde N0 vaka grubunda skor 2 boyanma oranı skor 0 ve skor 1'den düşüktü. Vakaların 25'ü (%39) skor 0 / negatif, 32'i (%50) skor 1 ve 7'si (%11) skor 3 olarak saptandı. N1 vakalarda da benzer şekilde skor 2 boyanma oranı skor 0 ve skor 1'den düşüktü. Vakaların 10'u (%59) skor 0 / negatif, 6'sı (%35) skor 1 ve 1'i (%6) skor 3 olarak izlendi. Patolojik N evresine göre PD-L1 boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlenmedi ($p>0,05$).

Minimal ekstratiroidal yayılım gösteren 27 vakanın 14'ü (%52) skor 0, 12'si (%44) skor 1 ve 1'i (%4) skor 2 olarak izlendi. Yayılım izlenmeyen vakaların 21'i (%39) skor 0, 26'sı (%48) skor 1 ve 7'si (%13) skor 2 olarak saptandı. Minimal ekstratiroidal yayılım varlığına göre PD-L1 boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi ($p>0,05$).

Lenfovasküler invazyon izlenen 32 vakanın 17'si (%53) skor 0, 12'si (%38) skor 1 ve 3'ü (%9) skor 2 olarak izlendi. İnvazyon izlenmeyen vakaların 18'i (%37) skor 0, 26'sı (%53) skor 1 ve 5'i (%10) skor 2 olarak saptandı. Lenfovasküler invazyon varlığına göre PD-L1 boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tümör multifokalitesi gösteren 43 vakanın 22'si (%51) skor 0, 18'i (%42) skor 1 ve 3'ü (%7) skor 2 olarak izlendi. Multifokalitesi göstermeyen vakaların 13'ü (%34) skor 0, 20'si (%53) skor 1 ve 5'i (%13) skor 2 olarak saptandı. Tümör multifokalitesi varlığına göre PD-L1 boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi ($p>0,05$).

Mikroskobik cerrahi sınır tutulumu izlenen 32 vakanın 7'si (%30) skor 0, 14'ü (%61) skor 1 ve 2'si (%9) skor 2 olarak izlendi. Tutulum izlenmeyen vakaların 28'i (%48) skor 0, 24'ü (%41) skor 1 ve 6'sı (%11) skor 2 olarak saptandı. Mikroskobik cerrahi sınır tutulumuna göre PD-L1 boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı izlenen 17 vakanın 7 tanesinde ektranodal yayılım mevcut olup bu vakaların primer tümörünün PD-L1 ie boyanmasında; 5 vaka negatif, 2 vaka skor 1 olarak değerlendirildi. Bu vaka sayısı istatistiksel analiz yapmak için yetersiz bulundu.

4.4. BRAF V600E Boyanma Skorları ve Klinikopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen 81 PTC vakasının 13'ü (%16) skor 0 / negatif, 22'si (%27) skor 1, 32'si (%40) skor 2 ve 14'ü (%17) ise skor 3 olarak değerlendirildi. BRAF V600E boyanma skorları ve hastaların klinikopatolojik verileri tablo 4.9.'de karşılaştırıldı.

Patolojik T evresine göre boyanma skorlarının dağılımı incelendiğinde skor 3 boyanan 14 vakanın 12'si (%86) pT1b ve 2'si (%14) pT2'dir. pT1a ve pT3a'da skor 3 boyanma izlenmedi. Skor 2 boyanan 32 vakanın 1'i (%4) pT1a, 28'i (%86) pT1b ve 3'ü (%10) pT2'dir. pT3a'da skor 3 boyanma saptanmadı. Skor 1 boyanan 22 vakanın 4'ü (%18) pT1a, 14'i (%64) pT1b, 1'i (%14) pT2 ve 3'i (%4) pT3a olarak izlendi. Skor 0 / negatif boyanan 13 vakanın 3'ü (%23) pT1a, 8'i (%63) pT1b, 1'i (%7) pT2 ve 1'i (%7) pT3a olarak saptandı. Patolojik T evresine göre BRAF V600E boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p = 0,009$). pT1b evresindeki vakaların BRAF V600E boyanma skorlarının pT1a'daki vakalara göre daha yüksek olduğu saptandı.

Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu boyanma skorları dağılıma göre incelendiğinde cerrahi sınır tutulumu izlenen 23 vakanın 6'sı (%26) skor 3, 11'i (%48) skor 2, 4'ü (%17)

skor 1 ve 2'si (%9) skor 0 olarak saptandı. İzlenmeyen 58 vakanın 8'i (%14) skor 3, 21'i (%36) skor 2, 18'i (%31) skor 1 ve 11'i (%19) skor 0 olarak izlendi. Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu olan ve olmayan vakalarda BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu saptandı ($p=0,04$). Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu olan vakalarda BRAF V600E boyanma skorlarının daha yüksek olduğu saptandı.

Tanı anındaki hasta yaşına göre 55 yaş altı vaka grubunda boyanma skorlarının dağılımında 61 vakanın 11'i (%18) skor 3, 14'i (%23) skor 2, 25'i (%41) skor 1 ve 11'i (%18) skor 0 olarak değerlendirildi. 55 yaş üstündeki 20 vakanın 2'si (%10) skor 3, 8'i (%40) skor 2, 7'si (%35) skor 1 ve 3'ü (%15) skor 0 olarak saptandı. 55 yaşından küçük ve büyük hastalarda BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi ($p>0,05$).

Cinsiyete göre skor dağılımında 62 kadın hastanın 11'i (%18) skor 3, 24'i (%39) skor 2, 17'si (%27) skor 1 ve 10'u (%16) skor 0 olarak değerlendirildi. 19 erkek hastanın 3'ü (%16) skor 3, 8'i (%42) skor 2, 5'i (%26) skor 1 ve 3'ü (%16) skor 0 olarak saptandı. Kadın ve erkek hastalarda BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi ($p>0,05$).

TNM evresine göre Evre I olan 77 vakanın en yüksek oranda skor 2 boyanma gösterdiği saptandı. Bu vakaların 13'i (%18) skor 3, 32'i (%41) skor 2, 20'si (%26) skor 1 ve 12'si (%15) skor 0 olarak değerlendirildi. Evre II olan 4 vakanın 1'i (%25) skor 0, 2'si (%50) skor 2 ve 1'i (%25) skor 3'tür. Evre I vakalarda skor 2 boyanma saptanmadı. TNM evresine göre BRAF V600E boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Patolojik lenf nodu evresine göre BRAF V600E skor dağılımı incelendiğinde hem N0 hem N1 vaka grubunda en sık skor, skor 2 olarak saptandı. N0 64 vakanın, 10'u (%16) skor 3, 24'ü (%37) skor 2, 19'u (%30) skor 1 ve 11'i (%17) skor 0 olarak değerlendirildi. N1 17 vakanın 4'ü (%24) skor 3, 8'i (%47) skor 2, 3'ü (%17) skor 1 ve 2'si (%12) skor 0 olarak saptandı. Patolojik T evresine göre BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlenmiştir ($p>0,05$).

Klasik varyant PTC vakalarında skor 2 boyanan vaka sayısı diğer skorlardaki vakalara göre daha fazladır. Klasik varyant vakaların 13'ü (%19) skor 3, 28'i (%40) skor 2, 17'si (%24) skor 1 ve 12'si (%17) skor 0 olarak değerlendirildi. 4 onkositik varyant vakanın her bir skora eşit dağıldığı görüldü. 5 folliküler varyant vakada ise skor 1 vaka 3 tane ve skor 2 vaka 2 tanedir, bu varyantta negatif ve skor 3 vaka saptanmamıştır. Diffüz sklerozan varyant vakanın bir tanesi skor 2 ve diğeri skor 1 olarak izlendi. Tümör

varyantına göre BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlenmiştir ($p>0,05$).

Mikroskobik ekstratiroidal yayılım gösteren 27 vakanın 6'sı (%22) skor 3, 10'u (%37) skor 2, 7'si (%26) skor 1 ve 4'ü (%15) skor 0 olarak değerlendirildi. Yayılım göstermeyen 54 vakanın 8'i (%15) skor 3, 22'si (%40) skor 2, 15'i (%28) skor 1 ve 9'u (%17) skor 0 olarak saptandı. Mikroskobik ekstratiroidal yayılım varlığına göre BRAF V600E boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Lenfovasküler invazyon izlenen 32 vakanın 7'si (%23) skor 3, 15'i (%47) skor 2, 5'i (%15) skor 1 ve 5'i (%15) skor 0 olarak değerlendirildi. İzlenmeyen 49 vakanın 7'si (%14) skor 3, 17'si (%35) skor 2, 17'si (%35) skor 1 ve 8'i (%16) skor 0 olarak saptandı. Lenfovasküler invazyon varlığına göre BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi. ($p>0,05$).

Tümör multifokalitesi gösteren 43 vakanın 5'i (%12) skor 3, 22'si (%51) skor 2, 12'si (%28) skor 1 ve 4'ü (%9) skor 0 olarak değerlendirildi. Multifokal olmayan 38 vakanın 9'u (%24) skor 3, 10'u (%26) skor 2, 10'u (%26) skor 1 ve 9'u (%24) skor 0 olarak saptandı. Tümör multifokalitesi varlığına göre BRAF V600E boyanma skorlarının karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

HT eşlik eden 42 vakanın 9'u (%21) skor 3, 18'i (%43) skor 2, 11'i (%26) skor 1 ve 4'ü (%10) skor 0 olarak değerlendirildi. Eşlik etmeyen 39 vakanın 5'i (%13) skor 3, 14'ü (%36) skor 2, 11'i (%28) skor 1 ve 9'u (%23) skor 0 olarak saptandı. HT eşlik eden ve etmeyen PTC vakalarında BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazında ektranodal yayılıma sahip 7 vakanın primer tümörünün BRAF V600E ile boyanmasında; 2 vaka skor 1, 3 vaka skor 2 ve 2 vaka skor 3 olarak değerlendirilmiştir. Negatif vaka izlenmemiştir. Bu vaka sayısı istatistiksel analiz yapmak için yetersiz bulundu.

Tablo 4.9. BRAF V600E skorlanması ve klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması

		BRAF V600E Skoru				p değeri
		Skor0 / Negatif (n=13)	Skor 1 (n=22)	Skor 2 (n=32)	Skor3 (n=14)	
Hasta yaşı	<55 yaş	11	14	25	11	0,7
	≥55 yaş	2	8	7	3	
Cinsiyet	Kadın	10	17	24	11	1
	Erkek	3	5	8	3	
TNM evresi	Evre I	12	20	32	13	0,4
	Evre II	1	2	0	1	
pT	T1a	3	4	1	0	0,009*
	T1b	8	14	28	12	
	T2	1	1	3	2	
	T3a	1	3	0	0	
pN	N0	11	19	24	10	0.2
	N1	2	3	8	4	
Tümör varyantı	Klasik	12	17	28	13	0.9
	Onkositik	1	1	1	1	
	Foliküler	0	3	2	0	
	Diffüz sklerozan varyant	0	1	1	0	
Minimal ekstrapatolojik yayılım	Var	4	7	10	6	0.5
	Yok	9	15	22	8	
Lenfovasküler invazyon	Var	5	5	15	7	0.1
	Yok	8	17	17	7	
Multifokalite	Var	4	12	22	5	0,5
	Yok	9	10	10	9	
Mikroskopik cerrahi sınır tutulumu	Var	2	4	11	6	0.04*
	Yok	11	18	21	8	
HT	Var	4	11	18	9	0,08
	Yok	9	11	14	5	

4.5 BRAF V600E ve PD-L1 boyanma skorlarının karşılaştırılması

BRAF boyanma skoru ve PD-L1 ekspresyon oranları karşılaştırılması Tablo 4.10'da verildi. Bu iki parametre arasında düşük düzeyde ancak istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon bulundu ($p=0,02$, $r=0,242$). BRAF V600E boyanma skoru arttıkça PD-L1 boyanma skoru artmaktaydı.

Tablo 4.10. PD-L1 ve BRAF V600E skorlarının karşılaştırılması

		BRAF V600E skoru				Toplam (n)	p değeri
		negatif	skor 1	skor 2	skor 3		
PD-L1 skoru	negatif	7	12	13	3	35	0,02*
	skor 1	5	10	14	9	38	
	skor 2	1	0	5	2	8	
Toplam		13	22	32	14	81	

5. TARTIŞMA

Tiroid maligniteleri endokrin sistem tümörleri arasında en sık görülen malign tümörlerdir. Tiroid kanserlerinin ise en sık görülen tipi papiller tiroid karsinomlarıdır ve diyetle iyot eksikliği olmayan ülkelerde tiroid malignitelerinin %80-85'i oluştururlar (70). Tiroid kanserinin görülme sıklığı ve ölüm oranı giderek artmaktadır. Papiller tiroid karsinomu (PTC), iyi prognozlu (5 yıllık sağkalım oranı,% 95-98) tiroid karsinomlarının en büyük bölümünü oluşturur. Bununla birlikte, tüm tiroid kanserlerinin yaklaşık % 10'unun prognozu kötüdür (71, 72). Bu nedenle, hasta prognozunun daha iyi tahmin edilmesini ve uygun tedavinin planlanmasını kolaylaştıran klinikopatolojik faktörlerin belirlenmesi önemlidir. Tiroid kanserinin iyi bilinen prognostik faktörleri arasında yaş, cinsiyet, tümör histolojisi, tümör boyutu, lenf düğümü veya uzak metastaz, ekstratiroidal yayılım ve onkojen ekspresyonu yer alır.

1973-2001 yıllarında Amerikadaki SEER veritabanından elde edilen verilere göre tiroid kanserlerinden ölüm oranlarının erkek hastalarda arttığı dikkati çekmiştir. Kadınlarla karşılaştırıldığında, erkeklerde daha yüksek gross ekstratiroidal yayılım oranları (% 51'e karşı % 39), daha fazla bölgesel lenf nodu tutulumu olasılığı (% 40'a karşı % 32) ve uzak metastaz oranının iki katından fazla (% 9'a karşı % 4) olduğu saptanmıştır (73). Olgu serimizde cinsiyetler arasında minimal ekstratiroidal yayılım ve lenf nodu metastazı yönünden anlamlı fark bulunamamıştır.

Papiller karsinom her yaşta ortaya çıkabilir ve nadiren konjenital tümör olarak teşhis edilir. Çoğu tümör, hastaların üçüncü ila beşinci dekadında teşhis almaktadır (34). Tanı anındaki yaş, hastalık seyrinde kritik bir prediktif faktördür; 40 yaşın üzerindeki hastalarda nüks oranları artmış ve mortalite azalmıştır. Bu oranlar 60 yaşından sonra önemli ölçüde kötüleşir (73). 1973-2009 yılları arasında Amerikadaki SEER veritabanı incelendiğinde 45 yaşın altındaki hastalar arasında büyük çoğunluğu (% 99,3) evre I olduğu dikkati çekmiştir (74). Son zamanlarda yapılan uluslararası çok merkezli retrospektif bir çalışma da ise yaş sınırını 45'ten 55 yıla taşınmasına neden olmuştur (24, 75). Bizim çalışmamızda hasta grupları 55 yaş eşğine göre gruplandırılmış olup Evre II olan tüm vakalar 55 yaşından büyük olarak saptanmıştır.

Zhao ve ark. total tümör boyutu 1 cm'den büyük multifokal PTC'lerde lenf nodu metastazı oranlarını daha fazla olarak saptamıştır. Analiz edilen 212 vakanın 72'si multifokal olup bu vakaların %51'inde lenf nodu metastazı izlenmiştir (76). 2015 yılında

Sun ve ark yaptığı 9084 hastanın dahil edildiği meta analizde multifokalitenin lenf nodu metastaz riskini arttırdığı ve aralarında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (77). Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda da lenf nodu metastazı olan vakalarda multifokalite oranı daha yüksek olarak (%82) saptanmıştır.

Yapılan literatür araştırmasında az sayıda yayın multifokalite ve lenfovasküler invazyon ilişkisini gözden geçirmiştir. Tan ve ark 122 vakalık serilerinde multifokalite ve lenfovasküler invazyon arasında ilişki bulamamışlardır (78). Biz çalışmamızda lenfovasküler invazyon izlenen vakaların çoğunun (%69) multifokal olduğunu saptadık.

Shin ve Leboulleux yaptıkları retrospektif çalışmalarda, minimal ekstratiroidal yayılım ile lenf nodu metastazı varlığı arasında bir ilişki olduğunu öne sürerek, minimal ekstratiroidal uzantının PTC'deki hastalık biyolojisinin bir göstergesi olduğu sonucuna varmıştır. Ancak hiçbir minimal ekstratiroidal yayılımı, kalıcı hastalık, nüks veya sağkalım için bağımsız prediktif bir faktör olarak gösterememiştir (28, 29). Büyük klinikopatolojik analiz sonucunda minimal ekstratiroidal yayılımın ve mikroskopik cerrahi sınır pozitifliğinin benzer şekilde hastalığın klinik gidişatına herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (26, 79). Bu nedenle son AJCC evreleme sisteminde minimal ekstratiroidal yayılıma prognostik parametre olarak yer verilmemiştir. Yapılan bir yayında mikroskopik olarak tümörün kapsül dışına invazyonunun yani minimal ekstratiroidal yayılımın yüksek rekürrens oranları, lenf nodu tutulumu ve mortalite ile ilişkisi ortaya konmuştur (73). Çalışmamızda ise minimal ekstratiroidal yayılım ile lenfovasküler invazyon ve mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmektedir. Minimal ekstratiroidal yayılımın, majör bir prognostik parametre olarak gösterilmese de çalışmamızda lenfovasküler invazyon ve mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği gibi tümör agresifliğini gösteren parametrelerle ilişkisinin gösterilmesi minimal ekstratiroidal yayılımın hastalığın seyrini kötü etkileyebileceğini düşündürmüştür.

Tiroid kanserinin görülme sıklığı ve ölüm oranı giderek artması ve tüm tiroid kanserlerinin yaklaşık % 10'unun prognozu kötü olması nedeniyle hasta prognozunun daha iyi öngörülebilmesi ve uygun tedavinin planlanmasını kolaylaştıran klinikopatolojik faktörlerin belirlenmesi önemlidir (67). Son yıllarda, PD-1 / PD-L1'i hedefleyen immün kontrol noktası blokajının, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiş ve tümörde PD-L1'in immünohistokimyasal ekspresyonu ile klinik sonuçlar arasında önemli bir korelasyon izlenmiştir (1). Bir tümörün PD-L1 ekspresyon durumunun belirlenmesi, uygun tümör immünoterapi yaklaşımlarının seçilmesine yardımcı olabilir.

Tiroid kanserinde PD-L1 ekspresyonu, birtakım kötü prognostik gösterge ile ilişkilendirildiğinden, umut verici PD-1 / PD-L1 yolu antagonistik antikorları, agresif gidişat gösteren, RAI tedavisine dirençli, rekürrens gösteren PTC vakalarının immünoterapisi için dikkate alınabilir.

Agresif PTC'nin altında yatan mekanizmalar incelenmeye devam etmektedir. Konakçı bağışıklık hücrelerinin kanser hücrelerini tanıyıp ortadan kaldırabildiği, ancak kanserlerin, antijen tanımayı downregüle etmesi, immün-inhibe edici ligandların ekspresyonu ve baskılayıcı immün hücre popülasyonlarının görevlendirilmesi dahil olmak üzere immün yıkımdan kaçmak için mekanizmalar geliştirdiği tespit edilmiştir (80).

Cunha ve ark yaptıkları çalışmada ileri tanı yaşı ve ileri evre ile PD-L1 mRNA seviyeleri arasında pozitif doğrusal bir ilişki gözlemlemiştir (81). Girolami ve ark yaptığı meta analiz çalışmasında ve Shi ve ark 260 PTC vakasıyla yaptığı çalışmada azalmış hastalıksız sağkalım süresi ile PD-L1 ekspresyonu arasında ilişki saptamışlardır (82, 83). Chowdhury ve ark. 185 PTC vakasını incelemiş olup PD-L1 ekspresyonunun daha yüksek nüks riski ve kısalmış hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (84). Literatürde ekstratiroidal yayılım, multifokalite, (2, 4, 81, 82, 84, 85) TNM evresi, lenf nodu metastazı (2, 4, 82, 84, 85) ve lenfovasküler invazyonun (2, 4, 84, 85) dahil olduğu agresif gidişata dair kötü prognostik parametreler ile PD-L1 ekspresyonu ilişkisi gösterilememiştir. Önemli prognostik parametrelerden biri olan tanı anındaki hasta yaşı açısından PD-L1 ekspresyonu farklılık göstermemektedir (82). Ayrıca cinsiyet ile PD-L1 boyanması arasında anlamlı istatistiksel bir ilişki bulunamamıştır (81, 82). Bizim çalışmamızda cinsiyet, tanı anındaki hasta yaşı, lenfovasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım, multifokalite, lenf nodu metastazı ve evre ile PD-L1 ekspresyonu arasında ilişkisi gösterilememiştir. Çalışmamızdaki örneklem kümesinin az sayıda hasta içermesi, Cunha ve ark. çalışmasında kullanılan PD-L1 mRNA ölçümlerinin yapılamaması, çalışmamızın ileri evre (Evre III ve IV) vaka içermemesi, nüks eden hasta popülasyonu bulunmaması ve hastaların halen yaşamakta olması nedeniyle PD-L1 pozitif vakalarda olası kötü prognozla ilişkili gösterilemediği düşünülmüştür.

Çalışmaların çoğu, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun olumsuz bir prognostik belirteç olduğunu göstermiştir (40). Bununla birlikte, PD-L1 upregülasyonunun meme kanseri ve yüksek dereceli seröz over karsinomunda pozitif bir prognostik belirteç olarak hizmet ettiğini gösteren bazı çalışmalar vardır. Bu çalışmalarda PD-L1 ekspresyonunun daha iyi prognoz anlamına gelebileceğini ortaya koymuştur (86-88). Bu muhtemelen bu kanserlerde artan sitotoksik T hücre bağışıklığına bağlıdır. Bu

tutarsızlıklara yol açan mekanizmalar belirsizdir. Bununla birlikte, bu çalışmalarda PD-L1'i saptamak için farklı monoklonal antikörler kullanılarak standartlaştırılmamış IHK metodolojilerinin kullanımı bu çelişkili sonuçlara neden oluyor olabilir. Farklı klinik deneyler, PD-L1 ekspresyonunu ölçmek için farklı ilaç üreticilerinden farklı IHK analizleri kullanmıştır. Bu deneyler, çeşitli PD-L1 epitoplarını tanıyan farklı monoklonal antikör klonlarını kullanır. IHK için sinyalin amplifikasyonu ve tespiti için çeşitli sistemler kullanılır, bu da PD-L1 ekspresyonunun farklı eşik değerlerinde saptanmasına yol açar (40). Yapılan çalışmalarda klinikopatolojik prognostik parametreler ile PD-L1 boyanma oranları arasındaki ilişkilerin farklı yayınlarda çeşitli sonuçlar göstermesi farklı antikör klonlarının kullanılması, ekspresyon oranları değerlendirilirken farklı eşik değerlerin baz alınması ve immün boyanma profillerinin değerlendirilmesindeki farklılıklardan (sitoplazmik membranöz) kaynaklanıyor olabilir. Birçok soru cevaplanmaya devam etmektedir. Özellikle PD-1 / PD-L1 hedefli tedavi yanıtının doğru değerlendirilmesi için daha iyi skorlama sistemleri geliştirilmelidir. Yeni çalışmalar ışığında PD-L1 değerlendirmesi standardize edilebilir.

Literatürdeki birçok çalışmada bizim bulgularımıza benzer şekilde PD-L1 ekspresyonu ile HT zemininde gelişen PTC ile anlamlı ilişki göstermektedir (1, 3, 81, 82, 84, 85). Bununla birlikte Cunha ve ark HT ile ilişkili benign tiroid nodüllerinde PD-L1 upregülasyonunun izlenmediğini saptamıştır (81). Bu durum HT zeminde gelişen PTC hücrelerinde artmış PD-L1 ekspresyonunu vurgulamaktadır. Eşlik eden otoimmün tiroidit varlığındaki mevcut mikroçevrenin PTC gelişimi üzerindeki etkileri net anlaşılamamıştır (85).

PD-L1, çeşitli dokulara ve hücre tiplerine geniş bir şekilde dağılır ve sıklıkla enflamatuar sitokinlere, özellikle IFN-gama'ya maruz kaldıktan sonra ekspresyonu indüklenir (38, 89). Multiple Myelom hücrelerinde PD-L1'in IFN-gama ile daha da arttığını gözlemlemişlerdir ve bu nedenle T hücresi inhibisyonunu indükleyebileceğini varsaymışlardır (89). Birçok çalışma, otoimmün ortamlarda IFN-gama'nın immünsüpresif bir rol oynadığını öne sürmüştür. Bu bulgularla uyumlu olarak, PD-L1 ekspresyonunun, deneysel otoimmün ensefalomyelitte ve inflammatuar miyopatileri olan hastaların kas biyopsilerinde inflamasyon bölgelerinde upregüle olduğu bulunmuştur (45, 46). HT'de de T hücreler tarafından bol miktarda IFN gama salınımı HT'ye eşlik eden PTC'de tümör hücrelerinde artmış PD-L1 ekspresyonunu açıklıyor olabilir.

HT'de görülen güçlü PD-L1 ekspresyonu, PD-L1 ekspresyonu olmayan tiroid foliküler epitel hücrelerinin otoimmün infiltrat tarafından elimine edildiği, kalan epitel

hücrelerinin PD-L1 ekspresyonunun arttırıldığı adaptif bir yanıt ile gerçekleşiyor olabilir (3).

İnterlökin 4, interlökin 10, vasküler endotelyal büyüme faktörü, granülosit koloni uyarıcı faktör ve bakteriyel lipopolisakkarit gibi diğer enflamatuvar sinyal yollarının da PD-L1 ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (40). Bu bulguya dayanarak kronik inflamasyon zemininin kanser gelişiminin katkıda bulunduğu düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda da, HT zemininde gelişen PTC'de mevcut inflamatuvar hücreler tarafından üretilen sitokinler nedeniyle PD-L1 ekspresyonun arttığı düşünülmüştür. Bu bulgu HT ile eş zamanlı PTC gelişimi sıklığının arttığını gösteriyor olabilir.

PD-L1, naive T hücrelerinin Treglere dönüştürülmesinde kritik bir rol oynar. Yapılan çalışmalarda CD4 + T hücrelerinin miyelom hücreleri ile birlikte kültürlenmesi, Treg'lerin üretilmesine yol açar. Üretilen bu Treg'ler baskılayıcı bir fenotipe sahiptir ve doğal olarak oluşan Treg'lere kıyasla artan PD-1 ekspresyonu gösterir (41). HT de otoreaktif çok sayıda aktive CD4+ T hücreleri ile karşılaşan tümör hücrelerinde artmış doğal Treglerden daha baskılayıcı Treglerin üretilmesi HT zeminde gelişen PTC'lerin immün hücreler tarafından eliminasyonunu zorlaştırabilir ve HT zemininde PTC gelişimini kolaylaştırabilir.

Çalışmamızda diğer literatür veileri ile uyumlu olarak zeminde HT olan vakalarda gelişen PTC'lerin, HT zemini olmayan vakalarda gelişenlere göre önemli ölçüde daha yüksek PD-L1 ekspresyonu ile ilişkili olduğunu bulunmuştur (1, 3, 81, 85). PD-L1 ekspresyonun HT zemininde gelişmiş PTC'lerde daha fazla eksprese olması HT zemininde gelişen PTC'lerin farklı davranış sergileyebileceği düşündürmüş olup bu hipotez rekürrens, RAİ tedavisine karşı gelişmiş direnç ve overall sağkalımın vaka grubuna dahil edilebildiği yeni çalışmalarla desteklenebilir.

Çalışmamızda tümör varyantlarına göre PD-L1 ekspresyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. Vakalar incelendiğinde skor 3 boyanan onkositik varyantların tümüne HT eşlik etmektedir. Dolayısıyla varyantlar arasındaki anlamlı istatistiksel farkın PD-L1 boyanması ve HT varlığı arasındaki istatistiksel anlamlı farka bağlı olduğu düşünülmüştür.

PD-L1 henüz PTC için kabul edilmiş bir prognostik marker olarak kullanılmamaktadır. HT zemininde gelişen PTC'lerde HT'nin tümör gidişatını etkileyip etkilemediği bilinmemektedir. Yapılacak ileri çalışmalar eşliğinde HT zeminindeki PTC'lerin tümör davranışını nasıl etkilediğinin aydınlatılmasıyla HT zemininde gelişen

PTC'ların prognozunu belirleme ve tedaviyi yönlendirme açısından PD-L1 bir marker olarak kullanılabilir.

Medikal tedavide BRAF V600E mutasyonu varlığının prognostik marker olarak kullanılması, hastalığın kötü gidişatı ve rekürrensi hakkında bilgi verebileceğinden ilk tedavinin ne kadar agresif olması gerektiği ve sonrasında yapılacak RAİ tedavisinin dozlanımı açısından ön bilgi verebilir. Bu mutasyonun saptanması aynı zamanda hasta takibi sıklığı ve daha iyi tarama ve görüntüleme yöntemleri kullanılmasını da gerektirebilir (56, 60).

Son yıllarda, BRAF V600E proteinini (klon VE1) özel olarak tanıyan yeni bir antikor kullanıma sunulmuştur. BRAF V600E proteinine karşı özgüllüğü ve duyarlılığı, melanom ve PTC dahil olmak üzere birçok tümör serisinde doğrulanmıştır ve bu antikor ile immünohistokimyasal boyama, BRAF V600E mutasyonunun saptanması için kullanılabilir (67, 69, 90). Bu çalışmada bahsedilen bu antikoru PTC'de BRAF V600E mutasyonunu saptamak için kullandık.

Yapılan bir çalışmada Nikiforova ve meslektaşları, BRAF V600E mutasyonunun hastaların yaşı ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu, ancak cinsiyetleriyle ilişkili olmadığını bulmuşlardır. Bundan farklı olarak yapılan diğer çalışmalarda BRAF V600E mutasyonunun varlığı ile hastaların cinsiyeti ve yaşı arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (38). Bizim çalışmamızda tanı anındaki hasta yaşı ve BRAF V600E boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayamadık. Bunun nedeni çalışmaya dahil edilen vakalarda, 55 yaştan küçük olan grubun hasta popülasyonun çoğunu (%85) oluşturması olarak düşünülmüştür.

Namba ve ark ile Nikiforova ve ark, sırasıyla 207 ve 320 vakalık çalışmalarında BRAF V600E mutasyonunun varlığını moleküler olarak saptayıp tümör evreleri III ve IV ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (91, 92). Zou ve ark 82 PTC vakasında yaptığı moleküler BRAF V600E mutasyon analizinde ileri evreler ile BRAF V600E mutasyonun ilişkisini göstermiştir. Çalışmamızda evre III ve IV vaka bulunmamakta olup evre I ve II vakalar arasında BRAF V600E boyanma skoru istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir (93).

Kombak ve ark. 107 PTC vakasında hem immünohistokimyasal hem de moleküler olarak BRAF V600E mutasyonu ve klinikopatolojik verileri karşılaştırmışlardır. Yüksek pT evrelerinde BRAF V600E mutasyonun daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak moleküler yöntemleri kullanarak yaptıkları analizde sadece boyanma skoru 3 olan vakaları BRAF V600E mutant olarak kabul etmişlerdir (94).

Çalışmamızda pT3b ve üzerinde patolojik T evresine sahip vaka olmamakla birlikte, pT1b evresinde BRAF boyanma skorlarının pT1a'ya göre daha yüksek olduğunu gösterdik. Bu anlamlı fark ileri pT evresinde BRAF V600E boyanma skorlarının daha yüksek olabileceğini gösterebilir bu da ileri evre hastalığı ön görmekte kullanılabilir. Kure ve ark. 40 PTC vakalık çalışmasında moleküler yöntemleri kullanarak BRAF V600E mutasyonu varlığı ile pT evresi arasında anlamlı ilişki saptamamışlardır (95).

Literatürde ayrıca ilginç bir şekilde, BRAF mutasyonu, genellikle düşük nüks riski ile ilişkili olduğu bilinen tanı anındaki evresi I ve II olan bir hasta alt grubunda da bulunmuştur (56). Bu bulgu da bu çalışmada pT1a ve pT1b'ye dahil yüksek BRAF V600E boyanma skorlarına sahip hasta grubunun henüz rekürrens bulgusu göstermese de yakın takip edilmesi gerektiğini öngörebilir.

Bai ve ark. 110 PTC vakası içeren çalışmalarında TNM evresi, tümör boyutu, multifokalite, pN, pT, ekstratiroidal yayılım, cerrahi sınır ve lenfovasküler invazyon ile BRAF ekspresyonun korole olmadığını göstermişlerdir. Çalışmalarına bizim çalışmamıza benzer şekilde 1cm'den büyük tümörleri dahil etmişler ve BRAF V600E mutasyonunu saptamak için IHK'sal yöntemleri kullanmışlardır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak BRAF V600E IHK'sını değerlendirirken skrolama sistemi kullanmamışlardır (2). Yine Trovisco ve ark 197 PTC vakasında, moleküler yöntemler kullanarak yaptığı çalışmada BRAF V600E ile klinik olarak agresif gidişat lehine (boyut, lenfovasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastazi) herhangi bir ilişki saptamamıştır (65). Bizim çalışmamızda Bai ve ark ile trovisco ve ark. 'nın yayınları ile paralellik göstermektedir. Literatürdeki diğer yayınlarda ise klinik agresif gidişat ve rekürren hastalık ile BRAF mutasyonu arasında ilişkinin mevcudiyetinden bahsetmektedir. Bu yayınlarda incelenen klinikopatolojik verilere mikroskobik cerrahi sınır tutulumu dahil edilmemiştir (64, 65, 73, 92). Tüm bu yayınlardan farklı olarak mikroskobik cerrahi sınır pozitif olan vakalarda BRAF V600E boyanma skorlarının daha yüksek olduğunu gösterdik. Bu bulgu rekürren hasta grubunu da içerecek geniş vaka serilerinde incelendikten sonra rekürrensi tahmin etmede kullanılabilir.

Metastatik lenf nodunda ektranodal yayılımın bulunması kalıcı ve tekrarlayan hastalık riski ile ilişkilidir (73). Çalışmamızda ektranodal yayılıma sahip vaka grubunda BRAF V600E skorlamasında negatif olan vaka izlenmemiştir. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı olmamakla ve vaka sayısı çok kısıtlı olmakla birlikte bu bulgu ektranodal yayılım olan vakalarda BRAF V600E mutasyonunun var olabileceğini ve kötü prognoz ve rekürrens ile ilişki gösterebileceğini düşündürülebilir.

BRAF mutasyonları, konvansiyonel PTC, tall cell alt tipleri, onkositik PTC ve mikrokarsinomlar ile ilişkilendirilmiştir, bunun aksine folliküler varyant PTC'de %10 oranında izlenmektedir (17, 71). Trovisco ve ark. tek bir folliküler adenom vakasında ve 54 folliküler varyant PTC vakasının 4'ünde (% 7) farklı bir BRAF mutasyonu (K601E) tespit edilmiştir (65). Bizim çalışmamızda vakaların %86'sı klasik alt tipi içermektedir. 4 vaka onkositik varyant, 5 vaka folliküler varyant PTC olup Tall cell varyant çalışmamızda mevcut değildir. Onkositik varyant PTC vakalarında BRAF V600E skorları eşit dağılmaktadır. 5 folliküler varyant PTC vakasında ise BRAF V600E boyanma skoru 3 düzeyinde olan vaka izlenmemiştir. 2 vaka skor 2, 3 vaka skor 1 düzeyinde boyanma göstermektedir. Literatürle uyumsuz görünümdeki bu boyanma skorları, BRAF mutasyonunu tespit etmeye yönelik moleküler çalışmalar ve örneklem kümesindeki alt tiplerin genişletilmesi gibi yeni eklemeleri içeren ileri çalışmalar ışığında tekrar değerlendirilebilir.

Kim ve ark. yaptığı bir çalışmada HT ile BRAF V600E boyanması arasında anlamlı bir ilişki saptamıştır (59). Literatürdeki diğer yayınlarda HT ve BRAF V600E arasında anlamlı bir ilişki izlenmemiştir (58). Biz çalışmamızda HT ve BRAF V600E arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık.

BRAF V600E mutasyonunun PTC agresifliği ve hasta prognozunu tahmin ettiği yayınlar mevcuttur (17, 52, 56, 58, 60, 61). Artan BRAF aktivitesi, apoptoza direnç, hücre proliferasyonu ve anjiyogenez dahil olmak üzere çok sayıda kanser yolağını destekliyor gibi görünmektedir, ancak PTC'deki immünolojik etkileri iyi çalışılmamıştır.

Angell ve ark. BRAF V600E pozitifliği, immünosupresif ligandların doğrudan tümörde ekspresyonu ve baskılayıcı hücrelerin görevlendirilmesini kapsayan bir immünosupresif profil ile ilişkilendirildi. Bu çalışmada araştırılan bu ilişkiler, BRAF V600E'nin varlığı ile PTC'de güçlü immün baskılama arasındaki ilişki için ön veriler sağlarken, mevcut çalışma küçük bir örnekleme kapsamaktadır ve retrospektif olması nedeniyle korelatif analizlerle sınırlıdır (80).

Bai ve ark. BRAF V600E ile PD-L1 immünhistokimyasal ekspresyonlarının korele olduğunu göstermiştir. Vaka serisi yaptığımız çalışma ile benzer şekilde 1 cm ve üzeri olan PTC hastalarını içermekte olup bizden farklı olarak HT olan vakaları dışlamıştır (2). Yapılan bir meta-analiz BRAF V600E mutasyonu ile PD-L1 ekspresyonunun anlamlı bir ilişkisini sergiledi (82). Benzer şekilde biz de bu çalışmada BRAF V600E ve PD-L1 ekspresyonunun pozitif korele olduğunu bulduk.

Feng ve ark. kolorektal karsinomlara ilişkin çalışmasında PD-L1 ekspresyonunun BRAF V600E tarafından transkripsiyonel olarak upregüle edebileceğine göstermişlerdir. Bu upregülasyon sayesinde kemoterapinin neden olduğu DNA hasarını ve apoptozu düzenleyebildiğini bulmuşlardır. Dolayısıyla, tümör hücresindeki PD-L1, immün düzenleyici işlevlerinden farklı olarak tümör hücresine özgü sinyalleşme ve hayatta kalma etkilerine aracılık edebildiğini düşünmüşlerdir (96). Çalışmamızdaki PD-L1 boyanma oranları ile BRAF V600E skorunun korelasyonu bu bulgu ile açıklanabilir.

BRAF V600E ekspresyonun, artan PD-L1 ekspresyonu ile ilişkilendirilmesi, BRAF mutasyonuna sahip vakalarda mevcut olabilen RAİ tedavisine dirençli PTC hastalarında PD-L1 / PD-1'i hedefleyen immünoterapi seçenekleri göz önünde tutulabilir.

2017 yılında yapılan üç çalışmada bizden farklı olarak BRAF V600E mutasyonu ve PD-L1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulamamıştır (1, 4, 97). Bunun nedeni Zwaenepoel ve ark çalışmasında vaka gruplarının anaplastik tiroid karsinomlarından oluşması ve anaplastik tiroid karsinomlarının genetik ve hücresel olarak PTC'lerden farklı olması olabilir. Bai ve ark ise pozitif korelasyon bulunamamasının nedenini zeminde kronik lenfositik tiroidit içeren vakaların da çalışmaya dahil edilmesi olarak düşünmüşlerdir (1). Nitekim 2018'de yaptıkları çalışmada zeminde HT olan PTC vakaları hariç tutulduktan sonra BRAF V600E ekspresyonunun, PD-L1 ekspresyonu ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Ahn ve ark PD-L1 immünhistokimyasal boyaması için bloklar hazırlarken doku mikroyarray yöntemi kullanmış olup PD-L1'in heterojen boyanması pozitifliğini etkileyerek farklı sonuçlara yol açmış olabilir.

Olgularımız çoğunlukla konvansiyonel PTC'lerden oluşmaktadır, spesifik PTC varyantlarındaki BRAF V600E ile PD-L1 / PD-1 arasındaki korelasyonun daha büyük vaka serilerinde araştırılması gereklidir. Ayrıca BRAF V600E mutasyon analizinde moleküler tekniklerin kullanılmaması da çalışmamızın kısıtlılığı olarak düşünülmüştür. Yapılacak daha ileri araştırmalarda, BRAF V600E mutasyonunun immün baskılamayı teşvik ederek PTC'de immün kaçışına katkıda bulunabilmesi ve nedensel mekanizmaları aydınlatılabilir.

6. SONUÇLAR

55 yaşından küçük hastaların tümü TNM evre I iken TNM Evre II olan tüm vakalar 55 yaşından büyük olarak saptandı.

PTC tanısı alan kadın hastaların oranı erkek hastalardan yaklaşık 4 kat fazla saptandı.

Multifokalite olan vakalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde lenf nodu metastazı saptandı.

Lenfovasküler invazyon izlenen vakalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde multifokalite saptandı.

Lenfovasküler invazyon izlenen vakalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde minimal ekstratiroidal yayılım görüldü.

Mikroskopik olarak cerrahi sınır tutulumu olan vakalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde minimal ekstratiroidal yayılım görüldü.

HT olan kadın hastaların sayısı erkek hastalardan 7 kat fazla olarak saptandı.

HT eşlik eden PTC hastalarında PDL-1 ekspresyon oranının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptandı.

pT1b evresinde BRAF V600E boyanma skorlarının pT1a'ya göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptandı.

Mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği olan vakalarda BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gösterildi.

BRAF boyanma skoru arttıkça istatistiksel olarak anlamlı düzeyde PD-L1 boyanma skoru artmaktadır.

Tanı anındaki hasta yaşına göre 55 yaşından küçük ve büyük hastalarda PD-L1 ekspresyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Kadın ve erkek hastalarda PD-L1 ekspresyon oranlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının TNM evresine göre Evre I ve II vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının multifokal olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının pN evresine göre N0 ve N1 vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının pT evresine göre pT1a, pT1b, pT2 ve pT3a vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının minimal ekstratiroidal yayılım olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının mikroskopik cerrahi sınır tutulumu olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

PD-L1 boyanma skorlarının lenfovasküler invazyona olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

Tanı anındaki hasta yaşına göre 55 yaşından küçük ve büyük hastalarda BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı izlendi.

Kadın ve erkek hastalarda BRAF V600E boyanma skorlarının istatistiksel olarak farklı olmadığı saptandı.

Tümör varyantına göre BRAF V600E boyanma skorları arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

BRAF V600E boyanma skorlarının TNM evresine göre Evre I ve II vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

BRAF V600E boyanma skorlarının multifokal olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

BRAF V600E boyanma skorlarının pN evresine göre N0 ve N1 vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

BRAF V600E boyanma skorlarının tümör varyantına göre istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

BRAF V600E boyanma skorlarının minimal ekstratiroidal yayılım olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

BRAF V600E boyanma skorlarının lenfovasküler invazyona olan ve olmayan vakalarda istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

BRAF V600E boyanma skorlarının HT zeminde gelişen ve gelişmeyen PTC vakalarında istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü.

7. ÖNERİLER

Çalışmamızda PD-L1, HT eşlik eden PTC vakalarında daha yüksek skorlarda boyanmaktadır. Bu bulgunun nedeni HT'de var olan inflamatuvar zemin ve salgılanan sitokinlerin PTC hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunu arttırması olarak düşünülmüştür. Daha geniş vaka serilerinde yapılacak ileri çalışmalarla HT zeminindeki PTC'lerin tümör davranışını nasıl etkilediğinin aydınlatılmasıyla HT zemininde gelişen PTC'lerin prognozunu belirleme ve tedaviyi yönlendirme açısından PD-L1'in bir marker olarak kullanılması önerilebilir. Bununla birlikte çalışmamızda PD-L1 immünhistokimyasının prognostik parametre olarak kullanılmasını destekleyebilecek veriler elde edilememiştir. Bunun nedeni vaka sayımızın az olması ve PD-L1 immünhistokimyasının yorumlanmasındaki farklılıklar olarak düşünülmüştür.

Bu çalışmada BRAF V600E boyanma skorlarının pT evresi ve mikroskopik cerrahi sınır ile ilişkisini gösterdik. Agresif gidişata dair diğer parametreler ile anlamlı ilişki saptayamadık. Hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım verilerini de içerecek geniş vaka serilerinin ve moleküler yöntemlerin kullanılabileceği çalışmalarla bu verilerin desteklenmesi önerilebilir.

Çalışmamızda BRAF V600E ekspresyonun, artan PD-L1 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. BRAF mutasyonuna sahip vakalarda mevcut olabilen RAİ tedavisine direnç durumunda PD-L1 / PD-1'i hedefleyen immünoterapi seçenekleri göz önünde tutulabileceği önerilmiştir.

8. KAYNAKLAR

1. Bai Y, Niu D, Huang X, Jia L, Kang Q, Dou F, et al. PD-L1 and PD-1 expression are correlated with distinctive clinicopathological features in papillary thyroid carcinoma. *Diagnostic Pathology* 12: 72, 2017.
2. Bai Y, Guo T, Huang X, Wu Q, Niu D, Ji X, et al. In papillary thyroid carcinoma, expression by immunohistochemistry of BRAF V600E, PD-L1, and PD-1 is closely related. *Virchows Archiv* 472: 779-87, 2018.
3. Lubin D, Baraban E, Lisby A, Jalali-Farahani S, Zhang P, Livolsi V. Papillary thyroid carcinoma emerging from Hashimoto thyroiditis demonstrates increased PD-L1 expression, which persists with metastasis. *Endocrine pathology* 29: 317-23, 2018.
4. Ahn S, Kim TH, Kim SW, Ki CS, Jang HW, Kim JS, et al. Comprehensive screening for PD-L1 expression in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 24: 97-106, 2017.
5. An HJ, Ko GH, Lee J-H, Lee JS, Kim DC, Yang JW, et al. Programmed death-ligand 1 expression and its correlation with lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. *Journal of Pathology and Translational Medicine* 52: 9, 2018.
6. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nature Reviews Cancer* 13: 184-99, 2013.
7. Mills S. *Histology for pathologists*: Lippincott Williams & Wilkins; 2019.
8. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. *The Developing Human-E-Book: Clinically Oriented Embryology*: Elsevier Health Sciences; 2018.
9. Goldblum JR, Lamps LW, McKenney JK, Myers JL. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2017.
10. Snell RS. *Snell's Clinical Anatomy*: Wolters kluwer india Pvt Ltd; 2018.
11. Cumhur M SB. *Fonksiyonel Anatomi*. Cumhur M SB, editor. Ankara: ODTÜ-Akademik Kitaplar; 2014.
12. Mills SE, Carter D, Greenson JK, Reuter VE, Stoler MH. *Sternberg's diagnostic surgical pathology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
13. Komorowski RA, Hanson GA. Occult thyroid pathology in the young adult: an autopsy study of 138 patients without clinical thyroid disease. *Human pathology* 19: 689-96, 1988.
14. Rosai J CM, DeLellis RA. *Armed forces institute of pathology, atlas of tumor pathology: 3rd Series. Tumors of the thyroid gland*. . Sheffield E, editor. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1993. 343 p.
15. Abbas AK, Aster JC. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*: Elsevier/Saunders; 2015.

16. Acar H, Çakabay B, Bayrak F, Evrenkaya T. Effects of the Chernobyl disaster on thyroid cancer incidence in Turkey after 22 years. *ISRN surgery* 2011, 2011.
17. Nikiforov YE. Molecular analysis of thyroid tumors. *Modern pathology* 24: 108-40, 2011.
18. DeLellis RA. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs: IARC; 2004.
19. Harach H, Escalante D, Oñativia A, Outes JL, Day ES, Williams E. Thyroid carcinoma and thyroiditis in an endemic goitre region before and after iodine prophylaxis. *European Journal of Endocrinology* 108: 55-60, 1985.
20. Wong K, Ahuja AT. Ultrasound of thyroid cancer. *Cancer Imaging* 5: 157, 2005.
21. CC ESBDC, FL FAG, Trotti A. *AJCC cancer staging manual*. New York, NY: Springer; 2018.
22. Byar DP, Green SB, Dor P, Williams ED, Colon J, van Gilse HA, et al. A prognostic index for thyroid carcinoma. A study of the EORTC Thyroid Cancer Cooperative Group. *European Journal of Cancer* (1965) 15: 1033-41, 1979.
23. Bellantone R, Lombardi CP, Boscherini M, Ferrante A, Raffaelli M, Rubino F, et al. Prognostic factors in differentiated thyroid carcinoma: a multivariate analysis of 234 consecutive patients. *Journal of surgical oncology* 68: 237-41, 1998.
24. Ganly I, Nixon IJ, Wang LY, Palmer FL, Migliacci JC, Aniss A, et al. Survival from differentiated thyroid cancer: what has age got to do with it? *Thyroid* 25: 1106-14, 2015.
25. Momesso DP, Tuttle RM. Update on differentiated thyroid cancer staging. *Endocrinology and Metabolism Clinics* 43: 401-21, 2014.
26. Radow sky JS, Howard RS, Burch HB, Stojadinovic A. Impact of degree of extrathyroidal extension of disease on papillary thyroid cancer outcome. *Thyroid* 24: 241-4, 2014.
27. Woo CG, Sung CO, Choi YM, Kim WG, Kim TY, Shong YK, et al. Clinicopathological significance of minimal extrathyroid extension in solitary papillary thyroid carcinomas. *Annals of surgical oncology* 22: 728-33, 2015.
28. Leboulleux S, Rubino C, Baudin E, Caillou B, Hartl DM, Bidart J-M, et al. Prognostic factors for persistent or recurrent disease of papillary thyroid carcinoma with neck lymph node metastases and/or tumor extension beyond the thyroid capsule at initial diagnosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90: 5723-9, 2005.
29. Shin JH, Ha TK, Park HK, Ahn MS, Kim KH, Bae KB, et al. Implication of minimal extrathyroidal extension as a prognostic factor in papillary thyroid carcinoma. *International journal of surgery* 11: 944-7, 2013.
30. Adam MA, Pura J, Goffredo P, Dinan MA, Reed SD, Scheri RP, et al. Presence and number of lymph node metastases are associated with compromised survival for

patients younger than age 45 years with papillary thyroid cancer. *Journal of Clinical Oncology* 33: 2370-5, 2015.

31. Clain JB, Scherl S, Dos Reis L, Turk A, Wenig BM, Mehra S, et al. Extrathyroidal extension predicts extranodal extension in patients with positive lymph nodes: an important association that may affect clinical management. *Thyroid* 24: 951-7, 2014.
32. Ricarte-Filho J, Ganly I, Rivera M, Katabi N, Fu W, Shaha A, et al. Papillary thyroid carcinomas with cervical lymph node metastases can be stratified into clinically relevant prognostic categories using oncogenic BRAF, the number of nodal metastases, and extra-nodal extension. *Thyroid* 22: 575-84, 2012.
33. Lloyd RV OR, Klöppel G, Rosai J. WHO classification of tumours of endocrine organs. 4th ed. Lyon: IARC; 2017.
34. 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.
35. Cohen Y, Xing M, Mambo E, Guo Z, Wu G, Trink B, et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute* 95: 625-7, 2003.
36. Namba H, Rubin SA, Fagin JA. Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis. *Molecular Endocrinology* 4: 1474-9, 1990.
37. Baser B, Munjal VR, Roy MT. Papillary Carcinoma of Thyroid with an Unusual Presentation. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery* 67: 145-8, 2015.
38. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer cell* 27: 450-61, 2015.
39. Page DB, Postow MA, Callahan MK, Allison JP, Wolchok JD. Immune modulation in cancer with antibodies. *Annual review of medicine* 65: 185-202, 2014.
40. Guan J, Lim KS, Mekhail T, Chang C-C. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in the programmed death receptor-1 (PD-1)/PD-L1 blockade: a key player against various cancers. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 141: 851-61, 2017.
41. Ahmad SM, Borch TH, Hansen M, Andersen MH. PD-L1-specific T cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 65: 797-804, 2016.
42. Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med* 8: 328rv4-rv4, 2016.
43. Hornig N, Reinhardt K, Kermer V, Kontermann RE, Müller D. Evaluating combinations of costimulatory antibody–ligand fusion proteins for targeted cancer immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 62: 1369-80, 2013.

44. Honda T, Egen JG, Lämmermann T, Kastenmüller W, Torabi-Parizi P, Germain RN. Tuning of antigen sensitivity by T cell receptor-dependent negative feedback controls T cell effector function in inflamed tissues. *Immunity* 40: 235-47, 2014.
45. Blank C, Gajewski TF, Mackensen A. Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 54: 307-14, 2005.
46. Wiendl H, Mitsdoerffer M, Schneider D, Chen L, Lochmüller H, Melms A, et al. Human muscle cells express a B7- related molecule, B7- H1, with strong negative immune regulatory potential: a novel mechanism of counterbalancing the immune attack in idiopathic inflammatory myopathies. *The FASEB journal* 17: 1-16, 2003.
47. Carreno BM, Collins M. The B7 family of ligands and its receptors: new pathways for costimulation and inhibition of immune responses. *Annual review of immunology* 20: 29-53, 2002.
48. Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *American Journal of Cancer Research* 10: 727, 2020.
49. Lin X, Lu X, Luo G, Xiang H. Progress in PD-1/PD-L1 pathway inhibitors: From biomacromolecules to small molecules. *European journal of medicinal chemistry* 186: 111876, 2020.
50. Munir S, Andersen GH, Met Ö, Donia M, Frøsig TM, Larsen SK, et al. HLA-restricted CTL that are specific for the immune checkpoint ligand PD-L1 occur with high frequency in cancer patients. *Cancer Research* 73: 1764-76, 2013.
51. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nature medicine* 8: 793-800, 2002.
52. Pakneshan S, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK-Y. Clinicopathological relevance of BRAF mutations in human cancer. *Pathology* 45: 346-56, 2013.
53. Khaliq M, Fallahi-Sichani M. Epigenetic Mechanisms of Escape from BRAF Oncogene Dependency. *Cancers* 11: 1480, 2019.
54. Weinstein IB, Joe AK. Mechanisms of disease: oncogene addiction—a rationale for molecular targeting in cancer therapy. *Nature clinical practice Oncology* 3: 448-57, 2006.
55. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417: 949-54, 2002.
56. Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocrine reviews* 28: 742-62, 2007.
57. Chien M-N, Yang P-S, Lee J-J, Wang T-Y, Hsu Y-C, Cheng S-P. Recurrence-associated genes in papillary thyroid cancer: An analysis of data from The Cancer Genome Atlas. *Surgery* 161: 1642-50, 2017.

58. Trovisco V, Soares P, Sobrinho-Simões M. B-RAF mutations in the etiopathogenesis, diagnosis, and prognosis of thyroid carcinomas. *Human pathology* 37: 781-6, 2006.
59. Kim KH, Suh KS, Kang DW, Kang DY. Mutations of the BRAF gene in papillary thyroid carcinoma and in Hashimoto's thyroiditis. *Pathology international* 55: 540-5, 2005.
60. Choden S, Keelawat S, Jung CK, Bychkov A. VE1 Immunohistochemistry Improves the Limit of Genotyping for Detecting BRAFV600E Mutation in Papillary Thyroid Cancer. *Cancers* 12: 596, 2020.
61. Elisei R, Ugolini C, Viola D, Lupi C, Biagini A, Giannini R, et al. BRAFV600E mutation and outcome of patients with papillary thyroid carcinoma: a 15-year median follow-up study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 93: 3943-9, 2008.
62. Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90: 6373-9, 2005.
63. Penko K, Livezey J, Fenton C, Patel A, Nicholson D, Flora M, et al. BRAF mutations are uncommon in papillary thyroid cancer of young patients. *Thyroid* 15: 320-5, 2005.
64. Kebebew E, Weng J, Bauer J, Ranvier G, Clark OH, Duh Q-Y, et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer. *Annals of surgery* 246: 466, 2007.
65. Trovisco V, Soares P, Preto A, de Castro IV, Lima J, Castro P, et al. Type and prevalence of BRAF mutations are closely associated with papillary thyroid carcinoma histotype and patients' age but not with tumour aggressiveness. *Virchows Archiv* 446: 589-95, 2005.
66. Li X, Kwon H. The impact of braf mutation on the recurrence of papillary thyroid carcinoma: A meta-analysis. *Cancers* 12: 2056, 2020.
67. Na J-I, Kim J-H, Kim H-J, Kim H-K, Moon K-S, Lee J-S, et al. VE1 immunohistochemical detection of the BRAF V600E mutation in thyroid carcinoma: a review of its usefulness and limitations. *Virchows Archiv* 467: 155-68, 2015.
68. Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, Jöhrens K, Kirchner T, Reu S, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Modern Pathology* 29: 1165-72, 2016.
69. Capper D, Preusser M, Habel A, Sahm F, Ackermann U, Schindler G, et al. Assessment of BRAF V600E mutation status by immunohistochemistry with a mutation-specific monoclonal antibody. *Acta neuropathologica* 122: 11-9, 2011.
70. LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Modern Pathology* 24: S1-S9, 2011.

71. DeLellis RA. Pathology and genetics of thyroid carcinoma. *Journal of surgical oncology* 94: 662-9, 2006.
72. Siegel R, Ma J, Zou Z and Jemal A: Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 64: 9-29, 2014.
73. Sipos J, Mazzaferri EL. Thyroid cancer epidemiology and prognostic variables. *Clinical oncology* 22: 395-404, 2010.
74. Orosco RK, Hussain T, Brumund KT, Oh DK, Chang DC, Bouvet M. Analysis of age and disease status as predictors of thyroid cancer-specific mortality using the surveillance, epidemiology, and end results database. *Thyroid* 25: 125-32, 2015.
75. Nixon IJ, Kuk D, Wreesmann V, Morris L, Palmer FL, Ganly I, et al. Defining a valid age cutoff in staging of well-differentiated thyroid cancer. *Annals of surgical oncology* 23: 410-5, 2016.
76. Zhao Q, Ming J, Liu C, Shi L, Xu X, Nie X, et al. Multifocality and total tumor diameter predict central neck lymph node metastases in papillary thyroid microcarcinoma. *Annals of surgical oncology* 20: 746-52, 2013.
77. Sun W, Lan X, Zhang H, Dong W, Wang Z, He L, et al. Risk factors for central lymph node metastasis in CN0 papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *PloS one* 10: e0139021, 2015.
78. Tan J. Comparison of the clinicopathologic features of solitary and multifocal papillary thyroid carcinoma and the utility of testing an additional tumor nodule for BRAFV600E in multifocal cases. *J Mod Hum Pathol* 2: 1-6, 2017.
79. Wang LY, Ghossein R, Palmer FL, Nixon IJ, Tuttle RM, Shaha AR, et al. Microscopic positive margins in differentiated thyroid cancer is not an independent predictor of local failure. *Thyroid* 25: 993-8, 2015.
80. Angell TE, Lechner MG, Jang JK, Correa AJ, LoPresti JS, Epstein AL. BRAFV600E in papillary thyroid carcinoma is associated with increased programmed death ligand 1 expression and suppressive immune cell infiltration. *Thyroid* 24: 1385-93, 2014.
81. Cunha LL, Marcello MA, Morari EC, Nonogaki S, Conte FF, Gerhard R, et al. Differentiated thyroid carcinomas may elude the immune system by B7H1 upregulation. *Endocrine-related cancer* 20: 103-10, 2013.
82. Girolami I, Pantanowitz L, Mete O, Brunelli M, Marletta S, Colato C, et al. Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Is a Potential Biomarker of Disease-Free Survival in Papillary Thyroid Carcinoma: a Systematic Review and Meta-Analysis of PD-L1 Immunoexpression in Follicular Epithelial Derived Thyroid Carcinoma. *Endocrine Pathology*, 2020.
83. Shi R-l, Qu N, Luo T-x, Xiang J, Liao T, Sun G-h, et al. Programmed death-ligand 1 expression in papillary thyroid cancer and its correlation with clinicopathologic factors and recurrence. *Thyroid* 27: 537-45, 2017.

84. Chowdhury S, Veyhl J, Jessa F, Polyakova O, Alenzi A, MacMillan C, et al. Programmed death-ligand 1 overexpression is a prognostic marker for aggressive papillary thyroid cancer and its variants. *Oncotarget* 7: 32318, 2016.
85. Fadia M, Fookeerah P, Ali S, Shadbolt B, Greenaway T, Perampalam S. PD-L1 expression in papillary thyroid cancer with and without lymphocytic thyroiditis: a cross sectional study. *Pathology*, 2020.
86. Baptista MZ, Sarian LO, Derchain SF, Pinto GA, Vassallo J. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Human pathology* 47: 78-84, 2016.
87. Darb-Esfahani S, Kunze CA, Kulbe H, Sehouli J, Wienert S, Lindner J, et al. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma. *Oncotarget* 7: 1486, 2016.
88. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget* 6: 5449, 2015.
89. Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood* 110: 296-304, 2007.
90. Parker KG, White MG, Cipriani NA. Comparison of Molecular Methods and BRAF Immunohistochemistry (VE1 Clone) for the Detection of BRAF V600E Mutation in Papillary Thyroid Carcinoma: A Meta-Analysis. *Head and neck pathology*, 2020.
91. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, et al. Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88: 4393-7, 2003.
92. 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. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88: 5399-404, 2003.
93. Zou M, Baitei EY, Alzahrani AS, BinHumaid FS, Alkhafaji D, Al-Rijjal RA, et al. Concomitant RAS, RET/PTC, or BRAF mutations in advanced stage of papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 24: 1256-66, 2014.
94. Kombak FE, Özkan N, UĞURLU MÜ, Kaya H. BRAFV600E immunohistochemistry in papillary thyroid carcinomas: relationship between clinical and morphological parameters. *Turkish Journal of Pathology* 35: 83-91, 2019.
95. Kure S, Ishino K, Kudo M, Wada R, Saito M, Nagaoka R, et al. Incidence of BRAF V600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma: a single-institution experience. *Journal of International Medical Research* 47: 5560-72, 2019.

96. Feng D, Qin B, Pal K, Sun L, Dutta S, Dong H, et al. BRAF V600E-induced, tumor intrinsic PD-L1 can regulate chemotherapy-induced apoptosis in human colon cancer cells and in tumor xenografts. *Oncogene* 38: 6752-66, 2019.
97. Zwaenepoel K, Jacobs J, De Meulenaere A, Silence K, Smits E, Siozopoulou V, et al. CD 70 and PD- L1 in anaplastic thyroid cancer—promising targets for immunotherapy. *Histopathology* 71: 357-65, 2017.

