



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP (DİSİPLİNLERARASI) ANA BİLİM DALI**

**TİROİD KANSERİ PATOGENEZİNDE İNSAN LINE-1
RETROTRANSPOZONLARININ MUTAJENİK ROLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Çağrı GÜMÜŞKAPTAN

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ümmet ABUR

SAMSUN

2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP (DİSİPLİNLERARASI) ANA BİLİM DALI



**TİROİD KANSERİ PATOGENEZİNDE İNSAN LINE-1
RETROTRANSPOZONLARININ MUTAJENİK ROLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Çağrı GÜMÜŞKAPTAN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ümmet ABUR

Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'ın 1002 kodlu Hızlı Destek Programı ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin 1904 kodlu Lisansüstü Tezleri Destekleme Programı kapsamında desteklenmiştir.

SAMSUN

2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒

Hayır ☐

03 / 01 / 2023

Çağrı GÜMÜŞKAPTAN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: TİROİD KANSERİ PATOGENEZİNDE LINE-1 RETROTRANSPOZONLARININ MUTAJENİK ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 02.01.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 4

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

02 / 01 / 2023

Dr. Öğr. Üyesi Ümmet ABUR

ÖZET

TİROİD KANSERİ PATOGENEZİNDE İNSAN LINE-1 RETROTRANSPOZONLARININ MUTAJENİK ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Çağrı GÜMÜŞKAPTAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Moleküler Tıp (Disiplinlerarası) Ana Bilim Dalı
Doktora, Mayıs/2023
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ümmet ABUR

Tiroid kanseri dünya çapında en yaygın endokrin malignite olup yeni görülen tüm kanser vakaları arasında 9. sırada yer almaktadır. Son 30 yılda papiller tiroid karsinomu insidansında önemli bir artış görülmektedir. TC-PTK (Tall Cell alt tip Papiller Tiroid Karsinomu)'nda gözlemlenen insidans artışı ise klasik PTK (K-PTK)'den daha yüksektir. Bu nedenle, K-PTK ve TC-PTK genomlarını etkileyen hücre içi mutajenik faktörlerin açığa çıkarılması önem arz etmektedir. Literatürde, insana özgü LINE-1 (L1HS) retrotranspozonlarının birçok farklı kanser tipinin patogenezinde rol oynadığı bildirilmiş; ancak tiroid kanseri patogenezindeki rolü henüz tartışılmamıştır.

Histopatolojik olarak sınıflandırılmış klasik ve TC-PTK hastalarına ait tümör ve kontrol FFPE (Formalinle Fikse edilmiş Parafine Gömülmüş) doku örneklerinden izole edilen DNA'larda, en genç / aktif L1 retrotranspozonları olan L1HS alt ailesinin insersiyon profilleri, TE-NGS (Transpoze olabilen Element Yeni Nesil Dizileme) yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır. K-PTK ve TC-PTK örneklerinin hem tümör hem de kontrol dokularında tespit edilen L1HS insersiyonlarının sıklıkla intronik bölgelerde lokalize olduğu görülmüştür. K-PTK ve TC-PTK gruplarında, kanserlerde yanlış uç birleştirme mutasyonları raporlanmış birçok gende L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. Tümör doku örneklerinde saptanan L1HS'lerin kanser-ilişkili sinyal yolaklarındaki dağılımları, her iki grupta da benzer bulunmuştur. Bununla birlikte L1HS'lerin K-PTK kontrol dokularında RTK-RAS sinyal yolağı proto-onkogenlerinde birikim gösterdiği, TC-PTK'de ise Hippo sinyal yolağının tümör baskılayıcı genlerinde zenginleştiği saptanmıştır. Doku tipinden bağımsız olarak gruplarda aynı sinyal yolaklarının proto-onkogenlerinde görülen L1HS insersiyonlarının K-PTK grubunda sıklıkla intronik bölgelerde, TC-PTK grubunda ise sonucunda hedef proto-onkogenlerin upregülasyonuna neden olabilecek 5'Komşu gen bölgelerinde lokalize olduğu görülmüştür.

Sonuçlar, L1HS retrotranspozonlarının klasik ve tall cell alt tip PTK'nin hem kontrol hem de tümör dokusu genomlarında aktif olduğunu ve neoplastik transformasyon için gerekli arka plan genetik kararsızlığına katkı sağladığını göstermektedir. Ayrıca, K-PTK ve TC-PTK gruplarının sahip olduğu farklı L1HS insersiyon profillerinin özgün histopatolojik ve klinik sonuçların oluşmasında rol oynayabilecek nitelikte olduğu görülmektedir. Buradaki bulgular, L1HS retrotranspozonlarının tiroid kanserinde potansiyel bir terapötik hedef olarak önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar Sözcükler: L1HS, papiller tiroid karsinomu, FFPE, yeni nesil dizileme.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MUTAGENIC ROLES OF HUMAN LINE-1 RETROTRANSPOSONS IN THE PATHOGENESIS OF THYROID CANCER

Cagri GUMUSKAPTAN
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Molecular Medicine (Interdisciplinary)
Ph.D., May/2023
Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ummet ABUR

Thyroid cancer is the most common endocrine malignancy worldwide and ranks 9th among all new cancer cases. There has been a significant increase in the incidence of papillary thyroid carcinoma in the last 30 years. The incidence increase observed in TC-PTC (Tall Cell subtype Papillary Thyroid Carcinoma) is higher than in classical PTC (C-PTC). Therefore, identifying intracellular mutagenic factors affecting C-PTC and TC-PTC genomes is essential. It has been reported in the literature that human-specific LINE-1 (L1HS) retrotransposons play a role in the pathogenesis of many different cancer types; however, its role in the pathogenesis of thyroid cancer has not yet been discussed.

Insertion profiles of the L1HS subfamily, the youngest / most active L1 retrotransposons, in DNAs isolated from tumour and control FFPE (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) tissue samples of histopathologically classified classical and TC-PTC patients were compared using TE-NGS (Transposable Element Next Generation Sequencing) method. L1HS insertions detected in both tumour and control tissues of C-PTC and TC-PTC samples were frequently localised in intronic regions. In the C-PTC and TC-PTC groups, L1HS insertions were found in many genes with mis-splicing mutations reported in cancers. The distribution of L1HS insertions in cancer-associated signalling pathways was found to be similar in both C-PTC and TC-PTC tumour tissue samples. Nevertheless, it was determined that L1HSs accumulated in the RTK-RAS signalling pathway proto-oncogenes in C-PTC control tissues, while in the TC-PTC, they were enriched in tumour suppressor genes of the Hippo signalling pathway. Regardless of tissue type, L1HS insertions seen in proto-oncogenes of the common signalling pathways in the groups were frequently localised within the intronic regions in the C-PTC group, and in the TC-PTC group, they mainly were at 5' flank regions, which could result in upregulation of the target proto-oncogenes.

The results suggest that L1HS retrotransposons are active in both control and tumour tissue genomes of classical and tall cell subtype PTC and contribute to the background genetic instability required for neoplastic transformation. In addition, it is observed that the different L1HS insertion profiles of the C-PTC and TC-PTC groups may play a role in forming of unique histopathological and clinical results. The findings here reveal the importance of L1HS retrotransposons as a potential therapeutic target in thyroid cancer.

Keywords: L1HS, papillary thyroid carcinoma, FFPE, next generation sequencing.

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tezin satırları arasında, kendim için büyük hayat tecrübeleri tarihleşmiştir. Asla pürüzsüz gidemeyen gündelik hayatta yola tutunmamı sağlayan, var oluşumun yarısı Türkan Sevgin GÜMÜŞKAPTAN olmadan bu tez asla tamamlanamazdı. Ayrıca, sevgileriyle gücüme güç katan annem Tülay GÜMÜŞKAPTAN ve babam Selçuk GÜMÜŞKAPTAN'a teşekkürlerim yetmeyecektir.

Doktora tezimin konusuna olan tutkum, aramızdan zamansız ayrılan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Gönül OĞUR'un 2016 yılı doktora seminer dersinde - evrimsel biyolojiye olan ilgim nedeniyle, "Transpozonlar ve Genom Üzerindeki Etkileri" konusunda sunum hazırlamamı istemesiyle başladı. Şu anda bu satırları yazarak tamamladığım bu tezim, anılarımla aklıma düşen Prof. Dr. Gönül OĞUR'u daima hatırlatacaktır. Vefatından sonra danışmanlığını devralan saygıdeğer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ümmet ABUR'a ilgisi, bana olan inancı ve sağladığı laboratuvar imkanları için ne kadar teşekkür etsem az kalacaktır. Ayrıca Prof. Dr. Cafer POLAT, Prof. Dr. Mehmet KEFELİ, Dr. Öğr. Üyesi Sultan ÇALIŞKAN ve Dr. Öğr. Üyesi Ogün ADEBALİ hocalarıma bu tezin yürütülmesi için oluşturulan projedeki katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Bu doktora tezinin ıslak laboratuvar çalışmalarının yürütülmesi için gerekli malzemeleri temin edebilmemi sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, 1002-Hızlı Destek Programı (Proje no: 120S766) ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, 1904-B Doktora Tez Projeleri Destekleme Programına (Proje no: PYO.TIP.1904.21.009) çok teşekkür ederim.

Çağrı GÜMÜŞKAPTAN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tiroid Kanseri Genel Bakış	1
1.1.1. Klasik ve Tall cell Alt Tip Papiller Tiroid Karsinomları	4
1.2. İnsan Genomunda Transpozonlar ve L1 Retrotranspozonları	7
1.2.1. L1 retrotranspozonlarının intrasellüler etkinlikleri	13
1.2.1.1. L1'lerin Regülasyonu	13
1.2.1.2. L1 Mutajenik Mekanizmaları	15
1.2.1.3. L1 Retrotranspozisyonlarının Epitelyal Kanselerde Etkinliği	16
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Örneklem genişliğinin ve örnek seçim kriterlerinin belirlenmesi	21
3.2. FFPE doku slaytlarının hazırlanması, slaytlardan DNA izolasyonu ve izolatların kalite kontrolü	21
3.3. Tümör ve kontrol FFPE doku örneklerine ait genomik kütüphanelerin hazırlanması	23
3.4. L1HS hedef bölgelerinin zenginleştirilmesi ve pürifikasyonu	23
3.5. L1HS-hedef primeri ile linear (asimetrik) PZR amplifikasyonu, arka plan ssDNA fragmanlarının enzimatik kesimi ve amplikonların saflaştırılması	24
3.6. Illumina Universal P5 PZR primeri ile ikinci asimetrik PZR amplifikasyonu ve hedef dışı ssDNA fragmanlarının kesimi	24
3.7. Nested PZR ile çift adaptörlü final kütüphanelerin oluşturulması ve pürifikasyonu	24
3.8. Adaptör ekstensiyonu ve final pürifikasyon	24
3.9. Kütüphanelerin havuzlanması ve sekanslanması	25
3.10. L1HS insersiyonlarının biyoinformatik olarak identifikasyonu ve karakterizasyonu	26
3.10.1. L1HS identifikasyonu boru hattı	26
3.10.2. L1HS'lerin fonksiyonel anotasyonu	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1. Kanseri-ilişkili genlerde tespit edilen özgün L1HS insersiyonları	34
4.1.1. K-PTK grubunun tümör örneklerinde tespit edilen insersiyonlar	34
4.1.2. K-PTK grubunun kontrol doku örneklerinde saptanan insersiyonlar	37
4.1.3. TC-PTK grubunun tümör örneklerinde tespit edilen insersiyonlar	38
4.1.4. TC-PTK grubunun kontrol doku örneklerinde tespit edilen insersiyonlar	40
4.2. Klasik ve tall cell alt tip PTK örneklerinde kanseri-ilişkili genlerde tespit edilen özgün L1HS insersiyonlarının hasta kliniği ve histopatolojik bulgular ile ilişkisinin değerlendirilmesi	41
4.2.1. K-PTK vakalarında L1HS insersiyonlarının mutajenik etkinliklerinin değerlendirilmesi	42
4.2.2. TC-PTK vakalarında L1HS insersiyonlarının mutajenik etkinliklerinin değerlendirilmesi	50
4.3. Klasik ve tall cell alt tip PTK örneklerinde kanseri-ilişkili genlerin dışında L1HS insersiyonları barındıran ortak gen bölgeleri	59
5. SONUÇ	61
KAYNAKLAR	66

EKLER	89
ÖZ GEÇMİŞ.....	92



KISALTMALAR

ACVR2A	: Aktivin A Reseptörü Tip 2A
ALK	: ALK Reseptör Tirozin Kinaz
ALR	: Alfa Tekrarlı DNA
ANKRD30BL	: Ankirin Tekrar Bölgesi 30B-Benzeri
APH1B	: Aph-1 Homolog B, Gamma-Sekretaz Alt Birimi
APOBEC3	: Apolipoprotein B mRNA Düzenleyici Enzim Katalitik Alt Birimi 3
ARID5B	: AT-Rich İnteraksiyon Bölgesi 5B
ATK	: Anaplastik Tiroid Karsinomu
ATM	: ATM Serin/Treonin Kinaz
BAM	: İkili Hizalama Haritası
BBA	: Büyük Büyütme Alanı
BED	: Tarayıcı Genişletilebilir Veri
BRAF	: B-Raf Proto-Onkogen, Serin/Treonin Kinaz
BWA-MEM	: Burrows-Wheeler Hizalayıcı - Maksimum Tam Eşleşme
CBLB	: Cbl proto-onkogen B
CCDC6	: Kıvrılmış-Kıvrım Alan İçeren Protein 6
CDK6	: Siklin Bağımlı Kinaz 6
CERS6	: Seramid Sentaz 6
CHD1	: Kromodomain Helikaz DNA Bağlayıcı Protein 1
CREBBP	: CREB Bağlayıcı Protein
CSF1	: Koloni Stimule Edici Faktör 1
CSMD3	: CUB ve Sushi Çoklu Alanları 3
CTBP2	: C-Terminal Bağlayıcı Protein 2
DBRIP	: Retrotranspozon İnsersiyonu Veri Tabanı
DIRC3	: Renal Karsinomda Bozulmuş 3
DKK2	: Dickkopf WNT Sinyal Yolağı İnhibitörü 2
DNMT1	: DNA Metiltransferaz 1
DSB	: Çift İplik Kırığı
DTX1	: Deltex E3 ubiquitin ligaz 1
E2F1	: E2F Transkripsiyon Faktörü 1
EBF1	: EBF Transkripsiyon Faktörü 1
ELK3	: ETS Transkripsiyon Faktörü ELK3

ELOVL2	: ELOVL Yağ Asidi Elongaz 2
EN	: Endonükleaz
EP300	: E1A bağlayıcı protein P300
EPS15	: Epidermal büyüme faktörü reseptör yolağı Substratı 15
ERBB4	: Erb-B2 Reseptörü Tirozin Kinaz 4
ERCC1	: ERCC Eksizyon Onarımı 1, Endonükleaz Katalitik-olmayan Alt Birimi
ETS	: E-Yirmi-Altı
euL1db	: İnsanlarda L1-HS insersiyonlarının Avrupa veri tabanı
FAP	: Ailesel Adenomatöz Polipozis
FAT3	: FAT Atipik Kaderin 3
FBXW7	: F-Box ve WD Tekrar Bölgesi içeren 7
FDR	: Yanlış Keşif Oranı
FFPE	: Formalin ile Fikse edilmiş, Parafine Gömülmüş
FGFR2	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 2
FGFR3	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 3
FNIP2	: Folikülin ile Etkileşen Protein 2
FRS2	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör Substratı 2
FTK	: Folliküler Tiroid Karsinomu
FYDTK	: Farklılaşmış Yüksek Dereceli Tiroid Karsinomu
FZD7	: Frizzled Sınıfı Reseptörü 7
GPC6	: Glipikan 6
GPHN	: Gefirin
GSK3B	: Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta
GWAS	: Genom-Çapında İlişkilendirme Çalışmaları
HERC2P4	: Hect Bölgesi ve RLD 2 Psödogen 4
HERVs	: İnsan Endojen Retrovirüsler
HEY1	: YRPW motifli Hes ilişkili ailesi BHLH transkripsiyon faktörü 1
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HSATII	: İnsan Satelit II
IGF1R	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 Reseptörü
IGRs	: İntergenik Bölgeler
IKZF1	: IKAROS Ailesi Çinko Parmak 1
IL1RAPL2	: İnterlökin 1 Reseptör Aksesuar Protein Benzeri 2
INPP4B	: İnositol Polifosfat-4-Fosfataz Tip II B
İDTK	: İyi-Diferansiye Tiroid Karsinomu

KAP1	: KRAB-İlişkili Protein 1
KDTK	: Kötü-Diferansiye Tiroid Karsinomu
KMT2C	: Lizin Metiltransferaz 2C
K-PTK	: Klasik Papiller Tiroid Karsinomu
KRAB	: Krüppel-İlişkili Kutu
L1HS	: İnsan-Spesifik LINE-1
LEF1	: Lenfoid Yükseltgeyici Bağlanma Faktörü 1
LINE	: Uzun Serpiştirilmiş Nükleer Element
lncRNA	: Uzun kodlanmayan RNA
LPP	: Lipomda Tercih Edilen Translokasyon Partnerini İçeren LIM Bölgesi
LRP6	: LDL Reseptörü ilişkili Protein 6
LRRK2	: Lösin Zengin Tekrarlı Kinaz 2
MAML3	: Mastermind Benzeri transkripsiyonel koaktivatör 3
MAP2K4	: Mitojenle-Aktifleşen Protein Kinaz Kinaz 4
MAPK	: Mitojenle-Aktifleşen Protein Kinaz
MECP2	: Metil-CpG Bağlayıcı Protein 2
MED12	: Medyatör Kompleksi Alt Birimi 12
MEI	: Mobil Element İnsersiyonları
MEIS2	: Meis Homeobox 2
MGMT	: O-6-Metilguanin-DNA Metiltransferaz
MITE	: Minyatür Ters-tekrarlı Transpoze olabilen Element
MKI	: Multikinaz İnhibitörü
MLN	: Metastatik Lenf Nodu
MMTV-PyVT	: Fare Meme Tümörü Virüsü-Polyoma Virüs orta T Antijeni
MOB1B	: MOB Kinaz Aktivatörü 1B
MOV10	: Mov10 RISC Kompleksi RNA Helikazı
MTOR	: Rapamisinin Mekanistik Hedef Kinazı
MYC	: MYC Proto-onkogeni, BHLH Transkripsiyon Faktörü
NCI-60	: Ulusal Kanseri Enstitüsü-60
NCOR1	: Nükleer Reseptör Korepresörü 1
NIS	: Sodyum/İyot Simporter
NNRTİ	: Nükleosit-Olmayan Revers Transkriptaz İnhibitörü
NOS	: Başka Biçimde Tanımlanamayan
NRG1	: Nöregulin 1
NRTİ	: Nükleosit Revers Transkriptaz İnhibitörü

NTRK3	: Nörotrofik Reseptör Tirozin Kinaz 3
NUMBL	: NUMB Benzeri endositik adaptör protein
NXF1	: Nükleer RNA Eksport Faktörü 1
ORF	: Açık Okuma Çerçevesi
OTK	: Onkositik Tiroid Karsinomu
PABP	: Poli(A) Bağlayıcı Protein
PBRM1	: Polibromo 1
PCNA	: Prolifere Hücre Nükleer Antijeni
PDE4D	: Fosfodiesteraz 4D
PDGFRA	: Trombosit Türevli Büyüme Faktörü Reseptörü Alfa
PDTK	: Kötü-Diferansiye Tiroid Karsinomu
PER1	: Period Sirkadiyen Düzenleyici 1
PIK3CA	: Fosfatidilinositol-4,5-Bisfosfat 3-Kinaz Katalitik Alt Birim Alfa
polyTEdb	: Polimorfik Transpoze olabilen Element veri tabanı
PRKAR1A	: Protein Kinaz CAMP-bağımlı tip I Düzenleyici alt birim Alfa
PTEN	: Fosfataz ve Tensin Homoloğu
PTPN13	: Protein Tirozin Fosfataz reseptör Olmayan tip 13
PTPRG	: Protein Tirozin Fosfataz Reseptör Tip G
PTPRT	: Protein Tirozin Fosfataz Reseptör Tip T
RAİ	: Radyoaktif İyot
RAPGEF2	: Rap Guanine Nükleotit Değişim Faktörü 2
RASA1	: RAS P21 Protein Aktivatörü 1
RASAL2	: RAS Protein Aktivatörü Benzeri 2
RASGRF2	: Ras Proteini Spesifik Guanin Nükleotit Salıcı Faktör 2
RASGRP1	: RAS Guanil Serbest Bırakan Protein 1
RBPJ	: İmmünoglobulin Kappa J Bölgesi İçin Rekombinasyon Sinyali Bağlayıcı Protein
RICTOR	: MTOR kompleks 2'nin RPTOR Bağımsız Eşlikçisi
RLN	: Reaktif Lenf Nodu
RM	: Tekrar-Maskelenmiş
RNP	: Ribonükleoprotein
ROBO2	: Roundabout yönlendirme reseptörü 2
RPS6KA3	: Ribozomal Protein S6 Kinaz A3
RPTOR	: MTOR Kompleks 1 ilişkili Düzenleyici Protein
RR	: Radyoaktif İyot Refrakter

RUNX1	: RUNX ailesi transkripsiyon faktörü 1
SAMDH1	: Deoksinükleosit trifosfat trifosfohidrolaz 1 içeren SAM ve HD Bölgesi
SATB1	: SATB Homeobox 1
SFRP2	: Salgılanan Frizzled İlişkili Protein 2
SHC4	: SHC Adaptör Protein 4
SINE	: Kısa Serpiştirilmiş Nükleer Element
SKP1	: S-faz Kinaz ilişkili Protein 1
SLX4IP	: SLX4 ile Etkileşen Protein
SNOU13	: Küçük Nükleolar RNA U13
SOS1	: SOS Ras/Rac Guanin Nükleotit Değişim Faktörü 1
SOX2-OT	: SOX2 ile Çakışan Transkript
Spi-1	: Spi-1 Proto-Onkogeni
STC1	: Staniokalsin 1
STK3	: Serin/Treonin Kinaz 3
SVA	: SINE-VNTR-Alu
SWI/SNF	: Switch/Sükroz Fermente-Edilemez
SYTL5	: Sinaptotagmin Benzeri 5
TAOK3	: TAO Kinaz 3
TCF7L2	: Transkripsiyon Faktörü 7 Benzeri 2
TC-PTK	: Tall Cell alt tip Papiller Tiroid Karsinomu
TE	: Transpoze olabilen Element
TEAD2	: TEA Bölgesi Transkripsiyon Faktörü 2
TE-NGS	: Transpoze olabilen Element-Yeni Nesil Dizileme
TENM1	: Tenörin Transmembran Protein 1
TG	: Tiroglobulin
TGFBR2	: Transform edici Büyüme Faktörü Beta Reseptörü 2
TGFβ	: Transform edici Büyüme Faktörü-beta
THBS2	: Trombospondin 2
TLE4	: TLE Aile Üyesi 4, Transkripsiyonel Korepresör
TPRT	: Hedefe-Yönelik Revers Transkripsiyon
TRERF1	: Transkripsiyonel Düzenleyici Faktör 1
TRIMM33	: Üç bölümlü Motif içeren 33
TSC1	: TSC Kompleksi Alt Birimi 1
UTR	: Translasyonu-Olmayan Bölge
UTT	: Uzun Terminal Tekrarlar

VEP	: Varyant Etkisi Tahmincisi
VNTR	: Değişken Sayıda Sıralı Tekrarlar
WNT7B	: Wnt Ailesi Üyesi 7B
YAP1	: Yes1 İlişkili Transkripsiyon Düzenleyici
ZFPM2	: Çinko Parmak Protein, FOG Ailesi Üyesi 2
ZNRF3	: Çinko ve Ring Parmak 3



ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.1. Tam uzunluktaki retrotranspozisyon-kompetent L1 yapısı. L1 dizisine komşu lacivert renkteki üçgenler, hedef bölge duplikasyonları (target site duplications; TSDs) ifade etmektedir. Bu şekil BioRender.com'da, "Savage vd., 2019" yayınındaki şekilden uyarlanılarak oluşturulmuştur..... 10
- Şekil 1.2. L1 retrotranspozisyon döngüsü: Olası mekanizmalarından biri olarak; erken karsinogeneizde meydana gelen L1 promotör bölgesinin hipometilasyonu L1 retrotranspozonunun aktivasyonuna yol açmaktadır (Y. R. Lee vd., 2021; Rahbari vd., 2015; Rodic ve Burns, 2013; X. Zhang vd., 2020). Varsayımsal olarak; kromozom A (mavi akrosentrik kromozom)'da lokalize tam uzunluktaki bir L1 kaynak elementinin RNA Pol II tarafından transkripsiyonu sonucu oluşan bisistronik mRNA sitoplazmaya taşınır ve burada ORF1p trimerik yapıları ve ORF2p proteinleri L1'in kendi mRNA'sına bağlanarak L1 ribonükleoprotein (RNP) kompleksini oluştururlar. Nükleusa taşınan RNP komponentlerinden endonükleaz (EN), kromozom B (kırmızı metasentrik kromozom) DNA'sı üzerindeki 5'-TTTT/AA-3' konsensus dizisi üzerinde kesik oluşturarak 3'-OH grubunun açığa çıkmasına neden olur. Serbest 3'-OH ucuna sahip poli(T) dizisini primer olarak kullanan L1 revers transkriptaz (Miller vd., 2021), L1 mRNA'sı üzerinden TPRT (target-primed reverse transcription; hedefe-yönelik revers transkripsiyon) işlemini başlatır. Henüz tam olarak aydınlatılamamış bir mekanizmayla EN, karşı iplikte de kesik oluşturarak ikinci iplik DNA sentezinin başlamasını sağlar. TPRT sonucunda nadiren tam uzunlukta ancak sıklıkla 5'-kırpılmış şekilde hedef bölge duplikasyonları (target site duplications; TSDs; yeşil üçgenler ile gösterilmiştir) arasında kalan L1 *de novo* insersiyonu meydana gelmiş olur. Trans-etkili bağlanma: L1 ORF1p ve ORF2p proteinleri bazen de *Alu*, *SVA* veya hücreSEL RNA Pol II transkriptlerine bağlanarak RNP yapıları oluşturur ve TPRT mekanizmasıyla bu elementlerin trans-mobilizasyonunu sağlarlar. Bu şekil BioRender.com'da, "Savage vd., 2019" makalesindeki şekilden uyarlanılarak oluşturulmuştur..... 12
- Şekil 1.3. L1 insersiyonlarının gen yapısı ve fonksiyonları üzerindeki başlıca etkileri: a. L1 metilasyonu ve heterokromatin oluşumu L1'in kendi ekspresyonunun veya komşu genlerin ekspresyonunun baskılanmasına neden olabilmektedir; b. L1 dizileri negatif ya da pozitif düzenleyici etkilere sahip transkripsiyon faktörleri için bağlanma bölgeleri oluşturarak, entegre oldukları bölgelerdeki gen anlatımlarını değiştirebilmektedirler; c. Kesim bölgeleri (splice sites) içeren L1'lerin intronlara gerçekleştirdikleri insersiyonlar, alternatif uç birleştirmelerine ve komşu genleri içeren yeni ekzonların açığa çıkmasına neden olabilmektedir; d. L1'in sense ve/veya antisense promotörü, L1 insersiyonunun gerçekleştiği bölgedeki komşu genler için transkripsiyon başlatıcı bölgeler oluşturabilmektedir. Ayrıca, tam uzunluktaki L1'lerin antisense yönündeki intronik insersiyonları gen kırılması (gene breaking) olarak adlandırılan mekanizma ile genin iki daha küçük transkriptte bölünmesine neden olabilmektedir; e. Poli(A) kuyruğu içeren L1'lerin gen içi insersiyonları erken poliadenilasyona ve/veya transkripsiyonun durmasına yol açarak gen ekspresyonlarının indirgenmesine veya durmasına neden olabilmektedir; f. L1'lerin ekzonlara gerçekleştirdiği insersiyonlar "loss-of-function" mutasyonlarına neden olabilmektedir. Bu şekil BioRender.com'da, "Savage vd., 2019" ve "Hulme vd., 2006" yayınlarındaki şekillerden esinlenilerek oluşturulmuştur..... 15
- Şekil 3.1. Dizileme sonrası toplam okuma sayısı, filtreden geçen küme sayısı (PF), filtreden geçen indeks atanmış küme yüzdesi (%PF) ve Phred kalite skoru 30 ve üzerinde

okuma yüzdesi ($\geq$ Q30) verilerinin Illumina® Sequencing Analysis Viewer aracılığıyla görüntülenmesi	25
Şekil 4.1. İki veya daha fazla örnekte ortak olarak tespit edilen 574 adet özgün L1HS insersiyonunun kromozomlardaki dağılımı. Kromozom 9, 16 ve 2'de gözlemlenen yoğunlukların, tekrarlı DNA dizilerinden kaynaklı yanlış hizalanma sonucunda ortaya çıkan yanlış pozitif L1HS anotasyonları olduğu saptanmıştır ...	31
Şekil 4.2. Örneklerde tespit edilen özgün L1HS insersiyonlarının varyant sınıfları ve toplam özgün L1HS insersiyon sayısının örneklerdeki dağılımı.....	32
Şekil 4.3. L1HS insersiyonlarının en sık görüldüğü 20 gen ve genlerde bulunan cis-regülatör elementler. KC; klasik PTK kontrol dokusunu, KT; klasik PTK tümör dokusunu, TC; TC-PTK kontrol dokusunu, TT; TC-PTK tümör dokusunu ifade etmektedir	33
Şekil 4.4. <i>PBRM1</i> ekzonunda saptanan L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü	34
Şekil 4.5. <i>AXIN2</i> ve <i>THBS2</i> genlerinin 3'UTR bölgesinde saptanan L1HS insersiyonlarının IGV'deki görüntüsü.....	35
Şekil 4.6. <i>EPS15</i> ve <i>PTPN13</i> ekzonlarında saptanan özgün L1HS retrotranspozon insersiyonlarının IGV'deki görüntüsü	37
Şekil 4.7. <i>PER1</i> ekzonunda tespit edilen L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü	38
Şekil 4.8. TT13 örneğinde <i>CREBBP</i> 'nin 17. ekzonuyla 16. intronu sınırında tespit edilen L1HS retrotranspozisyonunun IGV'deki görüntüsü.....	39
Şekil 4.9. TT2 örneğinde <i>RPS6KA3</i> 22. ekzonunda saptanan L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü.....	39
Şekil 4.10. <i>FNIP2</i> ekzonuna retrotranspoze olmuş L1HS'nin IGV'deki görüntüsü	40
Şekil 4.11. <i>KMT2C</i> intron-ekzon sınırında saptanan özgün L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü	40
Şekil 4.12. <i>DTX1</i> ve <i>PRKAR1A</i> 3'UTR bölgelerinde saptanan özgün L1HS insersiyonlarının IGV'deki görüntüsü	41
Şekil 4.13. Klasik PTK örnekleri fenotiplerinin ve örnek dokularında görülen özgün L1HS insersiyonlarının gösterimi. A. Hastaların tümör patohistolojisi ve fenotipi ile ilgili bilgileri; E: erkek, K: kadın, PMK: eski sınıflandırma adıyla papiller tiroid mikrokarsinomu anlamındadır, ≤ 1 cm olan tümör boyutuna sahip vakaları temsil etmektedir, PTK: papiller tiroid karsinom, RLN: reaktif lenf nodu sayısı, MLN: metastatik lenf nodu, Çap: mm cinsinden tümör çapını ifade etmektedir, B. Hasta tümör (mor alan) ve kontrol doku (yeşil alan) örneklerinde kanser-ilişkili genlerde tespit edilen L1HS insersiyonları, ^M : ekzonik, ^{5U} : 5'UTR, ^{3U} : 3'UTR, ^{3F} : 3'Flank haricindekiler L1HS'lerin intronik insersiyonlarını temsil etmektedir.	50
Şekil 4.14. Tall cell alt tip PTK örnekleri fenotiplerinin ve örnek dokularında görülen özgün L1HS insersiyonlarının gösterimi. A. Hastaların tümör patohistolojisi ve fenotipi ile ilgili bilgileri; E: erkek, K: kadın, PMK: eski sınıflandırma adıyla papiller tiroid mikrokarsinomu anlamındadır, ≤ 1 cm olan tümör boyutuna sahip vakaları temsil etmektedir, PTK: papiller tiroid karsinom, RLN: reaktif lenf nodu sayısı, MLN: metastatik lenf nodu, Çap: mm cinsinden tümör çapını ifade etmektedir, B. Hastalara ait tümör (mor alan) ve normal doku (yeşil alan) örneklerinde kanser-ilişkili genlerde tespit edilen L1HS insersiyonları, ^M : ekzonik, ^{3U} : 3'UTR, ^{5F} : 5'Flank, turuncu ile yazılan genler: intron-ekzon sınırında L1HS insersiyonu bulunduran genleri bildirmektedir, haricindekiler ise intronlarında L1HS'lerin lokalize olduğu genleri temsil etmektedir.	58

- Ek Şekil 1.1. TE-NGS anotasyonu sonrası BED dosyasında elde edilen ve referans olarak tanımlanan L1HS insersiyonlarının kromozom 1’deki lokasyonları. Sol taraftaki siyah yazılı alan Kvikstad ve ark. tarafından gerçekleştirilen TE-NGS referans çalışmasının NA12878 genomunda tespit ettiği L1HS insersiyonlarını; sağ tarafta mavi yazılı alan ise bu tez çalışmasında kullanılan NA12878 genomunda saptanan insersiyonları göstermektedir. Kırmızıyla işaretli referans lokasyon, bu çalışmada ek olarak tespit edilen referans L1HS insersiyon lokasyonunu göstermektedir. Lokasyonun ayrıca IGV’deki görüntüsü sağ tarafta verilmiştir ... 89
- Ek Şekil 1.2. Dizileme öncesi örnek kütüphane konsantrasyonlarının, medyan fragman boyutlarının ve okuma sayısının özgün L1HS tespit edilme sayısı arasındaki ilişkinin doğrusal regresyon analizi sonuçları 90
- Ek Şekil 1.3. Referans çalışmada (Kvikstad vd., 2018) ve bu tez çalışması sonucunda, NA12878 genomunda tespit edilen L1HS insersiyon lokasyonlarının farklılık ve ortaklık açısından Venn şeması ile gösterilmesi..... 90



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Folliküler hücre türevli tiroid karsinomlarının prognoza dayalı sınıflandırılması. Bu tablo, “Baloch vd., 2022” yayınında paylaşılan tablo baz alınarak oluşturulmuştur.....	3
---	---



1. GİRİŞ

1.1. Tiroid Kanserine Genel Bakış

Tiroid kanseri, dünya genelinde en yaygın endokrin malignite olup yeni görülen tüm kanser vakaları arasında 9. sırada yer almakta ve 2020 yılı itibariyle yılda yaklaşık 44.000 insanın ölümüne yol açmaktadır (Sung vd., 2021). 2020 yılındaki kanser insidans verilerine bakıldığında kadınlarda tiroid kanseri, 5. sırada yer almakta olup (Papaioannou vd., 2021) insidans oranı erkeklerdeki insidans oranının 3 katıdır (Sung vd., 2021). Küresel Kanser Gözlemevi (Global Cancer Observatory; GCO) tarafından paylaşılan GLOBOCAN 2020 Türkiye kanser profili verilerine göre kadınlarda 100.000'de 13,08 insidans oranı ile tiroid kanseri, meme kanserinden sonra 2. sırada yer almaktadır. 1990 ile 2017 yılları arasındaki tiroid kanseri ilişkili epidemiyolojik verilere bakıldığında tiroid kanserinin en sık görüldüğü yaş aralığı kadınlarda 15-49 ve erkeklerde 50-69'dur. Geçtiğimiz on yıllar boyunca Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Kanada, Avrupa, Avustralya, Asya ve Güney Amerika'da tiroid kanseri insidansında artış gözlemlenmektedir (Deng vd., 2020). Bu durum, diagnostik görüntüleme ve ince-iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB)'nin daha yüksek teşhis olanağı sağlamasıyla ilişkilendirilmekle birlikte gerçek insidans artışının popülasyonların maruz kaldığı radyasyon, aşırı kilo ve obezite, düşük ya da fazla iyot alımı (Gillanders ve O'Neill, 2018; K. Kim vd., 2021; Winder vd., 2022) ve diğer çevresel karsinojenler nedeniyle gözlemlendiği düşünülmektedir (Davies vd., 2015; Drozd vd., 2020; Karzai vd., 2022; Pellegriti vd., 2013). Tiroid kanserinde nodüller genellikle ağrı oluşturmamakta ve hasta nodül büyüme paterninin farkında olmayabilmektedir. Bu tür vakalarda tiroid malignitesi, tiroid ile ilişkili olmayan görüntüleme testlerinde veya Grave hastalığı, guatr gibi diğer benign koşullar nedeniyle gerçekleştirilen tiroidektomi ve takibinde dokunun histolojik incelenmesi sonucunda insidental olarak saptanabilmektedir. İnsidental olmayan durumlarda ise hastanın veya klinisyenin tiroid kitlesi nedeniyle abnormaliteyi fark etmesi veya disfaji, disfoni, boyun ağrısı gibi nedenlerle hastanın kliniğe başvurması ile tiroid kanseri tespit edilebilmektedir. İyi-diferansiye tiroid karsinomu (İDTK; Well-differentiated Thyroid Carcinoma; WDTC) tespiti ve evrelemesinde radyolojik ve patolojik modalite kombinasyonları kullanılmaktadır. Burada ince-iğne aspirasyonu ile birlikte sitolojik inceleme, İDTK tespitinde ya da dışlanması mevcut en önemli diagnostik araçtır. İnce-iğne aspirasyonu için hasta seçimi klinik tabloya ve tiroid nodülünün ultrasonografik

özelliklerine göre yapılmaktadır. Tanısal boyun ultrasonografisi ve ayrıca servikal lenf nodları değerlendirilmektedir (Houten vd., 2022; Lincango-Naranjo vd., 2021; R. Wong vd., 2018). Bununla birlikte, diagnoz için zorunluluk oluşturmeyen yeni nesil dizileme (YND; Next-Generation Sequencing; NGS) teknolojisi gibi moleküler testlerin klinikte kullanımı, sitolojik ve histolojik incelemeleri tamamlayan güvenilir bir teknoloji olarak yaygınlık kazanmaktadır (Baloch vd., 2022; Sipos ve Ringel, 2022).

Tiroid kanseri patogenezindeki hipotetik bakış açısı, mutasyon birikimlerinin – özellikle MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase; Mitojenle-Aktifleşen Protein Kinaz) ve PI3K sinyal yollarını aktive edici mutasyonların, tümörde dediferensiyasyonu tetiklemesiyle papiller tiroid karsinomu (PTK) ve folliküler tiroid karsinomu (FTK) gibi iyi-diferansiye tiroid karsinomlarının oluşması; bu karsinomlarda meydana gelen p53 ve Wnt/ β -catenin sinyal yollarını aktive edici ilave mutasyonlar neticesinde kötü-diferansiye tiroid karsinomu (KDTK; Poorly-differentiated Thyroid Carcinoma; PDTC), farklılaşmış yüksek dereceli tiroid karsinomu (FYDTK; differentiated high-grade thyroid carcinoma; DHGTC) ve anaplastik tiroid karsinomu (ATK; Anaplastic Thyroid Carcinoma; ATC) gibi daha agresif tümörlerin ortaya çıkmasıdır (Baloch vd., 2022; Riesco-Eizaguirre vd., 2016; Siraj vd., 2016; Xing, 2013).

Tiroid neoplazmlarının çoğunluğu tiroid folliküler hücrelerinden türelenen tümörlerden oluşmaktadır. DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü)'nün 2022 tiroid kanseri sınıflandırmasından önce tiroid kanseri prognostik riske göre; İDTK, KDTK ve ATK olarak sınıflandırılmaktaydı. Yeni sınıflandırma ile yüksek mitotik aktivite ve tümör nekrozu temelinde tanımlanan proliferatif derecelendirmenin, papiller, folliküler veya solid/trabeküler/insular büyüme paternleri gibi histolojik farklılaşmadan bağımsız olarak orta prognozlu tümörleri de tanımladığı netlik kazanmıştır. Böylece KDTK ile birlikte farklılaşmış yüksek dereceli tiroid karsinomu FYDTK de orta dereceli prognostik riske sahip tiroid karsinomu grubuna dahil edilmiştir (Tablo 1) (Baloch vd., 2022).

Tablo 1.1. Folliküler hücre türevli tiroid karsinomlarının prognoza dayalı sınıflandırılması. Bu tablo, “Baloch vd., 2022” yayınında paylaşılan tablo baz alınarak oluşturulmuştur

Histotip	Diferansiyasyon (büyüme paterni)	Derece (mitotik aktivite, tümör nekrozu)	Prognoz
PTK FTK OTK FYDTK KDTK	İyi (papiller, folliküler)	Düşük	Mükemmel
	Kötü (solid/trabeküler/insular)	Yüksek	Orta
ATK	Anaplastik (farklılaşmamış büyüme)		Kötü

PTK: Papiller Tiroid Karsinomu; FTK: Folliküler Tiroid Karsinomu; OTK: Onkositik Tiroid Karsinomu; FYDTK: Farklılaşmış Yüksek Dereceli Tiroid Karsinomu; KDTK: Kötü Diferansiye Tiroid Karsinomu; ATK: Anaplastik Tiroid Karsinomu

İDTK, tüm tiroid kanseri vakalarının yaklaşık %90’ını oluşturmaktadır (Fullmer vd., 2021; Pacini vd., 2022). İDTK hastalarının çoğunluğunda total ya da totale yakın tiroidektomi gerçekleştirilmektedir. Genel olarak, orta riskli (agresif histoloji, ekstratiroidal yayılım, vasküler invazyon veya 5’ten fazla lenf nodu tutulumuna sahip) veya yüksek riskli (büyük (gross) ekstratiroidal yayılım, tamamlanmamış tümör rezeksiyonu, uzak metastaz veya 3 cm’den büyük lenf nodlarına sahip) tiroid kanserlerinde tiroid, santral kompartman ve/veya lateral boyun kompartmanlarının rezeksiyonu gerçekleştirilmektedir. Sitolojik olarak belirsiz tiroid nodüllerinde, 1 cm veya daha küçük tiroid karsinomlarında ise lobektomi gerçekleştirilmektedir. Bunun yanında 1 cm’den küçük ve intratiroidal olup agresif sitopatolojisi, lokal invazyonu, klinik olarak tespit edilebilen metastazı bulunmayan papiller tiroid karsinomuna sahip hastalarda, hastanın cerrahi müdahale istemediği durumlarda aktif izlem de gerçekleştirilebilmektedir (Avram vd., 2022; Pace-Asciak vd., 2022). Lokal rekürens riski düşünüldüğünde lobektomi, büyüklüğü 1-2 cm arasındaki tümörler için “gri bölge”de kalmaktadır. Bununla birlikte histolojisi çok agresif bulunmayan papiller ya da minimal invazyona sahip folliküler tiroid karsinomlarında ve özellikle daha ileri olarak klinik ve anamnestik riski bulunmayan vakalarda 2-4 cm arası büyüklüğe sahip tümörlerde de lobektomi gerçekleştirilebilmektedir. 2-4 cm tümör büyüklüğüne sahip

vakalarda hastaya lobektominin artmış lokal rekürens ve olası düşük genel sağkalım ile ilişkilendirilebildiği bilgisinin verilmesi önerilmektedir (Barbaro vd., 2021).

Çoğu İDTK vakasında standart tedavi prosedürü etkilidir. Bu prosedür genellikle cerrahi müdahaleyi takip eden radyoaktif iyot (RAİ) kalıntı ablasyonu, aktif izlem ve tiroid-stimüle edici hormon (TSH) baskılama terapisini içermektedir. Postoperatif ilk 10 yılda vakaların %20'sinde lokal rekürens ve %10'unda uzak metastaz görülebilmektedir. Bu vakalarda konvansiyonel terapötik yaklaşım RAİ terapisi, metastazların cerrahi rezeksiyonunu ve eksternal ışın radyoterapisini içermektedir. Tedavi sırasında İDTK'lerin yaklaşık 3'te 2'sinde, prognoz ve yaşam beklentisi üzerinde anlamlı bir negatif etkiye neden olan RAİ terapisine karşı direnç gözlemlenebilmekte ve 10 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %20'ye düşebilmektedir (Fullmer vd., 2021; Silaghi vd., 2022). RAİ'ye direnç kazanan İDTK (RR-İDTK; RAİ Refrakter-İDTK) vakalarında FDA (U.S. Food and Drug Administration; Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanmış 2 adet multikinaz inhibitörü (MKİ) lenvatinib ve sorafenib, birinci basamak terapide kullanılabilir. Bununla birlikte, birinci basamak terapiden birkaç ay sonra tirozin kinaz inhibitörlerine karşı direnç gelişebilmektedir. Bu durumda kurtarma terapisinde cabozantinib, sunitinib, pazopanib, nevatnib veya vemurafenib uygulamaları denenebilmektedir. RR-İDTK terapisinde ayrıca; kombinatoriyal terapi, immünoterapi, rediferansiyasyon terapisini ve alternatif sinyal yollarını hedefleyen terapötik ajanların kullanımı gibi birçok güncel strateji geliştirilmektedir. (Nervo vd., 2022; Silaghi vd., 2022; Sipos ve Ringel, 2022).

1.1.1. Klasik ve Tall cell Alt Tip Papiller Tiroid Karsinomları

Tiroid kanserinde son 30 yıllık sürede anlamlı bir insidans artışı gözlemlenmektedir. İnsidans artışı, neredeyse tamamen papiller tiroid kanserlerindeki insidans artışı tarafından belirlenmektedir (Pellegriti vd., 2013; Rossi vd., 2021). PTK oranı yüksek olan ülkeler arasında Güney Kore, İtalya, Fransa, Kanada ve ABD gibi yüksek-gelirli ülkeler olduğu gibi Türkiye, Çin ve Kolombiya gibi sosyoekonomik olarak geçiş yapan ülkeler bulunmaktadır (Miranda-Filho vd., 2021). Artan teşhis veya aşırı teşhis (overdiagnosis), PTK insidansındaki artışa neden olan faktörler içerisinde yaklaşık %50'lik kısmı oluşturmaktadır. Geriye kalan %50'lik kısımda ise çeşitli risk faktörleri rol oynamaktadır. Cinsiyet, PTK'de önemli risk faktörlerinden biridir. Öyle

ki, dünya genelinde kadınlarda PTK insidansı erkeklerden yaklaşık 3 kat daha fazladır. Diğer risk faktörleri; çocukluk ve ergenlik dönemlerinde iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma, aşırı kilo ve obezite, fazla iyot alımı gibi çevresel risk faktörleridir (K. Kim vd., 2021; Kitahara ve Sosa, 2016, 2020; Lv vd., 2021).

Papiller tiroid karsinomlarında tümör oluşumu sıklıkla sporadik olarak meydana gelmekle birlikte ailesel olarak da görülebilmektedir. PTK vakalarının yaklaşık %70'inde *BRAF*, *RAS* ve *RET* genlerinde mutasyonlar tespit edilmekle birlikte (Abdullah vd., 2019) bu mutasyonların PTK alt tiplerindeki dağılımları alt tipi belirlememektedir (Baloch vd., 2022; Park vd., 2022). PTK diagnozlu tümörlerin yaklaşık %50'si 1 cm veya daha küçük boyutlarda görülmektedir. Önceleri PTK'nin, papiller tiroid mikrokarsinom (PMK) alt tipi olarak tanımlanan ve boyutları ≤ 1 cm olan tümörlerin, 2022 DSÖ tiroid kanserleri sınıflandırmasının 5. baskısında bir alt tip olarak sınıflandırılmaması önerilmektedir (Baloch vd., 2022; Soares vd., 2021).

PTK tümörlerinde papiller büyüme paterni dışında folliküler veya solid/trabeküler/nested büyüme paternleri de izlenebilmektedir (Bai vd., 2020; Baloch vd., 2022). PTK vakalarının yaklaşık %50'sine klasik PTK alt tipi tanısı konulmaktadır (Park vd., 2022). Klasik PTK (K-PTK) ise tanım olarak; papiller büyüme paternine sahip olan ve tüm PTK alt tiplerinde ortak olarak görülen; normalden büyük, üst üste binmiş nükleuslar ve nükleer kalabalıklaşma, kromatinin periferik marjinasyonu, nükleoplazmanın şeffaflaşması, nükleer membranda yarık oluşturan düzensiz nükleer konturlar sonucu meydana gelen sitoplazmik psödoinklüzyonlar gibi nükleer değişimleri içeren papiller tiroid karsinomunu ifade etmektedir. İnvasiv özellikleri bulunmayan kapsüllü K-PTK mükemmel bir prognoza sahiptir (Baloch vd., 2022).

Tall cell (uzun hücre) alt tip papiller tiroid karsinomu (TC-PTK) ise en yaygın görülen agresif PTK alt tipi olup; yüksek oranda mortalite, rekürens, uzak metastaz ve lenf nodu metastazı göstermektedir (Chakladar vd., 2019; Nath ve Erickson, 2018). TC-PTK tanısı için klasik PTK'nin karakteristik nükleer özelliklerinin yanında sitoplazmik sınırları belirgin eozinofilik bir sitoplazmaya sahip, boyu eninin en az 3 katı olan hücrelerin tümörde $\geq$ %30 oranında bulunması gerekmektedir. Ayrıca düşük mikroskopik büyütmede "tram track (tramvay rayı) görüntüsü"ne neden olan sıkıca paketlenmiş follikül ve papillaların gözlemlenmesi, TC-PTK tanısında önemli histopatolojik bulgular arasındadır (Baloch vd., 2022; Coca-Pelaz vd., 2020). TC-PTK

vakalarında, klasik PTK'ye göre daha sık kapsüler invazyon meydana geldiği; lenf nodu metastazının %18,2 oranında görüldüğü ve sağ kalımın da anlamlı ölçüde azaldığı raporlanmıştır (Silver vd., 2011; Su vd., 2016). Ayrıca, farklı birçok çalışmada TC-PTK'de rekürens oranı ise yaklaşık %27,3 olarak hesaplanmıştır (Cameselle-Teijeiro vd., 2018; Schmidbauer vd., 2017; Shafique ve Baloch, 2019; S. Wang ve Ding, 2017). Bu nedenle, tall cell alt tipine sahip hastaların, ameliyat ve radyoyot uygulaması sonrası, yakından takip edilmeleri gerekmektedir (Amacher vd., 2015; Janjua ve Wreesmann, 2018; Melo vd., 2018; Sampathkumar vd., 2018; X. Wang vd., 2016).

Klasik ve tall cell alt tip PTK'de en sık görülen mutasyon, *BRAF* geninin 15. ekzonunda 1799. timin nükleotidinin adenine transversiyonudur ve klasik PTK vakalarının %45-80'inde; TC-PTK vakalarının ise %60-95'inde tespit edilmektedir (c.1799T>A). 600. kodonda valin yerine glutamat kodlanmasına neden olan bu değişim (*BRAF* p.V600E) *BRAF* fosforilasyonunu taklit eden kontrolsüz bir protein aktivasyonuna yol açar (Acquaviva vd., 2020; Baloch vd., 2022; Tabriz vd., 2020). *RET/PTC* yeniden düzenlenmeleri ise en yaygın, klasik PTK ve TC-PTK vakalarında görülmektedir (Soares vd., 2021). Anormal MAPK sinyal yolağı aktivasyonuna yol açan diğer genetik aberasyonlar olarak *RET/PTC3* yeniden düzenlenmesi; klasik PTK'de %17,2 ve TC-PTK'de %35,8 oranında tespit edilmektedir (Coca-Pelaz vd., 2020). Örneğin; kromozom 10'un q kolunda parasentrik inversiyon, *RET* geninin *CCDC6* promotörüyle füzyonuna neden olmakta ve ligand-bağımsız *RET/PTC1* protein aktivasyonu meydana gelmektedir (Romei ve Elisei, 2021). Çernobil sonrası pediatrik hastalarda yapılan bir çalışmada *RET/PTC1* yeniden düzenlenimi klasik PTK ile ilişkili bulunmuştur (Abdullah vd., 2019). *TERT* promotör mutasyonları da en sık olarak TC-PTK tümörlerinde tespit edilmekte olup (Fallahi vd., 2022) yaklaşık %12 ve %30 oranlarında sırasıyla klasik ve tall cell alt tip PTK vakalarında görülmektedir (K. S. Wong vd., 2019). *TERT*'in ATG başlangıç kodonunun -124 (C228T) ve -146. (C250T) baz çiftinde meydana gelen mutasyonlar sonucu *TERT* promotör hiperaktivasyonunda yer alan ETS (E-twenty-six) transkripsiyon faktörleri için yeni bağlanma bölgeleri ortaya çıkar (M. J. Kim vd., 2022). *TERT* promotör mutasyonlarının özellikle *BRAF* V600E mutasyonu ile birlikte görülmeleri, klinik olarak agresif seyir gösteren tiroid karsinomlarıyla ilişkilendirilmiştir (R. Liu vd., 2017; K. S. Wong vd., 2019).

Günümüzde, klasik ve tall cell alt tip PTK'de sıklıkla tespit edilen genetik varyantların hem alt tiplerin sınıflandırılması hem de prognoz açısından belirleyicilikleri netlik kazanmamıştır (Park vd., 2022). Gelişen YND teknolojisi sayesinde PTK diagnozu, prognozu, prediksyonu ve terapisinde rol oynayan birçok özgün biyobelirteç tespit edilmektedir (Agarwal vd., 2021; Geropoulos vd., 2022; Lin vd., 2022; Papaioannou vd., 2021). Bu nedenle, K-PTK ve TC-PTK'lerde genom instabilitesine neden olan mutajenik faktörlerin araştırılması dramatik bir önem arz etmektedir. Özellikle TC-PTK'de rekürens riskinin azaltılması amacıyla kişiye yönelik terapötik yaklaşımların geliştirilmesi; klinikte daha ileri moleküler profillemeye tekniklerinin kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir (Shafique ve Baloch, 2019).

1.2. İnsan Genomunda Transpozonlar ve L1 Retrotranspozonları

Transpozonlar -diğer adıyla transpoze olabilen (transposable) element (TE)'ler veya mobil element (ME)'ler, genom içerisinde lokasyon değiştirebilen DNA dizileridir (Bourque vd., 2018; Niu vd., 2022). Tüm canlılarda bulunan TE'ler, genom üzerinde yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olurlar (Gomes-Filho vd., 2018). İnsan genomunun yaklaşık %50'lik (Ali vd., 2021; Colonna Romano ve Fanti, 2022) kısmını oluşturan TE'lerin günümüz insan genomunda yalnızca %0,05'inden azı mobilizasyon kabiliyetine sahiptir (Mills vd., 2007). Genomumuzda TE'ler, erken embriyonik dönemde ve/veya tümörögenezde çevresel ve hücre içi koşullarla birlikte genetik alterasyonlara sebep olmakta (G. Ma vd., 2022; Pradhan ve Ramakrishna, 2022) ve potansiyel olarak gen seçilimine katkı sağlayabilmektedirler (Doolittle, 2022). TE'ler, DNA veya RNA aracılı mobilizasyon göstermelerine göre sırasıyla DNA transpozonları (Sınıf 2 TE'ler) ve retrotranspozonlar (Sınıf 1 TE'ler) olarak iki temel sınıf oluştururlar (Belancio vd., 2009; Bourque vd., 2018). Daha ileri olarak ise kendi mobilitelerini sağlayacak proteinleri kodlayabilen otonom elementler ve transpozisyon için başka elementlerin proteinlerine bağımlı, otonom-olmayan elementler olarak alt gruplara ayrılırlar (Fueyo vd., 2022).

DNA transpozonlarının büyük bir kısmı, kodladıkları transposaz enzimi aracılığıyla kendilerini bulundukları konumdan keserek başka bir genomik lokasyona insersiyon gerçekleştirirler. Kes-yapıştır mekanizması (cut-and-paste mechanism) olarak da tanımlanan bu transpozisyon, günümüzde küçük kahverengi yarasa (*Myotis lucifigus*)'lardaki bazı *hAT* ve *PiggyBac* transpozon aileleri haricinde, memelilerde

fonksiyonelliğini kaybetmiştir (Beck vd., 2011; Feschotte ve Pritham, 2007; Savage vd., 2019). Günümüz memeli genomlarında aktivitesi bulunmayan, ökaryotik DNA transpozonlarından *Helitronlar* ise -üzerlerinde kodlanan replikasyon başlatıcı protein (Rep), ligaz ve nükleaz özelliğine sahip bir DNA helikaz aracılığıyla (McCullers ve Steiniger, 2017), yuvarlanan daire replikasyonu (Rolling-circle Replication) mekanizması ile transpoze olurlar (Grabundzija vd., 2018; Thomas ve Pritham, 2015). Bir diğer ökaryotik DNA transpozonlarından olan *Polintonlar* ya da diğer adıyla *Maverickler* de günümüzde memeli genomunda fosilleşen elementlerden olup tam olarak mekanizması aydınlatılamamış olsa da kodladıkları B-tip DNA polimeraz aracılığıyla replikatif bir transpozisyon gerçekleştirdikleri düşünülmektedir (Barreat ve Katzourakis, 2022; Feschotte ve Pritham, 2007). Ayrıca, DNA transpozonları sınıfında kırpılmış (truncated) DNA transpozonları ve minyatür ters-tekrarlı TE'ler (miniature inverted-repeat TEs; MITEs) gibi otonom-olmayan mobil elementler de bulunmaktadır (Colonna Romano ve Fanti, 2022).

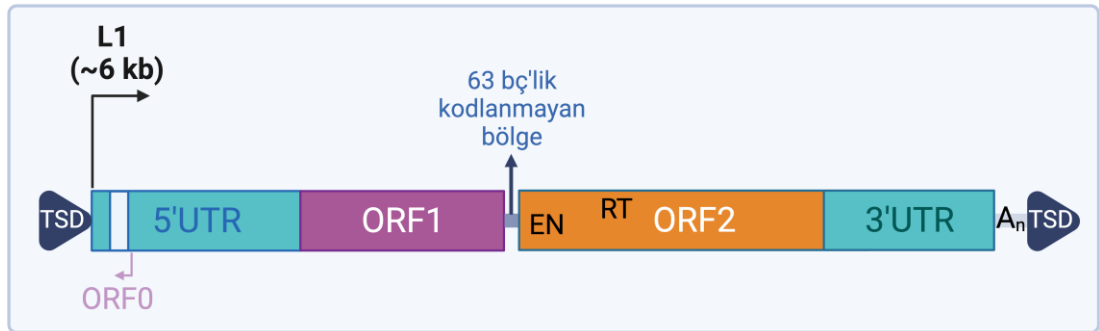
RNA-aracılı kopyala-yapıştır mekanizması (copy-and-paste mechanism) ile mobilizasyon sağlayan retrotranspozonlar ise günümüzdeki birçok memeli genomunda aktivitelerini sürdürmektedirler (Platt vd., 2018). Bu mobil elementler uzun terminal tekrarlar (UTT; LTRs; long terminal repeats) içerip içermemelerine göre iki alt gruba ayrılırlar (Bourque vd., 2018). İnsan endojen retrovirüsler (HERVs; Human Endogenous Retroviruses) gibi UTT-içeren elementler yapısal ve mobilizasyon mekanizması olarak retrovirüslere benzerlik göstermekte olup; tam bir HERV dizisinde 5' ve 3' uçlarında UTT'lerle çevrili kapsid, nükleokapsid ve matriks protein kodlayan *gag*, proteaz kodlayan *pro*, revers transkriptaz ve integras kodlayan *pol* ve kılıf proteini kodlayan *env* genleri bulunmaktadır (Q. Zhang vd., 2022). İnsan genomunun %8'lik kısmını oluşturan HERV ve otonom-olmayan türevleri (Grundy vd., 2022) milyonlarca yıl önce insan genomuna entegre olmuş ve birçoğu genlerinde biriken mutasyon, insersiyon, delesyon ve kırpılmalardan dolayı protein kodlayıcı özelliklerini yitirerek inaktif hale gelmiştir (Gerdes vd., 2016; Kohlrausch vd., 2022; Kojima, 2020; Q. Zhang vd., 2022).

İnsan genomunda UTT-içermeyen (non-LTRs) retrotranspozonlar ise başlıca olarak; uzun serpiştirilmiş nükleer elementler (LINEs; long interspersed nuclear elements), kısa serpiştirilmiş nükleer elementler (SINEs; short interspersed nuclear elements) ve SVA (SINE-VNTR-Alu; SINE-değişken sayıda sıralı tekrarlar (variable

number tandem repeats)-Alu) ailelerinden oluşmaktadır. UTT-içermeyen bu retrotranspozon grubu insan genomunda halen mobilizasyon gösteren TE'lerdir. İnsan genomunda LINE'ler %20,4, SINE'ler %13,1 ve SVA'lar ise %0,1'lik yer işgal etmektedir (Ali vd., 2021). LINE'lerde baskın bir grup olan L1 (LINE-1)'ler, insan genomunda UTT-içermeyen retrotranspozonlar arasında cis-etkili (cis-acting) olarak kendi mobilizasyonunu sağlayan proteinleri kodlayan tek otonom ailedir (Tang vd., 2018). Primat-spesifik SINE'lerden olan *Alu* elementleri 280-300 bp uzunluğa sahip olup, 7SL RNA-türevli sol ve sağ monomer dizilerinin adenin-zengin konektör bölge (A_5TACA_6) tarafından bölündüğü ve poli(A) kuyruğu (A_n) ile sonlanan retrotranspozonlardır. SVA elementleri ise hominid-spesifik retrotranspozonlardan olup $(CCCTCT)_n$ hekzamer tekrarı, iki anti-sense *Alu* fragmanından ve araya giren özgün bir diziden oluşan *Alu*-benzeri bölge, VNTR bölgesi, retroviral kökenli kısa serpiştirilmiş nükleer element (SINE-R) dizisi ve poli(A) kuyruğu (A_n) ile sonlanırlar. UTT-içermeyen ve otonom-olmayan retrotranspozonlardan *Alu* ve SVA, protein kodlayıcı diziler içermezler. *Alu* ve SVA'ların mobilizasyonları, trans-etkili (trans-acting) olarak L1 proteinleri aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bu nedenle L1, *Alu* ve SVA insersiyonları genellikle; hedef bölge duplikasyonları (TSDs; target site duplications), 3' ucunda poli(A) kuyruğu (A_n) ve 5'-TTTT/AA-3' hedef konsensus dizisinde insersiyon gibi L1-aracılı retrotranspozisyonunun ayırt edici özelliklerini barındırırlar (A. J. Doucet vd., 2015; Savage vd., 2019) (Şekil 1.2).

İnsan genomunda 500.000'den fazla kopyası bulunan L1'ler, LINE ailesinin günümüzdeki tek aktif üyesi olarak, tüm TE dizileri içerisinde en yüksek dizi oranına sahip mobil elementlerdir (~%17) (Hermant ve Torres-Padilla, 2021; Tang vd., 2018). İnsan genomunun %4'lük kısmını oluşturan LINE-2 ve LINE-3 retrotranspozonları ise evrimsel süreçteki mutasyon birikimleri neticesinde inaktif hale gelmişlerdir (Pavlicek ve Jurka, 2006; Rahbari vd., 2015). L1'lerin insan genomunda 500.000'den fazla bulunan kopyasının yaklaşık %99,9'unda internal yeniden düzenlenimler, mutasyonlar veya prematüre revers transkripsiyon sonlanmaları neticesinde ortaya çıkan 5' kırpılmalarından (5' truncations) dolayı inaktivasyon meydana gelmiştir (Moreira vd., 2021). Bu nedenle genomumuzda sadece, yaklaşık 100 adet tam uzunlukta retrotranspozisyon-kompetent (RK; RC; retrotransposition-competent) L1 retrotranspozonu mevcuttur ve bunların tamamı insan-spesifik L1 (L1HS; human-spesific L1) ailesine üyedir (Sultana vd., 2019). Tam uzunluktaki bir L1 yaklaşık

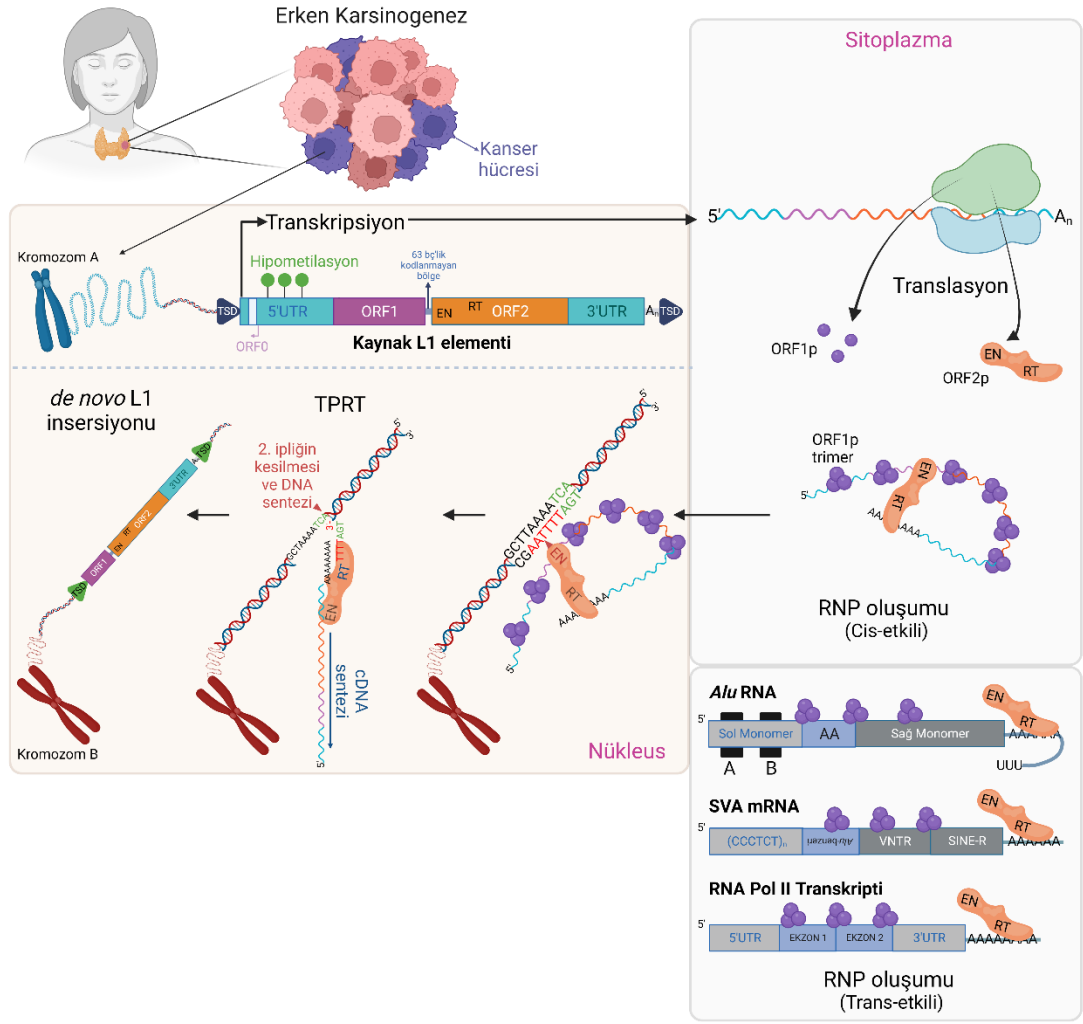
olarak 6 kb (kilobaz) boyutunda olup, sense yönünde iki açık okuma çerçevesi (ORF; Open Reading Frame) ORF1 ve ORF2'ye sahiptir. 5'UTR (untranslated region; translasyonu-olmayan bölge) bölgesi ise yaklaşık olarak 900 bç uzunluğunda olup L1 sense promotörünü ve anti-sense ORF0 bölgelerini içermektedir. Primatlara özgü olan ORF0'dan, retrotranspozisyon etkinliğini yükseltgeyen 71 amino asitlik (Ivancevic vd., 2016) bir protein kodlanmaktadır. ORF1 üzerinden ise 40 kDa'lık şaperon protein ve ORF2 üzerinden 150 kDa'lık endonükleaz (EN) ve revers transkriptaz (RT) aktivitesine sahip bir protein kodlanmaktadır. ORF1 ve ORF2 arasında 3 adet stop kodonu içeren 63 bç'lik bir bölge bulunmaktadır. ORF1 ve ORF2 translasyonu özgün bir terminasyon/tekrar-başlama (termination/re-initiation) mekanizmasıyla bisistronik mRNA üzerinden gerçekleşmektedir. 3' ucuna komşu poli(A) kuyruğu ile sonlanan 3' UTR bölgesi, 205 bç uzunluğunda olup görece zayıf poliadenilasyon (PA) sinyali ve polipürin bölgesi içermektedir. Bu bölge ayrıca, L1 transkriptlerinin transportunu sağlayan en az iki adet NXF1 (Nuclear RNA Export Factor 1; Nükleer RNA Eksport Faktörü 1) bağlanma bölgesi (CACAN₅GGGA) içermektedir (Hulme vd., 2006; Rahbari vd., 2015; Savage vd., 2019) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Tam uzunluktaki retrotranspozisyon-kompetent L1 yapısı. L1 dizisine komşu lacivert renkteki üçgenler, hedef bölge duplikasyonları (target site duplications; TSDs) ifade etmektedir. Bu şekil BioRender.com'da, "Savage vd., 2019" yayınındaki şekilden uyarlanılarak oluşturulmuştur

ORF1p ve ORF2p, L1 mRNA'sı (cis-acting; cis-etkili) ve/veya *Alu*, *SVA*, hücresel RNA Polimeraz II transkriptleri (trans-acting; trans-etkili) ile RNP (ribonucleoprotein; ribonükleoprotein) kompleksini oluşturarak hedefe-yönelik revers transkripsiyon (TPRT; target-prime reverse transcription) işleminin gerçekleşmesini ve böylece kendisinin ve diğer elementlerin yeni bir genomik lokasyona kopyalanmasını sağlamaktadırlar (Rahbari vd., 2015). TPRT sırasında L1 endonükleazı, 5'-TTTT/AA-3' hedef dizisini tanıyarak tek iplikte kesik (nick)

oluşturur ve L1 revers transkriptaz serbest kalan 3'-OH ucuna sahip poli(T) dizisini yakalayarak (Miller vd., 2021) L1 cDNA (complementary DNA; komplementer DNA) sentezini gerçekleştirir. Hedef bölgedeki tek iplikli DNA ile L1 mRNA poli(A) kuyruğu arasındaki kısa tamamlayıcı bölgeler TPRT aktivitesinin yükseltgenmesine yardımcı olur. ORF2p endonükleazı ikinci iplikte genellikle birinci ipliğin downstream (aşağı) bölgesinde ya da daha nadir olarak -hedef bölge delesyonlarına neden olan, upstream bölgesinde kesik oluşturarak serbest kalan 3'-OH ucundan 2. iplik cDNA'sının sentezini tetikler (Mita vd., 2020; Savage vd., 2019). TPRT süreci tamamlandığında, DNA tamir sistemi tarafından kesik bölgeler onarılır (Son vd., 2022) (Şekil 1.2). TPRT sonucunda genellikle L1 endonükleazının hedef motifi olan 5'-TTTT/AA-3' dizisinde insersiyon, değişken uzunlukta TSD'ler ve poli(A) kuyruğu gibi TPRT sürecine özgü ayırt edici DNA dizileri meydana gelir. Bununla birlikte L1 retrotranspozisyonları TPRT'ye özgü ayırt edici izleri taşımayacak şekilde, daha önceden oluşmuş çift iplik kırıklarında (DSBs; double-strand breaks) ve tek iplikteki DNA hasarlarında açığa çıkan 3'-OH uçlarında veya hasarlı telomerik uçlarda endonükleaz-bağımsız (EN-independent) bir şekilde de gerçekleşebilmektedir (Ariumi, 2016; Flasch vd., 2019; Kopera vd., 2011). TPRT ile yeni sentezlenen L1'lerin yalnızca %15'i tam uzunlukta olup geriye kalan L1'lerde sıklıkla otonom mobilizasyonlarını engelleyen 5' kırpılmaları veya inversiyon/delesyon olayları gelmektedir. Bununla birlikte L1 insersiyonları, hedef bölge DNA'sında da delesyonlara ya da kromozomal translokasyonlar gibi aberasyonlara neden olabilmektedir. Ayrıca L1 retrotranspozisyonlarında L1 3'UTR'sinde bulunan zayıf PA sinyali nedeniyle L1 3'UTR aşağı bölge (downstream)'ini içine alan uzamış transkriptlerin oluştuğu 3' transdüksiyonlar görülebilmekte; L1 5'UTR yukarı bölge (upstream)'inde güçlü bir promotör komşu bölgenin bulunduğu durumlarda ise 5' transdüksiyonlar açığa çıkabilmektedir (Richardson ve Faulkner, 2018; Son vd., 2022).



Şekil 1.2. L1 retrotranspozisyon döngüsü: Olası mekanizmalarından biri olarak; erken karsinogenezde meydana gelen L1 promotör bölgesinin hipometilasyonu L1 retrotranspozonunun aktivasyonuna yol açmaktadır (Y. R. Lee vd., 2021; Rahbari vd., 2015; Rodic ve Burns, 2013; X. Zhang vd., 2020). Varsayımsal olarak; kromozom A (mavi akrosentrik kromozom)'da lokalize tam uzunluktaki bir L1 kaynak elementinin RNA Pol II tarafından transkripsiyonu sonucu oluşan bisistronik mRNA sitoplazmaya taşınır ve burada ORF'lerin translasyonu gerçekleşir. Cis-etkili bağlanma: ORF1p trimerik yapıları ve ORF2p proteinleri L1'in kendi mRNA'sına bağlanarak L1 ribonükleoprotein (RNP) kompleksini oluştururlar. Nükleusa taşınan RNP komponentlerinden endonükleaz (EN), kromozom B (kırmızı metasentrik kromozom) DNA'sı üzerindeki 5'-TTTT/AA-3' konsensus dizisi üzerinde kesik oluşturarak 3'-OH grubunun açığa çıkmasına neden olur. Serbest 3'-OH ucuna sahip poli(T) dizisini primer olarak kullanan L1 revers transkriptaz (Miller vd., 2021), L1 mRNA'sı üzerinden TPRT (target-primed reverse transcription; hedefe-yönelik revers transkripsiyon) işlemini başlatır. Henüz tam olarak aydınlatılamamış bir mekanizmayla EN, karşı iplikte de kesik oluşturarak ikinci iplik DNA sentezinin başlamasını sağlar. TPRT sonucunda nadiren tam uzunlukta ancak sıklıkla 5'-kırpılmış şekilde hedef bölge duplikasyonları (target site duplications; TSDs; yeşil üçgenler ile gösterilmiştir) arasında kalan L1 *de novo* insersiyonu meydana gelmiş olur. Trans-etkili bağlanma: L1 ORF1p ve ORF2p proteinleri bazen de *Alu*, *SVA* veya hücrel RNA Pol II transkriptlerine bağlanarak RNP yapıları oluşturur ve TPRT mekanizmasıyla bu elementlerin trans-mobilizasyonunu sağlarlar. Bu şekil BioRender.com'da, "Savage vd., 2019" makalesindeki şekilden uyarlanılarak oluşturulmuştur

Günümüz insan genomunda retrotranspozisyon-kompetent tek L1 alt ailesi L1HS (diğer adıyla L1PA1)'dir (J. C. Jiang vd., 2021). L1HS'ler 3'UTR bölgesinde taşıdıkları diagnostik nükleotidlere göre L1pre-Ta ve L1Ta gruplarına ayrılırlar (Ta; transcribed, subset a; transkibe, altküme a) (Beck vd., 2011). L1pre-Ta'lar 5390-5392. pozisyonda 5'-ACG-3' dizisini taşırlar ve 6015. pozisyonda taşıdıkları "G" (~1,92 milyon yıl önce oluşmuş varyant) veya "A" nükleotidine (~3,24 milyon yıl önce oluşmuş varyant) göre 2 alt grup oluştururlar (Ovchinnikov vd., 2002; Salem vd., 2003). Evrimsel olarak en genç/aktif L1HS üyesi L1Ta'lar ise 5390-5392. pozisyonda 5'-ACA-3' diagnostik dizisini taşırlar. L1Ta'lar ise daha ileri olarak 5557. ve 5560. nükleotidleri sırasıyla "G" ve "C" olan L1Ta-0 ve 5557. ve 5560. nükleotidleri sırasıyla "T" ve "G" olan daha genç L1Ta-1 alt gruplarına ayrılırlar. L1Ta-1'ler ayrıca, 5'UTR'de 74. pozisyonda "G" delesyonu bulunduran en genç L1Ta-1 üyesi Ta-1d ve aynı pozisyonda delesyon taşımayan Ta-1nd olarak 2 dala ayrılırlar (Boissinot vd., 2000; Ovchinnikov vd., 2002; Richardson vd., 2015; Son vd., 2022). L1HS'ler, insan genomunda somatik L1 retrotranspozisyonunun ana kaynağı olarak, birçok farklı tip kanserin patogeneğinde rol oynamaktadırlar (Beck vd., 2011; Burns, 2017; Cajuso vd., 2019; Ewing vd., 2015; Hancks ve Kazazian, 2016; Schauer vd., 2018; Scott ve Devine, 2017).

1.2.1. L1 retrotranspozonlarının intrasellüler etkinlikleri

1.2.1.1. L1'lerin Regülasyonu

L1 retrotranspozisyon döngüsü birçok farklı aşamada, döngüye pozitif veya negatif etkide bulunan hücre içi mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir (Ariumi, 2016; Pizarro ve Cristofari, 2016). Yapılan güncel çalışmalarda L1 retrotranspozonlarının insan preimplantasyon dönemi embriyosunda ve plasental dokularda aktive olduğu gösterilmiştir (Kohlrausch vd., 2022; Protasova vd., 2021). PABP (Poly(A) Binding Protein; Poli(A) Bağlayıcı Protein)'ler, PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen; Prolifere Hücre Nükleer Antijeni), MAPK'ler ve siklin-bağımlı kinazlar gibi hücre içi faktörler L1 retrotranspozisyonunu yükseltirler (Bodak vd., 2014; Pizarro ve Cristofari, 2016).

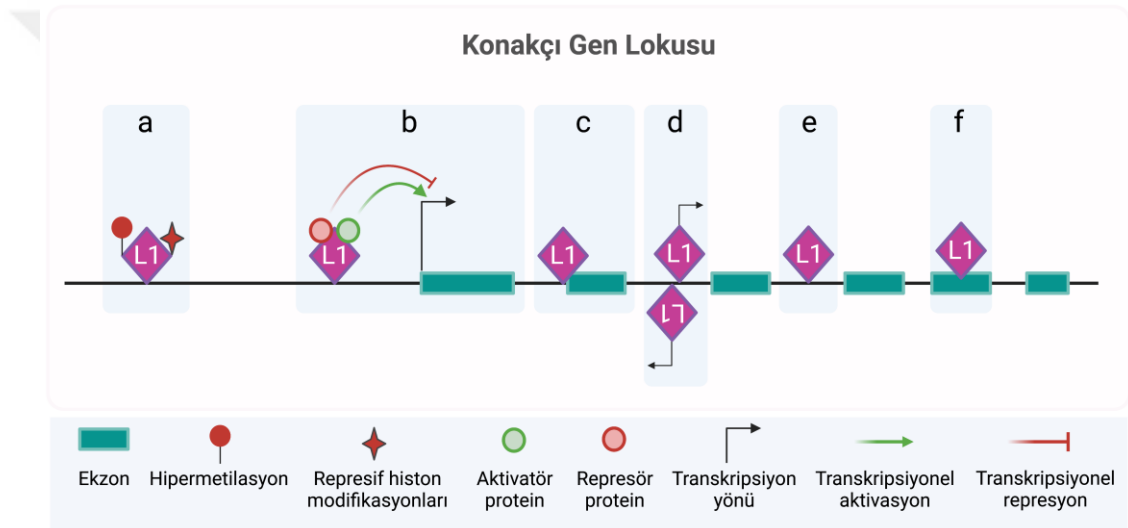
Bu düzenleyici mekanizmalar neticesinde sağlıklı bir insanda *de novo* L1 insersiyonları 63 doğumda 1 görülmekte (Feusier vd., 2019) olup, ortalama olarak herhangi 2 insan haploid genomu L1 insersiyon sayıları bakımından 1000 insersiyon

kadar farklılık gösterebilmektedir (Bourque vd., 2018). İnsan somatik hücrelerinde ise dokuya özgü olarak, bazılarının retrotranspozisyon kompetent olduğu ortalama 5 L1 kopyası transkripsiyonel olarak aktiftir (Ade vd., 2017). Geriye kalan L1 kopyalarının büyük bir çoğunluğu ise DNA metilasyonu, RNA-aracılı sessizleştirme ve histon modifikasyonları gibi mekanizmalarla epigenetik olarak sessizleştirilmiştir (Grundy vd., 2022). L1 mRNA'sının revers transkripsiyonu sırasında oluşan hatalardan dolayı, L1 kopyalarının yalnızca %40'ı kaynak (donör) L1 elementiyle özdeş kalmaktadır. TPRT sırasında, revers transkriptazın mRNA'dan erken dissosiyasyonu nedeniyle L1'ler sıklıkla 5' kırpılmalarına (5' truncations) uğramaktadırlar (Bodea vd., 2018) (Şekil 1.2). Bu dissosiyasyonda, ATM (ATM Serine/Threonine Kinase; ATM Serin/Treonin Kinaz) gibi DNA tamir mekanizmasında etkinlik gösteren hücre içi faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir (Coufal vd., 2011; Rahbari vd., 2015).

Bunun yanında bazı konakçı hücre savunma mekanizmaları L1 retrotranspozisyonunu baskılayarak potansiyel hasar verici retrotranspozisyon aktivitelerini engellerler. 5'UTR promotörünün metilasyonu L1 transkripsiyonel inaktivasyonu ve retrotranspozisyon inhibisyonu için önemli bir regülasyon mekanizmasıdır. L1 promotör metilasyonu DNMT1, DNMT3a (DNA Methyltransferase 3 Alpha; DNA Metiltransferaz 3 Alfa) ve DNMT3b gibi DNA metiltransferazlar ile gerçekleştirilmekte olup MECP2 (Methyl-CpG Binding Protein 2; Metil-CpG Bağlayıcı Protein 2) aracılı olarak retrotranspozisyon baskılanmaktadır. Bununla birlikte histon modifikasyonunda rol oynayan KRAB (Krueppel-Associated Box; Krüppel-İlişkili Kutu)-KAP1 (KRAB-Associated Protein 1; KRAB-İlişkili Protein 1) kompleksi, L1 sessizleşmesine katkı sağlamaktadır. İnterferon-stimüle genlerden *APOBEC3*, *MOV10* (Mov10 RISC Complex RNA Helicase; Mov10 RISC Kompleksi RNA Helikazı), *SAMDH1* (SAM And HD Domain Containing Deoxynucleoside Triphosphate Triphosphohydrolase 1; deoksinükleosit trifosfat trifosfohidrolaz 1 içeren SAM ve HD Bölgesi) gibi proteinlerin de L1 retrotranspozisyon restriksiyonunda önemli oyuncular olduğu açığa çıkarılmıştır. miR-128, piwi proteinleri ve piRNA (piwi-interacting (etkileşimli) RNA)'ların L1 mobilizasyonunu baskılayarak genomik stabilizeye katkı sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin de L1 aktivitesini indirdiği, mutant p53'e sahip kanser hastalarında L1 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (Ariumi, 2016; Munoz-Lopez vd., 2016; Pizarro ve Cristofari, 2016).

1.2.1.2. L1 Mutajenik Mekanizmaları

Endojen kaynaklı majör bir mutajenik faktör olarak L1 retrotranspozonları kanser ile ilişkilendirilmiş genomik bölgelerde, önemli yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olabilmektedirler (Zampella vd., 2016). Bu değişimler; transkripsiyonun erken ya da geç sonlanmasına, splicing (uç birleştirme) hatalarına, gen konversiyonuna, çift-iplik kırıkları veya tamirlerine, delesyonlara, ektopik rekombinasyon, transdüksiyon ve mikrosatellit oluşumlarına, kimerik transkriptlerin üretilmesine, antisense veya sense yeni promotör bölgelerinin oluşmasına, epigenetik regülasyonun değişimine sebebiyet verebilmektedir (Hulme vd., 2006; Savage vd., 2019) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. L1 insersiyonlarının gen yapı ve fonksiyonları üzerindeki başlıca etkileri: a. L1 metilasyonu ve heterokromatin oluşumu L1'in kendi ekspresyonunun veya komşu genlerin ekspresyonunun baskılanmasına neden olabilmektedir; b. L1 dizileri negatif ya da pozitif düzenleyici etkilere sahip transkripsiyon faktörleri için bağlanma bölgeleri oluşturarak, entegre oldukları bölgelerdeki gen anlatımlarını değiştirebilmektedirler; c. Kesim bölgeleri (splice sites) içeren L1'lerin intronlara gerçekleştirdikleri insersiyonlar, alternatif uç birleştirmelerine ve komşu genleri içeren yeni ekzonların açığa çıkmasına neden olabilmektedir; d. L1'in sense ve/veya antisense promotörü, L1 insersiyonunun gerçekleştiği bölgedeki komşu genler için transkripsiyon başlatıcı bölgeler oluşturabilmektedir. Ayrıca, tam uzunluktaki L1'lerin antisense yönündeki intronik insersiyonları gen kırılması (gene breaking) olarak adlandırılan mekanizma ile genin iki daha küçük transkripte bölünmesine neden olabilmektedir; e. Poli(A) kuyruğu içeren L1'lerin gen içi insersiyonları erken poliadenilasyona ve/veya transkripsiyonun durmasına yol açarak gen ekspresyonlarının indirgenmesine veya durmasına neden olabilmektedir; f. L1'lerin ekzonlara gerçekleştirdiği insersiyonlar "loss-of-function" mutasyonlarına neden olabilmektedir. Bu şekil BioRender.com'da, "Savage vd., 2019" ve "Hulme vd., 2006" yayınlarındaki şekillerden esinlenilerek oluşturulmuştur

1.2.1.3. L1 Retrotranspozisyonlarının Epitelyal Kanselerde Etkinliği

İnsan genomunu şekillendiren bir etken olarak L1 retrotranspozisyonları, insersiyonel mutagenез sonucu genomik instabiliteye ve kansere neden olabilmektedir (Tubio vd., 2014). TCGA (The Cancer Genome Atlas; Kanser Genomu Atlası) araştırma ağı veri tabanındaki NOS (Not Otherwise Specified; Başka Biçimde Tanımlanamayan) - papiller tiroid karsinomu, folliküler alt tip ve columnar cell alt tip papiller tiroid karsinomlarından 58 x 2 eşli tümör ve bitişik doku örneklerine ait RNA-Seq verileriyle yapılan bir çalışmada; bitişik dokulardaki total mobil element ekspresyonunun, tümör dokularına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak çalışmada, GENCODE veri tabanındaki referans retrotranspozon lokasyonlarına özgü RNA-Seq verileri kullanılmış; ve klasik ve tall cell alt tip PTK'ye özgü retrotranspozon ekspresyonları incelenmemiştir (Kong vd., 2019). Tüm Genomların Pan-Kanser Analizi (Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes; PCAWG) projesi veri setleri üzerinde yürütölen bir çalışmada farklı tipte tiroid tümörlerine ait 50 adet örneğin 6'sında 7 adet L1 insersiyonu tespit edilmiştir. L1 insersiyonu tespit edilen örneklerin 5'i papiller adenokarsinom – NOS olarak, 1'i ise folliküler alt tip PTK olarak tanımlanmıştır (Rodriguez-Martin vd., 2020). Ancak L1 insersiyonu tespit edilen örneklerin 1'i haricinde kontrol doku olarak tümöre bitişik doku yerine periferik kan kullanıldığından, L1 insersiyonlarının dokuya özgü olarak mı yoksa tümöre özgü olarak mı *de novo* oluştuğu belirlenmemektedir.

Tam uzunlukta ve retrotranspozisyon-kompetent L1 kopyaları, farklı insan popölasyonları dışında, doku-spesifik olarak da insersiyonel polimorfizm gösterebilmektedir. Kopyalardan yalnızca birinde meydana gelen promotör mutasyonu ve / veya kopyanın bulunduğu lokusun transkripsiyonel reaktivasyonu neticesinde L1, genom düzeyinde mutajenik bir faktör haline gelebilmekte ve birçok *de novo* mutasyonun oluşmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle, karsinogeneze risk faktörü ve biyobelirteç değerdendirmeleri açısından; global L1 ekspresyonu veya global L1 metilasyon profilinden çok, özgün L1 insersiyonlarının varlığı ve bu kopyaların bireysel ekspresyon seviyeleri anlamlılık teşkil etmektedir (Faulkner ve Billon, 2018; Philippe vd., 2016; Scott vd., 2016). Birçok farklı tip epitelyal kökenli kanserde özgün (novel) somatik L1 insersiyonları tespit edilmiştir (Ariumi, 2016). Geleneksel moleküler yöntemlerin teknik sınırlandırmaları nedeniyle 2010 yılına kadar yalnızca meme duktal adenokarsinomda, MYC (MYC Proto-Oncogene, BHLH

Transcription Factor; MYC Proto-onkogeni, BHLH Transkripsiyon Faktörü) aktive edici yeniden-düzenlenime ve kolon kanserinde *APC* geni inaktivasyonuna yol açan somatik mutasyonlar olarak iki L1 insersiyonu vakası raporlanmıştır. Son yıllarda ise hedefe yönelik yeni-nesil dizileme yöntemlerinin ve analiz metotlarının geliştirilmesi, birçok epitelyal kökenli kanserde yeni somatik L1 insersiyonlarının tespit edilmesini mümkün kılmıştır (Rodic ve Burns, 2013; Scott vd., 2016). Bir TCGA (The Cancer Genome Atlas; Kanser Genomu Atlası) projesinde kolorektal, prostat ve ovaryan kanserlerinde toplam 183 L1 insersiyonu gösterilmiş, tümör başına ortalama 4 (ovaryan karsinom) ile 106 (tek kolon karsinomu) arasında L1 insersiyonu tespit edilmiştir. L1 insersiyonlarının gerçekleştiği genlerin ise tümör hücrelerinde sıkça baskılanan ya da mutasyon görülen genlerde meydana geldiği bildirilmiştir (E. Lee vd., 2012; Rodic ve Burns, 2013). Diğer bir çalışmada 20 akciğer tümör örneğinin 6'sında 9 adet somatik L1 insersiyonu gözlemlenmiştir (Iskow vd., 2010; Scott ve Devine, 2017). Ayrıca NCI-60 (National Cancer Institute-60; Ulusal Kanser Enstitüsü-60) insan kanser hücreleri panelinde meme kanseri, ovaryan kanseri ve lösemi hücre hatlarında da L1 insersiyonları bulunmuştur. Özellikle meme ve ovaryan kanseri hücre hatlarında L1 retrotranspozonlarının tümör supresör gen bölgelerine insersiyon gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir (Zampella vd., 2016). Bununla birlikte tümör başlatıcı L1 insersiyonları ekzonik bölgelerde nadir olarak tespit edilmiştir (Helman vd., 2014; Miki vd., 1992; Scott vd., 2016). Epitelyal kanserlerde L1 insersiyonları intronik bölgelerde daha sık görülmektedir. Ekzonları hedefleyen L1 insersiyonlarının birçoğunun ise negatif seleksiyon sonucunda ortadan kalktığı düşünülmektedir (Rahbari vd., 2015). İntronik L1 insersiyonları fonksiyonel mRNA oluşumlarını etkileyerek gen ekspresyonunun inhibisyonuna yol açtığı gibi (J. S. Han vd., 2004), onkogenlerin transkripsiyonel aktivasyonuna neden olabilmekte; böylece tümöröenez sürecinde kanser hücrelerine selektif avantaj sağlayabilmektedir (E. Lee vd., 2012; Shukla vd., 2013). Örneğin, bir çalışmada ovaryan tümör büyümesi ve kemoterapi direnciyle ilişkilendirilen *STC1* (Stanniocalcin 1; Staniokalsin 1) geninin birinci intronuna 5' kırılmış L1 insersiyonu, yükseltgeyici etki oluşturarak *STC1* aşırı-ekspresyonuna yol açtığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte kemoterapi sonrası farklı lokasyonlardaki malignan hücre popülasyonlarının L1 içeren *STC1* allel frekanslarının artması, seleksiyon baskısı altında L1'lerin tümör hücre sağ kalımına katkısını açığa çıkarmaktadır (Nguyen vd., 2018).

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

L1 retrotranspozonlarının kanser erken evresinde aktive olabildiği; kanser progresyonu boyunca da aktif kaldığı ve progresyonla korele olarak L1 kopya sayısı amplifikasyonunun gerçekleştiği, transgenik fare meme kanseri modelinde (MMTV-PyVT (Mouse Mammary Tumor Virus- Polyoma Virus middle T antigen; Fare Meme Tümörü Virüsü-Polyoma Virüs orta T Antijeni) suşu) gösterilmiştir (Gualtieri vd., 2013). L1 aktivasyonu ve mobilizasyonu, hücre sağkalım yollarını etkileyerek, kemoterapötiklere karşı hücrel direnç yol açan yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olabilmektedir. Bu nedenle L1 retrotranspozisyonunun baskılanmasının, mevcut kemoterapötik yaklaşımların etkinliğini arttıracak düşünülmektedir (Lavasanifar vd., 2019). Efavirenz ve nevirapine gibi NNRTİ (Nükleosit-olmayan revers transkriptaz inhibitörü) ve NRTİ (Nükleosit revers transkriptaz inhibitörü) ajanlarının L1 revers transkriptazının inhibisyonuna yol açtığı, epitelyal kanserler üzerinde yapılan birçok farklı çalışmada gösterilmiştir (Patnala vd., 2014). HIV (Human Immunodeficiency Virus; İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)-pozitif kötü-diferansiye tiroid karsinomlu bir hastada, nevirapine uygulaması sonucunda, hastanın tümör hücrelerinde nükleer pleomorfizmin indirgenmesi, kolloid üretiminin arttığı ve tiroglobulin ve NIS (Na^+/I^- Symporter; Sodyum/İyot Simporter) protein ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde upregüle olduğu gözlemlenmiştir (Modoni vd., 2007). Başka bir çalışmada ise ARO ve FRO gibi insan anaplastik tiroid karsinom hücre hatlarında nevirapine ve efavirenz NNRTİ'lerinin hücre proliferasyonunu durdurarak, hücrelerin G_0/G_1 fazında birikimine neden olduğu; ARO hücrelerinde iyot alımının geri kazanımını sağladığı ve hücre büyümesini indirdiği bildirilmiştir (Dong vd., 2013; Landriscina vd., 2005). Ayrıca, L1 retrotranspozisyonunun baskılanmasının, birçok epitelyal kanser hücre hattında telomer uzunluğunun, telomeraz mRNA seviyesinin ve aktivitesinin azalmasını sağladığı tespit edilmiştir (Aschacher vd., 2016; Sciamanna vd., 2016). Tüm bu veriler, L1 retrotranspozonlarının kanser gelişimi ve kanser hücresi proliferasyonundaki birçok farklı yolağı etkileyen, majör bir oyuncu olduğunu işaret etmektedir.

Moleküler genetiğin yeni genomik çağında yeni-nesil dizileme (YND) gibi yüksek-verimlilikli genomik veri üreten yöntemler; genetik alterasyonların kanser gelişimi, davranışı ve hücrel sinyal yollarıyla ilişkileri hakkında yeni ve bütünlüklü bilgilerin açığa çıkmasını sağlamaktadır. Yeni yaklaşımlar ve geliştirilen

yeni metodolojiler ışığında, kanser genomunda alternatif mutajenik mekanizmaların önemi daha da iyi anlaşılmaktadır (Nishikawa vd., 2018; Roos ve de Boer, 2018). Kanser genomunu yapısal ve fonksiyonel olarak şekillendirebilen L1 retrotranspozisyonları, hücre dediferansiyasyonunda önemli bir terapötik hedef haline gelmektedir. Ayrıca, epitelyal kanserler üzerinde yapılan birçok çalışmada L1 insersiyonlarının kanser progresyonundaki etkinliği araştırılmakta olup; mutasyon başına, kanserde gözlemlenen diğer genetik aberasyonlardan daha fazla tümörögenез üzerinde etkinliğinin olduğu tartışılmaktadır (Carreira vd., 2014).

Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas; TCGA)'nın 496 papiller tiroid karsinomu vakası örneği üzerinde yaptığı çalışmada, agresif davranışıyla tutarlı olarak en yüksek mutasyon yoğunluğuna sahip PTK alt tipinin tall cell alt tipi olduğu raporlanmıştır (Cancer Genome Atlas Research, 2014). Yapılan bir başka çalışmada da; TC-PTK'de immün-ilişkili ve kanser-ilişkili 300 gende transkripsiyonel disregülasyon tespit edilirken, klasik PTK'de aynı gen grupları içerisinde yalnızca 22 gende disregülasyon gözlemlenmiştir (Chakladar vd., 2019). Ayrıca, genomik instabilitenin oluşmasında dramatik öneme sahip *TERT* promotör mutasyonlarının TC-PTK'de, klasik papiller tiroid karsinomlarından daha sık görüldüğü bilinmektedir (Chiba vd., 2017; Vuong vd., 2018). Bütün bu veriler ışığında, bu tez kapsamında diğer PTK alt tiplerinden daha yüksek sayıda gen disregülasyonu gözlemlenen en yaygın agresif varyant TC-PTK'de (Chakladar vd., 2019), klasik PTK'ye göre daha fazla mutasyon birikimi olduğunu ve bu nedenle daha sık L1 insersiyonu gözlemleneceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, TC-PTK'de hücre büyümesi, adezyonu ve proliferasyonu ile ilişkili genlerin fonksiyonlarını etkileyebilecek, klasik PTK grubunda bulunmayan özgün L1HS insersiyonlarının tespit edileceği öngörülmüştür.

Buradaki sonuçlar, TC-PTK'nin, dünya genelinde artan klasik PTK insidansından daha yüksek insidansa sahip oluşunun (X. Wang vd., 2016) olası nedenleri hakkındaki tartışmalara yeni bilgiler sağlamakta, agresif TC-PTK hücrelerinin sağ kalım mekanizmalarına etki edebilecek L1 retrotranspozisyon etkinliklerini açığa çıkarmaktadır. Ayrıca bu çalışma ile klasik ve tall cell alt tip PTK *ex vivo* hasta örneklerinin genomunda ilk defa haritalanan L1 insersiyon profilleri sayesinde; önceleri genetik olarak görece daha basit görülen ancak yeni nesil dizileme teknolojisi sayesinde birçok özgün genetik varyantın saptandığı tiroid kanserinde (Khatami ve Tavangar, 2018) L1'lerin terapötik bir hedef olarak öneminin

anlaşılmasına, kanser terapisinde hücresel cevabın daha ileri olarak yorumlanmasına ve kişiye özgü yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tezde kütüphane hazırlıkları ve L1HS identifikasyonu, Kvikstad ve arkadaşlarının 2018 yılında yayınladıkları TE-NGS (Transposable Element – Next Generation Sequencing; Transpoze olabilen Element – Yeni Nesil Dizileme) (Kvikstad vd., 2018) ıslak ve kuru laboratuvar protokolleri temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.1. Örneklem genişliğinin ve örnek seçim kriterlerinin belirlenmesi

Tubio ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınladığı çalışmada (Tubio vd., 2014), akciğer kanserinde agresif ve normal tümör retrotranspozisyon sayısı referans alınarak; klasik ve tall cell alt tip papiller tiroid karsinomlu hastaların eşli tümör ve tümöre bitişik FFPE dokularında L1HS insersiyonlarının %53 sıklıkta; ve TC-PTK’de K-PTK’ye göre hasta örneği başına L1HS insersiyonlarının %8 daha fazla görülmesi için eşli olarak alınması gereken minimum örnek sayısı; %80 güçle ve 0.05 anlamlılık düzeyinde iki oran için güç eğrisi hesaplaması kullanılarak Minitab® 19.1.1 programında hesaplanmış ve her grup için 16 bulunmuştur.

Yeni nesil dizilemeye uygun kalite ve miktarda, ayrıca tümör dokusuna özgü mutasyon tespitini mümkün kılacak saflıkta, DNA eldesi için literatür tarafından önerilen kriterleri sağlayan tümör ve tümöre bitişik dokudan oluşan toplam 64 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Buna göre örneklerde kanama, inflamatuvar hücre ve stromal elemanlar göz önünde bulundurulduğunda tümör saflığının önerilen %70’lik eşik değer üzerinde (J. Cheng vd., 2020) en az %90 olması; TC-PTK grubu için ise ek olarak tall cell morfolojisine sahip hücre oranının en az %70 olması; FFPE (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded; Formalin ile Fikse edilmiş, Parafine Gömülmüş) doku bloklarının fiksasyon süresinin 24 saati geçmemesi (Einaga vd., 2017; Nagahashi vd., 2017) ve arşiv tarihinin 7 yılı aşmamış olması gerekliliğiyle birlikte (Kofanova vd., 2020) olabildiğince yakın tarihli olması kriterleri gözetilmiştir.

3.2. FFPE doku slaytlarının hazırlanması, slaytlardan DNA izolasyonu ve izolatların kalite kontrolü

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı cerrahları tarafından total tiroidektomileri gerçekleştirilip %10 nötral-tamponlu formalin fiksatifine konulan hasta örnekleri Ondokuz Mayıs

Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri, Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı patologları tarafından teslim alınarak, fiksatif içerisinde 24 saatten daha kısa süre fiksasyona maruz bırakılmıştır. Daha sonra dehidrasyon, dealkolizasyon ve parafin infiltrasyonu işlemlerinden geçirilen örnekler, kesit alma işlemi için uygun FFPE doku blokları haline getirilmiştir. Arşiv süresinin 4 yılı geçmediği klasik ve tall cell alt tip PTK hastalarına ait toplam 32 adet FFPE doku bloğunun her birinden rehber slayt oluşturmak üzere mikrotom ile 1'er adet 4 µm kalınlığında (Nagahashi vd., 2017) kesit alınarak cam lam üzerine yerleştirilmiştir. Hematoksin ve eosin (H&E) ile boyanan klasik ve TC-PTK örneklerine ait 4 µm'lik slaytlar mikroskop altında incelenerek; kanama, inflamatuvar hücre ve stromal elemanlar göz önünde bulundurulduğunda tümör saflığının en az %90 olduğu, TC-PTK grubu için ise ek olarak tall cell morfolojisine sahip hücre oranının en az %70 olduğu, örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Seçilen örneklerin FFPE doku bloklarının her birinden, kütüphane hazırlığı basamağında girdi olarak önerilen minimum 250 ng DNA (Kofanova vd., 2020) miktarının üzerinde DNA miktarına ulaşabilmek amacıyla, 12'ser adet 20 µm'lik seri kesitler alınarak cam lamlar üzerine yerleştirilmiştir. H&E boyalı cam slaytlar üzerinde tümör ve tümöre bitişik alanların marker kalemle işaretlenmesiyle oluşturulan rehber slaytlar, boyasız 20 µm'lik slaytlardan tümör ve tümöre bitişik doku alanlarının bistüri ile kazınmasında referans olarak kullanılmıştır. Rehber slaytlar ile aynı seride kesilmiş boyasız 20 µm'lik slaytlar üst üste konularak 20 µm'lik slaytlardan tümör ve tümöre bitişik doku alanları steril bistüri ucu (Beybi®, Steril Bistüri Ucu, No: 15 ve No: 20) ile kazınmış ve 1.5 ml'lik DNA LoBind tüplere (Eppendorf®, Katalog No: 0030108051) aktarılmıştır. 32 farklı hastaya ait FFPE doku bloklarından alınan kesitlerde K-PTK grubundan K14 kodlu bir hastada ve TC-PTK grubundan T14 ve T16 kodlu 2 hastada ise tümöre bitişik doku alanlarına ulaşamadığından, bu hastalarda tümör ile aynı lobta ancak tümöre bitişik olmayan FFPE doku kesitleri tümöre bitişik doku örnekleri yerine kullanılmıştır. Bu nedenle K-PTK ve TC-PTK gruplarının tümöre bitişik doku örnekleri tez boyunca kontrol doku örnekleri olarak adlandırılmış; K-PTK grubu kontrol doku örnekleri KC, TC-PTK grubu kontrol doku örnekleri ise TC ön eki ile numaralandırılmıştır. GeneRead DNA FFPE Kit (Qiagen®, Katalog No: 180134) protokolünde belirtilen deparafinizasyon aşamasında 56°C'de inkübasyon süresi 15 dakikaya çıkarılmış; literatürde önerilen şekilde (Lenze vd., 2012; Nechifor-Boila vd., 2015), örneklerin proteinaz K miksinde

inkübasyonu aşaması ise 60°C’de gece boyu olarak güncellenmiştir. DNA izolasyonunu takiben QIAxcel DNA Screening Kit (Qiagen®, Katalog No: 929004), Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific®, Katalog No: Q32854) ve Qubit 3.0 Fluorometre (Thermo Fisher Scientific®, Katalog No: Q33216) kullanılarak DNA fragman boyutları ve konsantrasyonları saptanmıştır. Sonuçta, miktarın en az 300 ng ve DNA fragman boyutlarının ortalama 200 ile 450 bp arasında olduğu DNA izolatları elde edilmiştir.

3.3. Tümör ve kontrol FFPE doku örneklerine ait genomik kütüphanelerin hazırlanması

Her bir hastanın, eşli tümör ve kontrol FFPE doku örneklerinden elde edilen DNA’lardan ve laboratuvarımızda mevcut olan 1 adet kontrol NA12878 insan diploid referans DNA’sından sırasıyla 300 ve 150 ng DNA PCR tüplerine alınmış; NEBNext® dsDNA Fragmentaz (New England Biolabs®, Katalog No: M0348L) ile yalnızca NA12878 referans DNA’sı kesime sokulmuştur. NA12878 örneği 37°C’de 18 dk inkübe edilerek istenilen medyan 300 bp DNA fragmanları elde edilmiştir. Uç tamiri, adaptör ligasyonu ve kütüphane hazırlığı ile ilgili ileriki prosedürler NEBNext® Ultra II DNA Library Kit for Illumina® (New England Biolabs®, Katalog No: E7645L) ve NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina®, 96 Index Primers (New England Biolabs®, Katalog No: E6609S) reaktifleri ile kite ait protokol kullanılarak yürütülmüştür. Fragman halindeki DNA’larda; uç tamiri (end repair) ve NEBNext® Illumina® adaptör ligasyonu gerçekleştirilmiştir. 0.85x oranında AMPure XP magnetik boncuklar (Beckman Coulter®, Katalog No: A63881) kullanılarak uç tamiri yapılmış ve adaptör eklenmiş, ortalama 370 ile 440 bp arası boyutlarda DNA fragmanları pürifiye edilmiştir. DNA ürünlerinin konsantrasyonu ve fragman boyları Qubit 3.0 Fluorometre ve QIAxcel High Resolution Kit (Qiagen®, Katalog No: 929002) kullanılarak ölçülmüştür.

3.4. L1HS hedef bölgelerinin zenginleştirilmesi ve pürifikasyonu

L1HS-hedef primeri (5’-GGGAGATATACCTAATGCTAGATGACAC-3’) (Ewing ve Kazazian, 2010; Kvikstad vd., 2018) ile Illumina® Universal P5 PZR primeri (NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina®, 96 Index Primers (New England Biolabs®, Katalog No: E6609S)) kullanılarak insan genomunda aktif olan L1HS 3’ diagnostik dizisini ve komşu dizileri içeren bölgeler PZR (Polimeraz Zincir

Reaksiyonu) ile eksponansiyel olarak çoğaltılıp; 0.9x oranında AMPure XP magnetik boncuklar ile 150 bp'den büyük boyutlardaki PZR amplikonları pürifiye edilmiştir.

3.5. L1HS-hedef primeri ile linear (asimetrik) PZR amplifikasyonu, arka plan ssDNA fragmanlarının enzimatik kesimi ve amplikonların saflaştırılması

L1HS-hedef primerleri kullanılarak eksponansiyel PZR amplifikasyonu ile elde edilmiş ve hedef L1HS komplementer dizilerini içeren ürünlerin tekrar L1HS-hedef primerleri ile linear PZR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. L1HS hedef dizilerini içermeyen arka plan tek iplikli DNA (ssDNA) fragmanları ise RecJf (New England Biolabs®, Katalog No: M0264S) ekzonükleazları ile kite ait protokol takip edilerek degrade edilmiştir. 0.9x oranında AMPure XP magnetik boncukları kullanılarak adaptör dimeri boyutu olan 150 bp'lik fragmanlar, örneklerden uzaklaştırılmıştır.

3.6. Illumina Universal P5 PZR primeri ile ikinci asimetrik PZR amplifikasyonu ve hedef dışı ssDNA fragmanlarının kesimi

L1HS asimetrik PZR ürünlerinin Illumina® Universal PZR P5 primeri ile linear PZR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Illumina Universal P5 PZR primerlerine komplementer dizileri içermeyen, bu nedenle amplifiye olmamış arka plan ssDNA fragmanları RecJf ekzonükleazları ile degrade edilmiştir.

3.7. Nested PZR ile çift adaptörlü final kütüphanelerin oluşturulması ve pürifikasyonu

L1HS 3' ucunu ve kısmi olarak Illumina® i7 indeks adaptörü dizisini içeren L1HS-nested primeri (5'-AGACGTGTGCTCTTCCGATCTTGCACAATGTGCACATGTACCCTAAACTTAG-3') (T. T. Doucet ve Kazazian, 2016; Kvikstad vd., 2018) ve Illumina® Universal P5 PZR primerleri kullanılarak nested PZR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Primer ve adaptör dimeri kalıntılarını en aza indirmek üzere 0.9x oranında AMPure XP magnetik boncukları ile iki tekrarlı pürifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

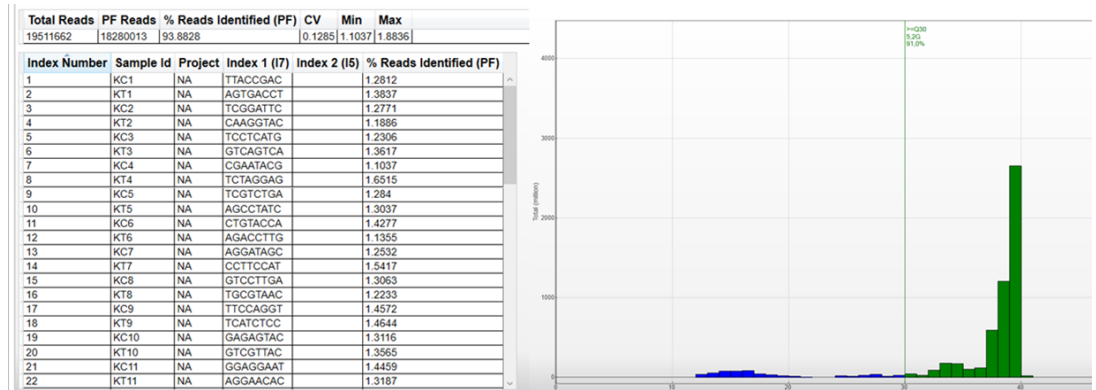
3.8. Adaptör ekstensiyonu ve final pürifikasyon

Her bir örneğe ait final kütüphanelerden, farklı Illumina® P7 PZR primerleri (NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina®, 96 Index Primers (New England Biolabs®, Katalog No: E6609S)) ve Illumina® Universal P5 PZR primeri kullanılarak;

Illumina® köprü sekanslama (bridge sequencing) kimyasına uygun, iki adaptörlü çift iplikli kütüphaneler PZR ile elde edilmiştir. 0.9x oranında AMPure XP magnetik boncuklar kullanılarak adaptör dimerleri uzaklaştırılmış ve ortalama 400 bp'lik fragmanlara sahip kütüphaneler saflaştırılmıştır.

3.9. Kütüphanelerin havuzlanması ve sekanslanması

Qubit 3.0 Fluorometre ve QIAxcel High Resolution Kit ile kütüphaneler değerlendirilmiş ve kütüphanelerin ortalama 400 bp boyutlarında, primer ve özellikle adaptör dimeri içermeyen kütüphaneler elde edilmiştir. 16 x 2 tall cell alt tip ve 16 x 2 klasik PTK eşli tümör ve kontrol FFPE doku DNA'larına ait toplam 64 ve 1 adet kontrol NA12878 insan diploid referans DNA'sına ait kütüphanelerin molariteleri hesaplanarak, 10 nM'da havuzlanmıştır. Örnek havuzu daha ileri olarak son yükleme konsantrasyonu 13 pM'a indirilmiş ve havuzun %5'ini oluşturacak şekilde 13 pM PhiX Control v3 (Illumina®, Katalog No: FC-110-3001) havuza eklenmiştir. Kütüphane havuzu, tek bir MiSeq Reagent Kit v2-300 cycle (Illumina®, Katalog No: MS-102-2002) kartuşuna yüklenerek, Illumina® v2 flow cell üzerinde 151 döngülü ve çift-yönlü (paired-end) olarak dizilenmiştir. Dizileme sonucunda kalite kontrol parametrelerine bakıldığında; küme yoğunluğunun (cluster density) 1014 K/mm², filtreden geçen indeks atanmış küme yüzdesinin (%PF; the percentage of clusters passing filter) %93,9 ve baz okumalarının %91'inin Q30 (Phred kalite skoru 30) ve üzerinde olduğu görülmüştür (Şekil 3.1). Dizileme sonucunda örnek başına ortalama olarak yaklaşık 530.000 okuma ile, TE-NGS protokolünde (Kvikstad vd., 2018) hedeflenen okuma sayısının 5,3 katı okuma sayısı elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Dizileme sonrası toplam okuma sayısı, filtreden geçen küme sayısı (PF), filtreden geçen indeks atanmış küme yüzdesi (%PF) ve Phred kalite skoru 30 ve üzerinde okuma yüzdesi (≥ Q30) verilerinin Illumina® Sequencing Analysis Viewer aracılığıyla görüntülenmesi

3.10. L1HS insersiyonlarının biyoinformatik olarak identifikasyonu ve karakterizasyonu

YND verisinin sekonder analizlerini gerçekleştirmek için kullanılan yazılımlar, aksi belirtilmedikçe, bir Linux dağıtımı olan Ubuntu 14.04 LTS işletim sisteminin uç biriminde çalıştırılmıştır.

Illumina® MiSeq'te çift-yönlü olarak elde edilmiş ve Illumina® MiSeq Reporter yazılımında kalite kontrolünden geçmiş, indeks dizilerine göre ayrıştırılmış (demultiplexing) ve adaptör dizileri kırılmış (trimming) 65 örneğin FASTQ verileri; BWA-MEM (Heng Li, 2013) ile birlikte Stampy (Lunter ve Goodson, 2011) yazılım paketi ile GRCh37/hg19 insan referans genomuna göre hizalanmıştır. Stampy yazılımı, BWA-MEM hizalamasının hassasiyetinin ve doğruluğunun artırılması amacıyla kullanılmıştır. Elde edilen BAM (Binary Alignment Map; İkili Hizalama Haritası) dosyalarının hizalandıkları kromozom koordinatlarına göre sıralanması, SAMtools (H. Li vd., 2009) sort paketi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra PZR duplikasyonu artefaktları, MarkDuplicates (Picard) (<http://broadinstitute.github.io/picard/>) aracılığıyla temizlenmiş ve BAM dosyaları SAMtools index ile BAM indeks (BAI) dosyaları haline getirilmiştir.

3.10.1. L1HS identifikasyonu boru hattı

TE-NGS boru hattı (Kvikstad vd., 2018), çift-yönlü dizileme sonrası referans genoma hizalanan okumaları L1HS-nested primer dizisi ve dizinin aşağı bölgesine komşu L1HS (L1Ta ve L1pre-Ta) benzeri dizileri içermesine göre filtrelemektedir. Ayrıca, hem L1HS-benzeri dizileri içeren hem de diğer yöndeki benzersiz (unique) komşu dizileri içeren okumaları haritalama kalitesini sağlamak üzere daha ileri olarak filtrelemektedir. Bu aşamada; L1HS-zenginleştirilmiş (L1HS-enriched) kütüphanelerin referans genomda olmayan L1HS insersiyonlarını da içermesi beklenmektedir. L1HS-nested primer dizisi, L1HS 3'UTR'sine ait dizi ve poli(A) kuyruğu gibi L1HS karakteristik dizilerini içeren okumalar, okumanın güvenilir bir şekilde haritalanmasını engelleyecek ve / veya referans genomda L1HS dizileriyle yüksek homoloji gösteren birçok farklı lokasyonda hizalanmaya neden olabilecektir. Bu nedenle, L1HS dizilerini içeren değil ama benzersiz komşu dizilerden oluşan okumalar, L1HS insersiyonlarının tespiti için dramatik bir önem arz etmektedir. Benzersiz komşu dizilerden oluşan en az 2 okumaya sahip hizalanmaların genomik

koordinatları, TE-NGS'in BED (Browser Extensible Data; Tarayıcı Genişletilebilir Veri) uzantılı anotasyon dosyasında tutulmaktadır. TE-NGS kod bloğu (script) L1HS tespitinde, TE-hedefleyen bazı çalışmaları ve genel veri tabanlarını kullanarak, GRCh37/hg19 referans genomunda belirlenmiş L1HS insersiyon noktalarının - kütüphane fragman boyutları göz önünde bulundurularak, 600 bç'lik pencerede genişletilmiş interval BED dosyalarını kullanmaktadır. Anotasyon dosyasındaki sonuçlar, hg19'daki referans insersiyon lokasyonları ile örtüşüyorsa reference (referans); polimorfik germ hattı insersiyonlarının tanımlandığı çalışmalar ve veri tabanlarındaki lokasyonlar ile eşleşiyorsa known non-reference (polimorfik); eğer bu çalışmalarda ve veri tabanlarında ilgili lokasyonda herhangi bir L1HS insersiyonu tespit edilmemişse novel (özgün) olarak sınıflandırılmaktadır.

Kvikstad ve ark.'larının çalışması (Kvikstad vd., 2018) ve bu çalışmadaki NA12878 genomunda tespit edilen ortak L1HS lokasyonları intersectBed komutu ile, her iki çalışmada ayrı olarak görülen insersiyonlar ise bedtools subtract -A komutu kullanılarak elde edilmiştir. Sonuçlar, RStudio programında, bir R paketi olan "eulerr" (Larsson J (2022). *eulerr: Area-Proportional Euler and Venn Diagrams with Ellipses*. R package version 7.0.0, <https://CRAN.R-project.org/package=eulerr>) kullanılarak, alan orantılı Venn şemasında görselleştirilmiştir (Ek Şekil 1.3).

TE-NGS boru hattı sonucunda elde edilen, her bir örneğe ait BED anotasyon dosyaları Ubuntu 16.04 LTS uç biriminde "cat" komutu ile tek bir BED dosyasında birleştirilmiştir. Bununla birlikte, hem tez kapsamında elde edilen NA12878'e ait BED dosyası özgün, polimorfik ve referans insersiyonları içeren üç ayrı BED dosyasına bölünmüştür. Benzer şekilde Kvikstad ve arkadaşlarının çalışmasında elde ettiği NA12878 BED dosyası da üç ayrı BED anotasyon dosyasına ayrılmıştır. Her iki çalışmadaki NA12878'e ait özgün, polimorfik ve referans L1HS insersiyonlarında çakışan insersiyonları birleştirmek üzere tüm BED dosyaları öncelikle BEDTools yazılımında "bedtools sort" komutu kullanılarak artan kromozom numarası ve lokasyonlara göre sıralanmıştır. Takibinde ise "bedtools merge" ile her iki çalışmanın özgün, polimorfik ve referans NA12878 L1HS insersiyonları 3 ayrı dosyada birleştirilmiştir. Her bir örneğe ait BED dosyalarının birleştirilmesiyle oluşturulan BED dosyasında özgün olarak işaretlenen L1HS insersiyonları ile yeni bir BED dosyası oluşturulmuş ve insersiyonlar "bedtools sort" komutu ile artan kromozom numarası ve lokasyonlara göre sıralanmıştır. Sıralanmış, özgün L1HS insersiyon

lokasyonlarını içeren BED dosyası ile sıralanmış ve “bedtools merge” ile iki çalışmaya ait özgün, polimorfik ve referans olarak 3 ayrı dosyada NA12878 BED çıktılarının birleştirilmesiyle oluşturulmuş toplam 4 BED dosyası “cat” komutuyla tek bir BED dosyası haline getirilmiştir. Bu BED dosyasında da “bedtools sort” komutu ile L1HS insersiyonları artan kromozom numarası ve lokasyonlara göre sıralı hale getirilmiş ve “bedtools cluster (-d 100 opsiyonu kullanılarak)” komutu aracılığıyla; NA12878 örneklerinde özgün, polimorfik ve referans olarak olarak gözüken L1HS insersiyonlarıyla 100 bç’lik pencere içerisinde kesişen örneklerle ait özgün L1HS insersiyonları polimorfik L1HS insersiyonları olarak sınıflandırılmıştır.

Klasik ve tall cell alt tip PTK örneklerinde tespit edilen özgün L1HS insersiyonu sayısının dizileme öncesi kütüphane konsantrasyonları, fragman boyutları ve okuma sayısı ile ilişkisi Graphpad Prism® v7 programı kullanılarak doğrusal regresyon analizi ile incelenmiş ve analiz sonuçları görselleştirilmiştir (Ek Şekil 1.2).

3.10.2. L1HS’lerin fonksiyonel anotasyonu

Tüm örneklerle ait özgün L1HS insersiyon lokasyonlarını içeren BED anotasyon dosyası kullanılarak örnekler arasında 2 veya daha fazla tespit edilen özgün L1HS insersiyon lokasyonlarının kromozomlar üzerindeki dağılımları, bir R paketi olan “circlize” (Gu vd., 2014) ile görselleştirilmiştir (Şekil 4.1).

Özgün L1HS insersiyonlarını içeren BED dosyası, Ubuntu 16.04 LTS işletim sisteminin uç biriminde Ensemble Variant Effect Predictor (VEP; Varyant Etkisi Tahmincisi) (McLaren vd., 2016) versiyon 102 komut satırı ile varyant anotasyonları yapılarak VCF (Variant Call Format; Varyant Çağırma Formatı)’na çevrilmiş; vcf2maf (doi:10.5281/zenodo.593251) yazılım paketi aracılığıyla VCF dosyaları MAF (Mutation Annotation Format; Mutasyon Anotasyon Formatı) dosyalarına çevrilmiştir. RStudio programında ise MAF dosyaları kullanılarak, bir R paketi olan maftools (Mayakonda vd., 2018) paketinde “plotmafSummary” fonksiyonu kullanılarak her bir örnekte tespit edilen L1HS insersiyon sayısı ve varyant sınıflandırmaları görselleştirilmiştir (Şekil 4.2).

Özgün L1HS insersiyonlarının etkilediği onkogenik yollar ve genler ise sırasıyla “OncogenicPathways” ve “PlotOncogenicPathways” fonksiyonlarıyla analiz edilmiştir. Ek olarak, COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer) veri tabanında (Tate vd., 2018) tiroid kanserinde en sık mutasyon görülen 20 gen; güncel

literatür verileri ışığında tümöröenez ve PTK riski ilişkilendirilmiş genomik bölgeler; ayrıca kanserlerde intronik yanlış uç birleştirme (mis-splicing) mutasyonları bildirilmiş genler (Gudmundsson vd., 2017; Jung vd., 2021; Saenko ve Rogounovitch, 2018; W. Zhou vd., 2020; Zidane vd., 2019) ve agresif PTK, KDTK ve ATK’de mutasyonları bildirilmiş genlerde (Coca-Pelaz vd., 2020; Jin vd., 2021) de özgün L1HS insersiyonlarının görülüp görülmediği araştırılmıştır. İnsersiyonların bulunduğu genomik lokasyonlar, örnek BAM ve BAI dosyaları kullanılarak IGV (Integrative Genomics Viewer) (Robinson vd., 2022) yazılımında görüntülenmiş; hizalamaların doğruluğu kontrol edilmiştir.

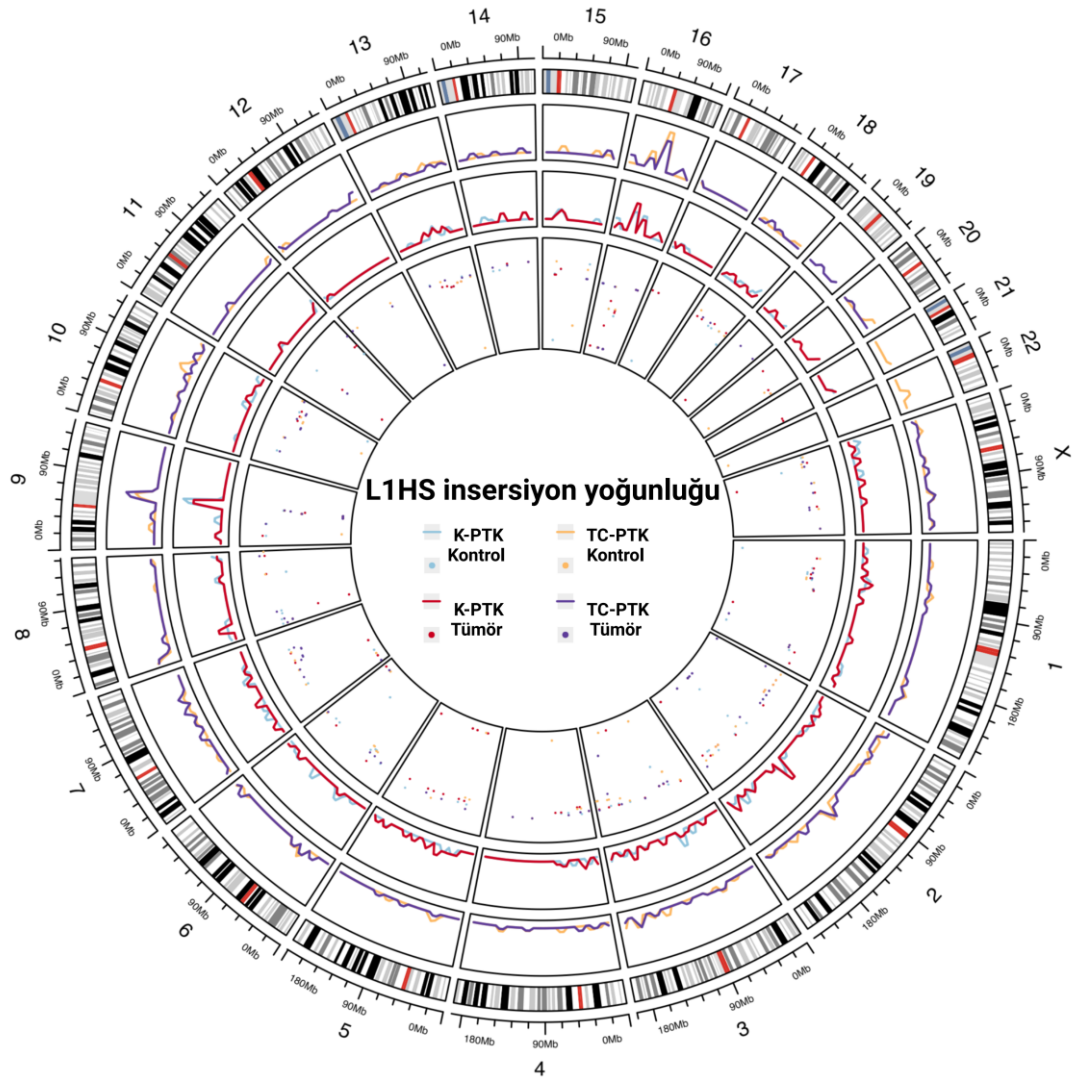
Diğer bir R paketi olan ComplexHeatmap’in (Gu vd., 2016) “OncoPrint” fonksiyonu kullanılarak ise L1HS insersiyonlarının en çok tespit edildiği ilk 20 gen ve insersiyonların varyant sınıflandırmaları; ayrıca ilgili genlerin promotör ve 3’UTR bölgelerinin bilinen veya olası *cis*-regülatör elementler içerip içermediği Molecular Signatures Database (MSigDB; Moleküler İmza Veri Tabanı)’nın regülatör hedef gen seti (C3: regulatory target gene sets) kullanılarak görselleştirilmiştir (Şekil 4.3). Özgün L1HS insersiyonlarının en çok tespit edildiği 20 gende, literatürde daha önceden bildirilmiş bir L1 insersiyonunun bulunup bulunmadığı euL1db (The European database of L1-HS retrotransposon insertions in humans; insanlarda L1-HS insersiyonlarının Avrupa veri tabanı)’nda (Mir vd., 2015) taranarak araştırılmıştır. 5’Flank (5’Komşu) ve / veya 3’Flank gen bölgelerinde tespit edilen L1HS’lerin kromozomal koordinatlarının, 100 bç’lik pencere içerisinde, hangi transkripsiyon faktörleri tarafından hedeflendiği ise MotifMap (Daily vd., 2011) çevrim içi aracıyla FDR (False Discovery Rate; Yanlış Keşif Oranı) < 0.01 veya < 0,25 eşik değerine göre analiz edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

TE-NGS boru hattının kullanımı sonucunda NA12878 referans genomunda referans olarak tanımlanan 448 adet L1HS lokasyonu tespit edilmiştir. Referans çalışmanın NA12878’de bulunduğu L1HS referans insersiyon sayısı ise 437 adettir (bkz. https://github.com/ekviky/TE-NGS/blob/master/distrib/examples/NA12878_TE-NGS_calls_annotated_v0.1.bed). Kvikstad ve arkadaşları tarafından NA12878 genomunda tespit edilen 420 adet referans L1HS insersiyonu, bu çalışmada tespit edilen insersiyon lokasyonları ile aynı bulunmuştur. Referans çalışmada tespit edilen ancak bu çalışmada tespit edilmeyen 17 adet referans L1HS insersiyonu bulunurken, referans çalışmada bulunmayan ancak bu çalışmada bulunan 28 adet referans L1HS insersiyonu gözlemlenmiştir (Ek Şekil 1.3). Örnek olarak, referans çalışmada tespit edilmeyen ancak bu çalışmada tespit edilen kromozom 1’de lokalize referans L1HS insersiyonunun IGV yazılımındaki (Robinson vd., 2022) görüntüsü, “Ek Şekil 1.1”de gösterilmiştir. Benzer şekilde polimorfik L1HS insersiyonlarından 237 lokasyon her iki çalışmada da gözlemlenmiş, referans çalışmada 17 adet; bu çalışmada ise 93 adet farklı polimorfik L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Özgün L1HS insersiyonlarından ise her iki çalışmada 3 adet ortak lokasyon tespit edilmiş; referans çalışmaya özgü 16 adet, tez kapsamında ise 14 adet L1HS insersiyonu farklı bulunmuştur (Ek Şekil 1.3).

L1HS-hedefleyen yeni nesil dizileme çalışması sonucunda, klasik ve tall cell alt tip PTK hastalarına ait, tümör ve kontrol dokudan oluşan toplam 64 adet örnekte 8654 özgün L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Kvikstad ve ark.’nın ve bu tez çalışması kapsamında NA12878 genomunda tespit edilen L1HS insersiyon lokasyonlarının, klasik ve tall cell alt tip PTK örneklerinde bulunan özgün 8654 adet insersiyon lokasyonu ile 100 bç’lik pencere içerisinde örtüşmesi sonucunda 392 adet özgün L1HS insersiyonu, polimorfik L1HS insersiyonları olarak yeniden tanımlanarak özgün insersiyon sınıflandırmasından düşürülmüştür. Kalan 8262 “novel (özgün)” L1HS insersiyonları arasında ise 574 tanesi 2 veya daha fazla örnekte ortak olarak tespit edilmiştir. Bu insersiyonların kromozomlardaki dağılımları incelendiğinde; her iki PTK grubunun kontrol ve tümör doku örneklerinde kromozom 2, kromozom 9 ve kromozom 16’da belirgin bir L1HS yoğunluğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Kromozomal lokasyonlar, örneklerin BAM ve BAI uzantılı dosyaları kullanılarak IGV’de görüntülenmiş ve bu lokasyonlardaki okumaların yanlış hizalanmış okumalar olduğu saptanmıştır. Takibinde okumaların yanlış olarak hizalandığı referans genom

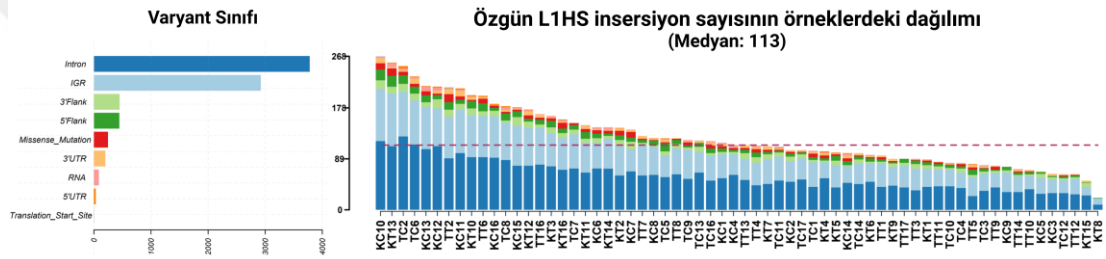
dizileri Dfam 3.1 (Hubley vd., 2016) veri tabanında taranmış ve tarama sonucunda bu dizilerin kromozom 9'da ALR (Alpha Repetitive DNA; Alfa Tekrarlı DNA), kromozom 2'de *ANKRD30BL* intronunun sahip olduğu ALR ve kromozom 16'da HSATII (Human Satellit II; İnsan Satellit II) bölgelerini içerdiği görülmüştür. Sonuçta toplam 93 L1HS insersiyonu yanlış pozitif (toplam tespit edilen özgün L1HS insersiyonunun %1,12'si) olarak sınıflandırılmış ve ileri analizler; 8169 adet gerçek özgün L1HS insersiyonu üzerinden gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1. İki veya daha fazla örnekte ortak olarak tespit edilen 574 adet özgün L1HS insersiyonunun kromozomlardaki dağılımı. Kromozom 9, 16 ve 2'de gözlemlenen yoğunlukların, tekrarlı DNA dizilerinden kaynaklı yanlış hizalanma sonucunda ortaya çıkan yanlış pozitif L1HS anotasyonları olduğu saptanmıştır

Örnek başına düşen gerçek özgün insersiyon sayısı ise medyan (ortanca) 113 olarak bulunmuştur. İnsersiyonların büyük bir çoğunluğunun -literatürle uyumlu

olarak (Helman vd., 2014; Miki vd., 1992; Scott vd., 2016), intronik ve intergenik bölgeler (IGRs; intergenic regions)'ta lokalize olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). Bununla birlikte ileriki gen zenginleştirme analizlerinde L1HS tarafından hedeflendiği tespit edilen gen bölgelerinde referans genomu hizalanan okumalar IGV'de görüntülenerek okumaların L1HS dizisi içeren kısmının tam olarak translasyon başlangıç bölgesi (translation start site), 3'UTR, 5'UTR, kodlanmayan RNA bölgesi veya ekzona denk gelip gelmediği incelenmiştir. Okumaların L1HS dizisi içeren kısmının ilgili bölgelere hizalanmasından kaynaklanmayan, ancak benzersiz (unique) komşu diziyi içeren karşıt yöndeki okumaların bu bölgelere hizalanması sonucunda varyant sınıflandırması yapılan insersiyon bölgelerinin sınıflandırmaları güncellenmiştir.



Şekil 4.2. Örneklerde tespit edilen özgün L1HS insersiyonlarının varyant sınıfları ve toplam özgün L1HS insersiyon sayısının örneklerdeki dağılımı

Tanımlanmamış genomik lokasyonlar dışında kalan özgün L1HS insersiyonlarının sıkça etkilediği 20 gene bakıldığında (Şekil 4.3); 17'sinin euL1db veri tabanında germ hattı ve / veya somatik olarak L1HS insersiyonu barındırdığı görülmüştür. İçlerinden L1HS insersiyonu barındıran 15 gen, farklı birçok normal (kontrol) doku, tümör dokusu ve sağlıklı bireye ait lökosit örneklerinde bildirilmiştir. *GPC6* (Glypican 6; Glipikan 6)'da lokalize L1HS insersiyonu ise somatik olarak yalnızca 1 adet baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomunda görüldüğü veri tabanında kayıtlanmıştır. Farklı tip kanserler üzerinde yapılan çalışmalarda *GPC6* ifadenin kanser tipine göre arttığı veya azaldığı bildirilmiştir (N. Li vd., 2020). Bu çalışmada, *GPC6*'da lokalize insersiyonlar ise her iki PTK grubunda kontrol ve tümör dokularında tespit edilmiştir. K3 kodlu hastanın tümör dokusu örneği (KT3)'te *GPC6* genindeki L1HS insersiyonunun genin 5'Flank bölgesinde olduğu görülmüştür. *HERC2P4* (Hect Domain and RLD 2 Pseudogene 4; Hect Bölgesi ve RLD 2 Psödogen 4)'de germ hattı L1HS insersiyonunun da bir adet glioblastom örneğinde saptandığı euL1db veri tabanında raporlanmıştır. Meme kanseri üzerinde yapılan güncel bir

araştırmada *HERC2P4*, onkogenik psödogen olarak sınıflandırılmıştır (Tan vd., 2020). Bu tez çalışması kapsamında, potansiyel olarak germ hattı L1HS insersiyonu, K14 örneğinin her iki dokusunda *HERC2P4* intronunda tespit edilmiştir. Bunun dışında K-PTK grubunda 3 adet örneğin yalnızca tümör dokusunda *HERC2P4*'te insersiyon saptanmıştır. Bu örneklerden KT13'te L1HS insersiyonunun *HERC2P4*'nin intronik kodlanmayan RNA bölgesinde lokalize olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). TC-PTK grubunda ise farklı tümör ve kontrol doku örneklerinde *HERC2P4* intronlarında L1HS insersiyonlarıyla karşılaşmıştır.

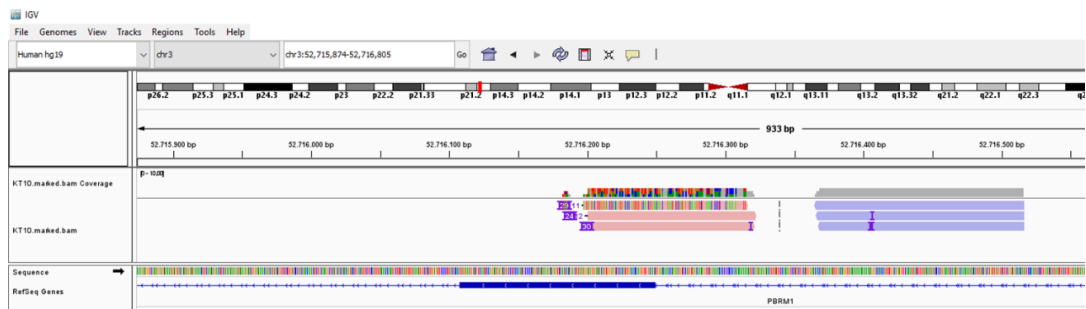
Şekil 4.3. L1HS insersiyonlarının en sık görüldüğü 20 gen ve genlerde bulunan *cis*-regülatör elementler. KC; klasik PTK kontrol dokusunu, KT; klasik PTK tümör dokusunu, TC; TC-PTK kontrol dokusunu, TT; TC-PTK tümör dokusunu ifade etmektedir

(Boni ve Sorio, 2021). *IL1RAPL2* intronlarında tespit edilen L1HS insersiyonları ise her iki PTK grubunun kontrol ve tümör dokusu örneklerinde saptanmıştır. Güncel bir çalışmada *IL1RAPL2* mRNA ekspresyonunun özofagus skuamöz hücreli karsinomda tümör evresiyle pozitif korelasyon gösterdiği raporlanmıştır (X. Gao vd., 2021). C3: regülatör hedef gen setlerine bakıldığında *PTPRG* ve *IL1RAPL2* genlerinde; bilinen bir transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesiyle eşleşmeyen “AACTTT” motifinin bulunduğu görülmüştür. 6 örnekte, her biri farklı kromozomal lokasyonda bulunan *GPR149*, *ARAP2*, *LINC02572* ve *TPST1* genlerinin 3’Flank; *SMG1P7* ve *C12ORF74* genlerinin ise 5’ Flank bölgesinde yer alan snoU13 dizilerine L1HS insersiyonu gerçekleştiği saptanmıştır. İnsersiyonlar TC-PTK grubunda tümör ve kontrol doku örneklerinde gözlemlenirken, K-PTK grubunda ise yalnızca K13 kodlu hastanın kontrol doku örneği (KC13)’te tespit edilmiştir. Bununla birlikte TT14’te snoU13 5’Flank’indeki L1HS tespitinin, okumaların IGV yazılımında incelenmesiyle referans genomu yanlış hizalanmadan kaynaklanan, bir hata olduğu belirlenmiştir. Böylece L1HS içeren toplam 6 snoU13 bölgesi, L1HS insersiyonlarının en sık görüldüğü 20 gen listesinde en alt sıraya düşürülmüştür (Şekil 4.3).

4.1. Kanseri-ilişkili genlerde tespit edilen özgün L1HS insersiyonları

4.1.1. K-PTK grubunun tümör örneklerinde tespit edilen insersiyonlar

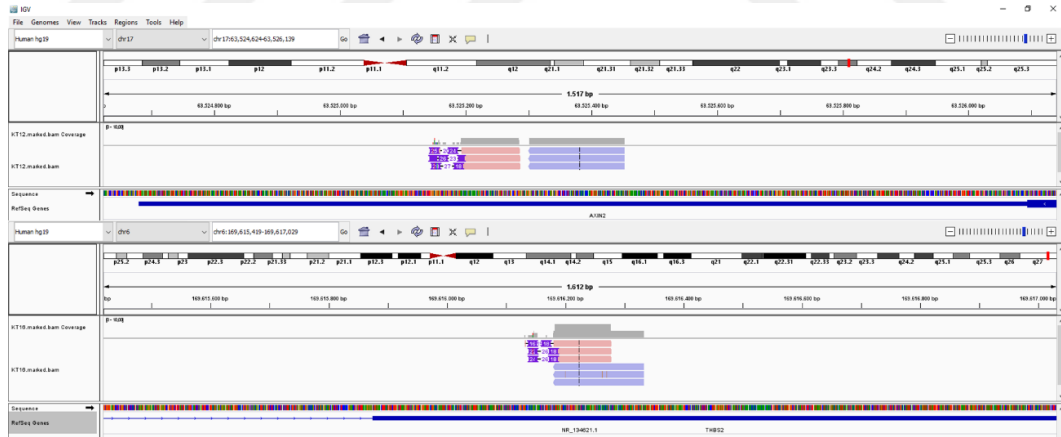
Klasik PTK örneklerinden KT10’da *PBRM1* (Polybromo 1; Polibromo 1) ekzonunda L1HS insersiyonu saptanmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *PBRM1* ekzonunda saptanan L1HS insersiyonunun IGV’deki görüntüsü

Klasik PTK tümör örneklerinden KT12 ve KT16’da sırasıyla PTK ilişkili genler olan *AXIN2* ve *THBS2* (Thrombospondin 2; Trombospondin 2) 3’UTR’lerinde L1HS insersiyonları tespit edilmiştir (Şekil 4.5). KT12’de ayrıca *RASGRF2* (Ras Protein Specific Guanine Nucleotide Releasing Factor 2; Ras Proteinini Spesifik Guanin

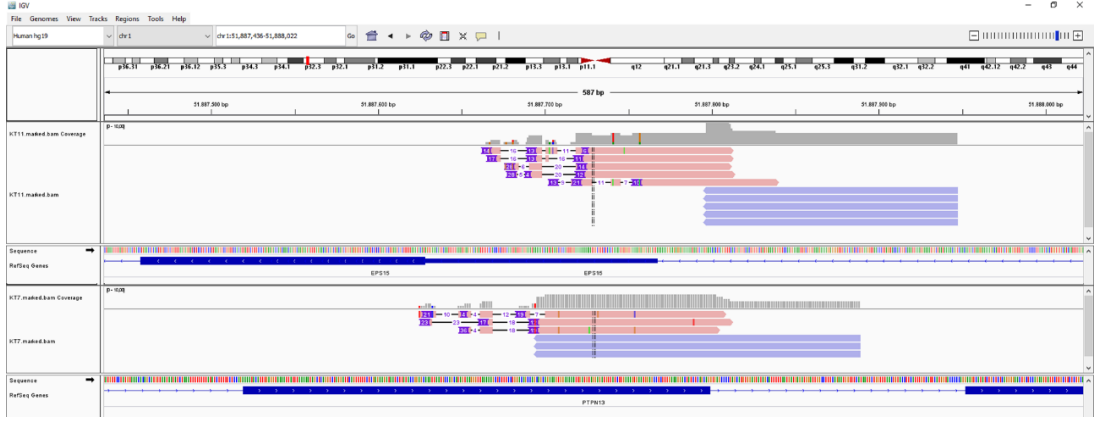
Nükleotit Salıcı Faktör 2) 5'Flank (5'Komşu) bölgesinde L1HS insersiyonu saptanmıştır. Bunun dışında KT16'da *PTPRT* (Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type T; Protein Tirozin Fosfataz Reseptör Tip T), *TGFBR2* (Transforming Growth Factor Beta Receptor 2; Transforme edici Büyüme Faktörü Beta Reseptörü 2), *RASA1* (RAS P21 Protein Activator 1; RAS P21 Protein Aktivatörü 1), *DIRC3* (Disrupted In Renal Carcinoma 3; Renal Karsinomda Bozulmuş 3), *LPP* (LIM Domain Containing Preferred Translocation Partner In Lipoma; Lipomda Tercih Edilen Translokasyon Partnerini İçeren LIM Bölgesi), *PDE4D* (Phosphodiesterase 4D; Fosfodiesteraz 4D) ve *SOS1* (SOS Ras/Rac Guanine Nucleotide Exchange Factor 1; SOS Ras/Rac Guanin Nükleotit Değişim Faktörü 1) genlerinde intronik insersiyonlar gözlemlenmiştir. *DIRC3*'e intronik insersiyonlar, KT3 ve KT14 örneklerinde de saptanmıştır. Buna ek olarak KT3'te *SFRP2* (Secreted Frizzled Related Protein 2; Salgılanan Frizzled İlişkili Protein 2) ve *FGFR2* (Fibroblast Growth Factor Receptor 2; Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 2) genlerinde; KT14'te ise *NRG1* (Neuregulin 1; Nöregulin 1), *NCOR1* (Nuclear Receptor Corepressor 1; Nükleer Reseptör Korepresörü 1) ve *PTPN13* (Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor type 13; Protein Tirozin Fosfataz reseptör Olmayan tip 13) intronlarında L1HS insersiyonu tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. *AXIN2* ve *THBS2* genlerinin 3'UTR bölgesinde saptanan L1HS insersiyonlarının IGV'deki görüntüsü

KT13 örneğinde *TLE4* (TLE Family Member 4, Transcriptional Corepressor; TLE Aile Üyesi 4, Transkripsiyonel Korepresör), *MAML3* (Mastermind Like transcriptional coactivator 3; Mastermind Benzeri transkripsiyonel koaktivatör 3), *MGMT* (O-6-Methylguanine-DNA Methyltransferase; O-6-Metilguanin-DNA Metiltransferaz) ve *TENM1* (Teneurin Transmembrane Protein 1; Tenörin

Transmembran Protein 1) intronlarında ve *FAT3* (FAT Atypical Cadherin 3; FAT Atipik Kaderin 3) 5'-Flank bölgesinde özgün L1HS insersiyonları bulunmuştur. Bunun dışında KT1'de *CBLB* (Cbl proto-oncogene B; Cbl proto-onkogen B), KT2'de *SYTL5* (Synaptotagmin Like 5; Sinaptotagmin Benzeri 5), KT5'te *ALK* (ALK Receptor Tyrosine Kinase; ALK Reseptör Tirozin Kinaz), *FAT3* ve *RPTOR* (Regulatory Associated Protein Of MTOR Complex 1; MTOR Kompleks 1 İlişkili Düzenleyici Protein), KT10'da *NRG1*, *RASAL2* (RAS Protein Activator Like 2; RAS Protein Aktivatörü Benzeri 2) ve *MED12* (Mediator Complex Subunit 12; Medyatör Kompleksi Alt Birimi 12), KT15'te *LPP* (LIM Domain Containing Preferred Translocation Partner In Lipoma; Lipomda Tercih Edilen Translokasyon Partnerini İçeren LIM Bölgesi) ve *PDE4D* (Phosphodiesterase 4D; Fosfodiesteraz 4D) intronlarında; KT11'de ise *EPS15* (Epidermal Growth Factor Receptor Pathway Substrate 15; Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör Yolağı Substratı 15) ekzonunda (Şekil 4.6); *CERS6* (Ceramide Synthase 6; Seramid Sentaz 6) ve *RBPJ* (Recombination Signal Binding Protein For Immunoglobulin Kappa J Region; İmmünoglobulin Kappa J Bölgesi İçin Rekombinasyon Sinyali Bağlayıcı Protein) intronlarında L1HS insersiyonu saptanmıştır. Ayrıca KT11'de *ROBO2* (Roundabout Guidance Receptor 2; Roundabout yönlendirme reseptörü 2) intronunda tespit edilen aynı noktadaki insersiyon kontrol doku örneğinde de tespit edilmiştir. KT6 örneğinde ise *IKZF1* (IKAROS Family Zinc Finger 1; IKAROS Ailesi Çinko Parmak 1), *PTPRT* intronlarında ve *FZD7* (Frizzled Class Receptor 7; Frizzled Sınıfı Reseptörü 7) geninin 5'-Flank bölgesinde insersiyon gözlemlenmiştir. KT4 örneğinde *ROBO2* intronunda, KT7 örneğinde *PTPN13* (Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 13; Protein Tirozin Fosfataz reseptör Olmayan tip 13) ekzonunda L1HS retrotranspozisyonu saptanmıştır (Şekil 4.6).

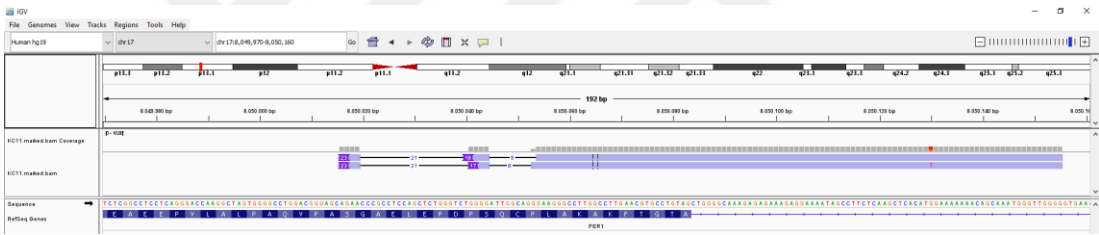


Şekil 4.6. *EPS15* ve *PTPN13* ekzonlarında saptanan özgün L1HS retrotranspozon insersiyonlarının IGV'deki görüntüsü

4.1.2. K-PTK grubunun kontrol doku örneklerinde saptanan insersiyonlar

KC3 örneğinde *TRIMM33* (Tripartite Motif Containing 33; Üç bölümlü Motif içeren 33) 3'UTR'sine; KC11 örneğinde *PER1* (Period Circadian Regulator 1; Period Sirkadiyen Düzenleyici 1) ekzonuna (Şekil 4.7), *ARID5B* (AT-Rich Interaction Domain 5B; AT-Rich İnteraksiyon Bölgesi 5B) 3'UTR'sine ve örneğin tümör dokusunda da tespit edilen *ROBO2*'ye intronik insersiyon; KC6 örneğinde *RASGRP1* (RAS Guanyl Releasing Protein 1; RAS Guanil Serbest Bırakan Protein 1) 3'UTR'sine L1HS retrotranspozisyonu tespit edilmiştir. KC12'de *CHD1* (Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 1; Kromodomain Helikaz DNA Bağlayıcı Protein 1) ekzonunda ve *FRS2* (Fibroblast Growth Factor Receptor Substrate 2; Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptör Substratı 2) geni intronunda insersiyonlar görülmüştür. *ERBB4* (Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 4; Erb-B2 Reseptörü Tirozin Kinaz 4) geninin intronunda ise KC1, KC4, KC10, KC12 ve KC7 örneklerinde L1HS insersiyonları saptanmıştır. KC7'de ayrıca *CDK6* (Cyclin Dependent Kinase 6; Siklin Bağımlı Kinaz 6), *EBF1* (EBF Transcription Factor 1; EBF Transkripsiyon Faktörü 1) intronlarında ve *FGFR3* (Fibroblast Growth Factor Receptor 3; Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 3) 3'UTR'sinde; KC10'da ek olarak *ROBO2*, *RAPGEF2* (Rap Guanine Nucleotide Exchange Factor 2; Rap Guanine Nükleotit Değişim Faktörü 2), *PIK3CA* (Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha; Fosfatidilinositol-4,5-Bisfosfat 3-Kinaz Katalitik Alt Birim Alfa) ve *PTPRT* intronlarında ve *IGF1R* (Insulin Like Growth Factor 1 Receptor; İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 Reseptörü) 3'UTR'sinde ve KC16'da *TSC1* (TSC Complex Subunit 1; TSC Kompleksi Alt Birimi 1) 3'UTR'sinde ve *TLE1* intronunda

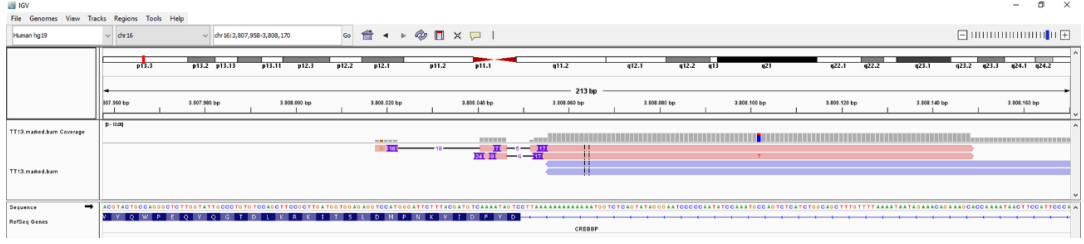
Transkripsiyon Faktörü 7 Benzeri 2) ve *NTRK3* (Neurotrophic Receptor Kinase 3; Nörotrofik Reseptör Tirozin Kinaz 3) intronlarına L1HS retranpozitasyonu tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. *PER1* ekzonunda tespit edilen L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü

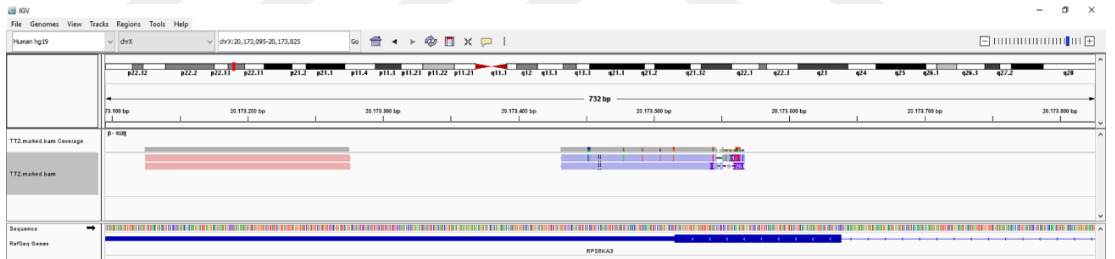
4.1.3. TC-PTK grubunun tümör örneklerinde tespit edilen insersiyonlar

TT13 ve TT2 örneklerinde sırasıyla *CREBBP* (CREB Binding Protein; CREB Bağlayıcı Protein) ve *KMT2C* (Lysine Methyltransferase 2C; Lizin Metiltransferaz 2C) genlerinde, ontoloji veritabanı Ontobee (Ong vd., 2017)'de tanımlanan kesim bölgesi (splice site) tanımına uygun, L1HS insersiyonları saptanmıştır (Şekil 4.8 ve Şekil 4.11). Bununla birlikte TT13 örneğinde *TEAD2* (TEA Domain Transcription Factor 2; TEA Bölgesi Transkripsiyon Faktörü 2) 3'UTR'sinde, TT2 örneğinde ise *RPS6KA3* (Ribosomal Protein S6 Kinase A3; Ribozomal Protein S6 Kinaz A3) ekzonunda (Şekil 4.9), *ROBO2* intronunda ve *RICTOR* (RPTOR Independent Companion of MTOR complex 2; MTOR kompleks 2'nin RPTOR Bağımsız Eşlikçisi) 5'Flank'inde özgün L1HS insersiyonları tespit edilmiştir.



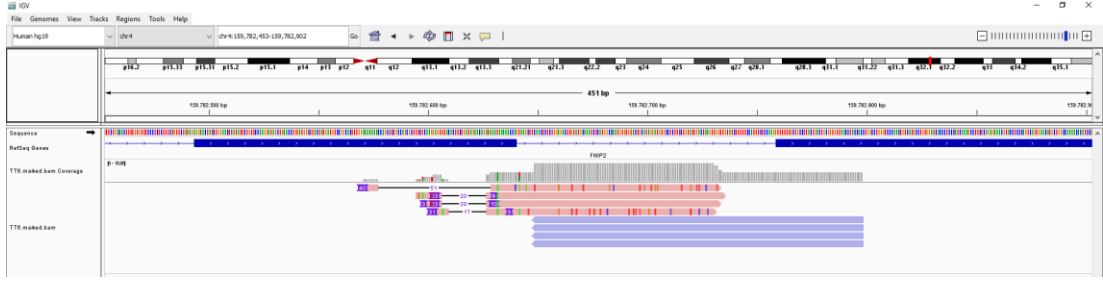
Şekil 4.8. TT13 örneğinde *CREBBP*'nin 17. ekzonuyla 16. intronu sınırında tespit edilen L1HS retrotranspozisyonunun IGV'deki görüntüsü

Klasik PTK örneklerine benzer şekilde TT17 örneğinde *CERS6*, TT8 ve TT4'te *PDE4D*, ayrıca yine TT4'te *PTPRT* intronunda; TT14 örneğinde ise *LPP* (LIM Domain Containing Preferred Translocation Partner In Lipoma; Lipomda Tercih Edilen Translokasyon Partnerini İçeren LIM Bölgesi) ile *EP300* (E1A Binding Protein P300;) intronlarında ve *WNT7B* (Wnt Family Member 7B; Wnt Ailesi Üyesi 7B) 5'Flank'inde L1HS insersiyonları bulunmuştur. Bununla birlikte *FAT3* intronuna retrotranspozisyon, TT11 örneğinde de görülmüş; aynı örnekte *MAML2* ve *SKP1* (S-Phase Kinase Associated Protein 1; S-faz Kinaz ilişkili Protein 1) intronlarında da insersiyon tespit edilmiştir.



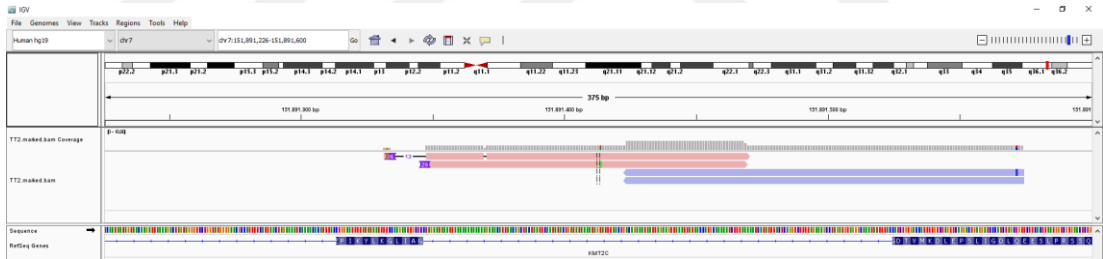
Şekil 4.9. TT2 örneğinde *RPS6KA3* 22. ekzonunda saptanan L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü

TT16'da *DKK2* (Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 2; Dickkopf WNT Sinyal Yolağı İnhibitörü 2), TT6'da ise *DKK3* ve *GSK3B* (Glycogen Synthase Kinase 3 Beta; Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta) intronlarında ve *FNIP2* (Folliculin Interacting Protein 2; Folikülin ile Etkileşen Protein 2) ekzonunda (Şekil 4.10); TT3'te *TG* (Thyroglobulin; Tiroglobulin) ve *WNT5A* intronlarında ve *TGFBR2* 3'Flank'inde L1HS insersiyonu tespit edilmiştir.



Şekil 4.10. *FNIP2* ekzonuna retrotranspoze olmuş L1HS'nin IGV'deki görüntüsü

TT8 örneğinde ise *MTOR* (Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase; Rapamisinin Mekanistik Hedef Kinazı), TT10'da *PTEN* (Phosphatase and Tensin Homolog; Fosfataz ve Tensin Homoloğu), *IKZF1* ve *APH1B* (Aph-1 Homolog B, Gamma-Secretase Subunit; Aph-1 Homolog B, Gamma-Sekretaz Alt Birimi) intronlarına retrotranspozisyonlar gözlemlenmiştir. TT17 tümör örneğinde *MAP2K4* (Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 4; Mitojen ile Aktifleşen Protein Kinaz Kinaz 4), *TGFBR2*; TT9'da *RASA2*, TT5'te *RASGRP3* ve TT1'de *NUMBL* (NUMB Like Endocytic Adaptor Protein; NUMB Benzeri endositik adaptör protein) ve TT7'de *CSMD3* intronunda özgün L1HS insersiyonları saptanmıştır (Şekil 4.14B).

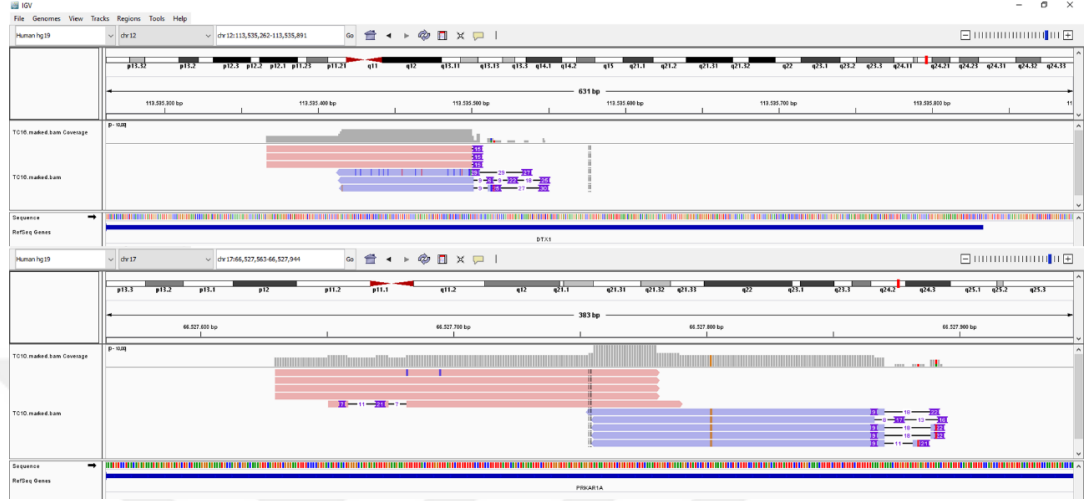


Şekil 4.11. *KMT2C* intron-ekzon sınırında saptanan özgün L1HS insersiyonunun IGV'deki görüntüsü

4.1.4. TC-PTK grubunun kontrol doku örneklerinde tespit edilen insersiyonlar

TC16 örneğinde *DTX1* (Deltex E3 ubiquitin ligase 1; Deltex E3 ubikuitin ligaz 1) geni ve TC10'da *PRKAR1A* (Protein Kinase CAMP-dependent type I Regulatory subunit Alpha; Protein Kinaz CAMP-bağımlı tip I Düzenleyici alt birim Alfa) 3'UTR'ye retrotranspozisyon tespit edilmiştir (Şekil 4.12). Bunun dışında TC10 örneğinde *PDGFRA* (Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha; Trombosit Türevli Büyüme Faktörü Reseptörü Alfa), *ALK*, *IGF1R* ve *LRRK2* (Leucine Rich Repeat Kinase 2; Lösin Zengin Tekrarlı Kinaz 2) ve *MOB1B* intronlarında L1HS insersiyonu saptanmıştır. TC13'te *TAOK3* (TAO Kinase 3; TAO Kinaz 3), *GSK3B* ve

IGF1R intronlarında L1HS insersiyonu saptanmıştır. Ayrıca, TC9’da *TCF7L2*, TC17 örneğinde *LRP6* (LDL Receptor Related Protein 6; LDL Reseptörü İlişkili Protein 6), *NRG1* ve *RICTOR*, TC4’te *WNT8B*, TC5’te *E2F3*, *GSK3B* ve *FRS2* genlerinin intronlarında insersiyonlar gözlemlenmiştir.



Şekil 4.12. *DTX1* ve *PRKAR1A* 3’UTR bölgelerinde saptanan özgün L1HS insersiyonlarının IGV’deki görüntüsü

TC8 örneğinde *YAP1* (Yes1 Associated Transcriptional Regulator; Yes1 ilişkili Transkripsiyon Düzenleyici), *SHC4* (SHC Adaptor Protein 4) ve *TGFBR2*’de, TC2’de *EP300*, *ACVR2A* (Activin A Receptor Type 2A; Aktivin A Reseptörü Tip 2A), *FBXW7* (F-Box and WD Repeat Domain Containing 7; F-Box ve WD Tekrar Bölgesi içeren 7), *NRG1* intronlarında ve *WNT7B* 5’Flank’inde; TC6’da *FAT3* ve *RICTOR* intronlarında ve TC11’de *NRG1* ve *STK3* (Serine/Threonine Kinase 3; Serin/Treonin Kinaz 3) intronlarında ve *WNT8B* 5’Flank’inde L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. TC6 örneğinin *CTBP2* (C-Terminal Binding Protein 2; C-Terminal Bağlayıcı Protein 2) geninde ise 2 farklı intron bölgesinde insersiyon saptanmıştır. TC7 örneğinde *ZNRF3* (Zinc and Ring Finger 3; Çinko ve Ring Parmak 3) intronunda ve *ERBB2* 5’Flank’inde retrotranspozisyon saptanmıştır (Şekil 4.14B).

4.2. Klasik ve tall cell alt tip PTK örneklerinde kanser-ilişkili genlerde tespit edilen özgün L1HS insersiyonlarının hasta kliniği ve histopatolojik bulgular ile ilişkisinin değerlendirilmesi

Bu çalışmada, epitelial kanserlerde aktif olduğu bilinen ve somatik retrotranspozisyonu gözlemlenen L1’lerin (Ariumi, 2016; Helman vd., 2014; Miki vd., 1992; Rodriguez-Martin vd., 2020; Scott vd., 2016) klasik ve tall cell alt tip papiller

tiroid karsinomu örneklerinde de aktif oldukları gözlemlenmiştir. İlginç olarak özgün L1HS insersiyonları, her iki PTK grubunun kontrol doku örneklerinde tümör doku örneklerinden daha fazla sayıda tespit edilmiştir. Gerçekten de güncel çalışmalarda, histolojik incelemelerde normal olarak sınıflandırılan tümör çevre dokularında mutasyon birikimlerinin meydana gelebildiği (Acha-Sagredo vd., 2022) ve bu dokulardaki mutasyon imzalarının tümör hücre popülasyonunda maskelenebildiği ya da ortadan kalkabildiği bildirilmektedir (Wijewardhane vd., 2021).

Genomdaki mutasyon birikimleri, neoplastik dönüşüm için gerekli avantajı sağlayan driver (sürücü; başlatıcı) mutasyonlar neticesinde ortaya çıkabildiği gibi daha az hasar verici, nötrale yakın ya da nötral olan passenger (yolcu) mutasyonlar sonucunda da ortaya çıkabilmektedir. Passenger mutasyonlar hasar vericiliği görece düşük mutasyonlar olarak negatif seleksiyon baskısından kaçabilmekte ve böylece gelişen tümör hücre popülasyonunda kalabilmektedir (West vd., 2021). Bu veriyi doğrulayıcı bulgular, bu çalışmanın klasik ve TC-PTK örneklerinde yaygın şekilde görülmektedir (Şekil 4.13B ve Şekil 4.14B). Örneklerde, tümöröenez ve tiroid kanseri ile ilişkilendirilmiş genlerin intron, 3'UTR, ekzon, 5'Flank, 3'Flank ve intron-ekzon sınır bölgelerinde L1HS insersiyonları tespit edilmiştir.

4.2.1. K-PTK vakalarında L1HS insersiyonlarının mutajenik etkinliklerinin değerlendirilmesi

Klasik PTK grubundan K11 örneğinin normal dokusunda *PER1* geninde 1 adet ekzonik L1HS insersiyonu tespit edilmiş, ancak aynı örneğin tümör dokusunda aynı insersiyon görülmemiştir (Şekil 4.13B). Bir çalışmada farklı tip kanserlerde *ROBO2*'de yanlış uç birleştirme (mis-splicing)'e yol açan intronik varyantlar görüldüğü bildirilmiştir (Jung vd., 2021). K11 örneğinde, *ROBO2* intronuna L1HS insersiyonu olası dokuya özgü bir insersiyon olarak hem kontrol hem de tümör dokusunda aynı lokalizasyonda görülmektedir. SWI/SNF (Switch/sucrose-non-fermentable; Switch/Sükroz Fermente-Edilemez) kromatin yeniden modelleme kompleksinde rol oynayan *ARID5B* tümör supresör geninde mutasyonlar sıklıkla anaplastik ve kötü diferansiye tiroid kanserlerinde bildirilmiştir (Landa vd., 2019). K11 örneğinin kontrol dokusunda; *ARID5B* 3'UTR'sinde L1 insersiyonu ile birlikte bir tümör supresör gen olan ve tiroid kanserinde ekspresyonu azaldığı bildirilen *PER1* geninde (C. Zhu vd., 2021) insersiyon saptanmıştır. *ARID5B* 3'UTR ve *PER1* ekzonik

insersiyonları hasar vericiliği yüksek mutasyonlar olarak tümör dokusunda görülmemesi seleksiyon baskısı altında popülasyondan elenmesinde ya da allel frekanslarının tespit edilemeyecek kadar azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte kontrol dokudaki genomik instabiliteye işaret eden bu varyantların görülmesi, hasta yaşının (66) görece yüksek olması (Şekil 4.13A), bununla birlikte hastanın fokal nodüler hiperplazi (FNH) ve kronik lenfositik tiroidit (KLT) gibi ek patolojik bulgulara sahip olmasıyla, literatür verileri ışığında ilişkilendirilmiştir (Fiala ve Diamandis, 2020; Fusco vd., 2002; Hunt vd., 2002). K11 tümör dokusunda görülen *EPS15* ekzonuna retrotranspozisyon, *EGFR* baskılayıcı rolü daha önceden meme kanserinde bildirilmiş ve iyi prognozla ilişkilendirilmiş olan *EPS15*'in (Dai vd., 2015) fonksiyonunu etkilemesi muhtemel gözükmemektedir. Yine, K11 tümör dokusunda *CERS6* intronunda L1HS insersiyonu saptanmıştır. Literatürde bir çalışmada, tiroid stimule edici hormon (TSH) seviyesiyle *CERS6* intronik varyantı arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Çalışmada, TSH ifadenmesinin azalmasının dediferansiyasyonu tetikleyerek kanser hücrelerini malign transformasyona uğratabileceği tartışılmıştır (W. Zhou vd., 2020).

K10 kodlu hastanın tümör dokusunda bir diğer SWI/SNF kromatin yeniden modelleme kompleksinde rol oynayan tümör supresör *PBRM1* geninin ekzonunda L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. *PBRM1* ekspresyonunda azalma papiller ve anaplastik tiroid karsinomlarında bildirilmiştir (Oishi vd., 2017; Volante vd., 2021). Ayrıca TCGA veri tabanı kullanılarak yapılan başka bir çalışmada da *PBRM1* ekspresyonunun tiroid kanserlerinde anlamlı derecede düşük olduğu raporlanmıştır (J. Liu vd., 2022). Tümörögenезle ilişkilendirilmiş bir diğer intronik varyant görülen *MED12* geninde, L1HS insersiyonu KT10'da tespit edilmiştir (Jung vd., 2021). Yine aynı doku genomunda diferansiye tiroid karsinomu riski ile ilişkilendirilmiş intronik *NRG1* varyantına benzer şekilde, *NRG1* intronuna retrotranspozisyon gözlemlenmiştir (Saenko ve Rogounovitch, 2018). Tiroid dışında meme ve akciğer kanseri riskiyle de ilişkilendirilmiş *NRG1* intronik varyantı, prostat kanserinde ise erkeklerde androjen deprivasyon tedavisi etkinliğinin düşüklüğüyle ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (S. P. Huang vd., 2021). K10 fenotip verisine bakıldığında, ek patolojik bulgusu bulunmayan hastada multifokal olarak yaygın kapsül invazyonu görülmüş; bununla birlikte 2 adet metastatik lenf nodu (MLN) ve 1 adet reaktif lenf nodu (RLN) raporlanmıştır. Ayrıca hastanın K10'un kontrol dokusunda, yapılan çalışmalarda

meme ve serviks kanserleriyle ilişkilendirilmiş *ERBB4* intronik risk varyantları (H. C. Kim vd., 2012; D. Ma vd., 2013) ve farklı tip kanserlerde tümörögenез ile ilişkilendirilmiş, yanlış uç birleştirmeye neden olan intronik varyantları bulunan *ROBO2*'nin (Jung vd., 2021) intronuna lokalize L1HS gözlemlenmesinin yanında hücre proliferasyonunun regülasyonunda rol oynayan imprinted (damgalanmış) miRNA (mikroRNA)'lar ile interaksiyonu bulunan *IGF1R*'in 3'UTR'sinde (L. Gao vd., 2020; Mainieri ve Haig, 2018) insersiyon tespit edilmesi, KC10'un pre-neoplastik karakteristiğe sahip olabileceğini düşündürmektedir.

K7 hastasının tümör dokusunda, tiroid kanserinde ekspresyonunun azaldığı gösterilmiş *PTPN13* geninde (Yan vd., 2021) ekzonik L1HS insersiyonu saptanmıştır. Farklı tipteki epitelyal kanserlerde fonksiyon kaybı mutasyonları gözlemlenen ve hücre migrasyonu ile ilişkilendirilmiş *PTPN13*'te (McHeik vd., 2020), ekzonik L1HS insersiyonu, hasta MLN ve RLN patolojik bulgularına katkı sağlaması olası gözükmemektedir. K7 örneğinin kontrol dokusunda, bir proto-onkogen olan *FGFR3* 3'UTR'sinde ve hücre siklusunda rol oynayan *CDK6* intronunda insersiyonlar tespit edilmiştir. Bunun dışında, *ERBB4* ve yanlış uç birleştirmelerine neden olan intronik varyantları tümörögenезle ilişkilendirilmiş olan *EBF1* geninde (Jung vd., 2021) tespit edilen intronik L1HS insersiyonlarının da KC7'de prekanseröz mutasyon birikimine (Martincorena ve Campbell, 2015) katkı sağlayabileceği akla gelmektedir.

Bu çalışmada tümör boyutu ≤ 1 cm olarak belirlenmiş K12 örneği tümör dokusu genomunda *AXIN2* 3'UTR'sinde L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada, tümör baskılayıcı gen olan *AXIN2*'nin 3'UTR'indeki bir varyant PTK ile ilişkilendirilmiştir (Valero vd., 2021). Tiroid kanserinde *CHD1* metilasyonunun sıklıkla görüldüğü ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunduğu raporlanmıştır (J. Zhou vd., 2018). K12 hasta örneğinin kontrol dokusu genomunda *CHD1* ekzonunda tespit edilen L1HS insersiyonu, hem bulunduğu doku hem de hasta fenotipi göz önünde bulundurulduğunda (Şekil 14.4A) *CHD1*'in metastaz ilişkisi dışında farklı rolleri olabileceğini işaret etmektedir. Öyle ki *CHD1*'in bir kromatin yeniden modelleyici olarak erken DNA hasar tamirinde kritik rol oynadığı yapılan güncel çalışmalarda bildirilmiştir (C. Zhu vd., 2021). Bu da ≤ 1 cm tümör boyutu fenotipine sahip KC12 örneğinde tespit edilen *CHD1* ekzonundaki L1HS'nin negatif seleksiyon baskısından kaçabilen pre-kanseröz, farklı intronik varyantlar taşıyan alt popülasyonların oluşmasına katkı sağlamış olabileceğini

düşündürmektedir. KC10 örneğinde *ERBB4* intronunda tespit edilen L1HS insersiyonu, KC12’de de bulunmuştur. Bununla birlikte genom bütünlüğünün korunmasında rol oynayan *INPP4B* geni intronunda bulunan varyantlar yapılan bir çalışmada meme kanserinde kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (Chen vd., 2020). KC12 örneğinde ise *INPP4B* ve *FRS2* intronlarına retrotranspoze olmuş L1HS dizileri saptanmıştır. Literatürde intronik *FRS2* varyantı düşük TSH dolayısıyla yüksek dediferansiyasyon potansiyeliyle ilişkilendirilmiştir (W. Zhou vd., 2020). Bir diğer *INPP4B*’de L1HS insersiyonu bulunan örnek ise KC5 olmuştur. K5 hasta örneği histopatolojik alt tip olarak K12 hasta örneğiyle aynı sınıfta olup, K5’te adenomatöz nodül izlenmesi ve K12’de ise FNH ek bulguları görülmesi gibi örneklerde farklılıklar görülmektedir. K5’te özellikle metastatik lenf nodu gözlemlenmesi gibi örnekler arasında önemli patofizyolojik farklılıklar mevcuttur (Şekil 4.13A). Hippo sinyal yolağında tümör baskılayıcı olarak rol oynayan *FAT3*’te tespit edilen mutasyonlar, özofagus kanserinde tümör mutasyon yükü ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (Guo vd., 2021). Bu veriden yola çıkarak, papiller tiroid mikrokarsinom histolojik tipinde ve adenomatöz nodül, MLN, RLN bulguları olan hasta K5’in tümör dokusunda saptanan *FAT3* intronik L1HS insersiyonunun prognoza yansıdığını düşünmekteyiz. Burada L1HS’lerin adenin bakımından zengin dizilere sahip oluşu neticesinde ekzon kayıplarına yol açan uç birleştirme verimliliğini çoğu zaman arttırdığı, bu nedenle de intronik SNP (single nükleotid polymorphism; tek nükleotid polimorfizmi)’lere göre daha hasar verici sonuçlar doğurabileceği unutulmamalıdır (Belancio vd., 2006). Bir proto-onkogen olan *ALK* translokasyonlarının, *ALK* aşırı ifadenmesine yol açarak PTK ve kötü diferansiye tiroid karsinomlarında prognozu kötüleştirdiği literatürde raporlanmıştır (Panebianco vd., 2019). KT5’te ise *ALK* intronunda tespit edilen L1HS retrotranspozisyonunun *ALK*’yi inaktive edici potansiyeli neticesinde PTK’ye göre çok daha iyi prognozu olan ≤ 1 cm tümör boyutu fenotipini (Kaliszewski vd., 2019) desteklediğini düşünmekteyiz.

K14 örneğinin kontrol dokusu genomunda tespit edilen *ROBO2* ve *CSMD3* genlerine L1HS retrotranspozisyonları literatürde farklı tip kanserlerde de bildirilmiştir (Paterson vd., 2015). Aynı zamanda missense (yanlış anlamlı) ve intronik yanlış uç birleştirmeye neden olan varyantları tümörögenез ile ilişkilendirilmiş olan bu genlerdeki (Jung vd., 2021; Wedge vd., 2018) intronik L1HS insersiyonları, KC14 örneğinin genomik instabilitesi hakkında bilgi vermektedir. K10’un tümör genomunda

görülen *NRG1* intronuna retrotranspozisyon, K14 tümör genomunda da tespit edilmiştir. Bununla birlikte farklı GWAS (Genome-Wide Association Studies; Genom-Çapında İlişkilendirme Çalışmaları)’nda diferansiye tiroid karsinomu riskiyle ilişkilendirilmiş *DIRC3* intronik SNP’leri bildirilmiştir (Kohler vd., 2013; Saenko ve Rogounovitch, 2018). K14 örneğinin tümör genomunda da *DIRC3* intronuna insersiyon gerçekleştirmiş L1HS saptanmıştır. Ek patolojik bulgusu olmayan ancak RLN, kapsül ve parankim invazyonu tespit edilmiş hasta K14’ün tümör genomunda, literatürde tümör invazyonu ile ilişkilendirilmiş proto-onkogen *PTPN13*’te (McHeik vd., 2020), intronik L1HS insersiyonunun görülmesi hasta patofizyolojisini destekleyici niteliktedir (Şekil 4.13A).

Düşük TSH seviyesiyle ilişkili bulunan *PDE4D*, *LPP* intronik varyantlarına (Jung vd., 2021) benzer şekilde, K16 örneği tümör dokusunda ilgili genlerin intronlarında L1HS insersiyonları bulunmuştur. KT16 örneğinde ayrıca, *TGFBR2* intronunda ve *THBS2* 3’UTR2’sinde L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. Kore popülasyonunda yapılan bir çalışmada, *TGFBR2* intronik varyantı papiller tiroid karsinomlarında lenf nodu metastazı ile ilişkilendirilmiştir (Choe vd., 2012). Başka bir çalışmada da *THBS2* ekspresyonunun PTK tümör dokularında bitişik dokuya göre azaldığı tespit edilmiştir (Delys vd., 2007). KT16 örneğindeki *THBS2* 3’UTR insersiyonunun gen ifadenmesinin azalmasına yol açması mümkün gözükmektedir. KT14’te tespit edilen *DIRC3* intronik L1HS insersiyonu, KT16 örneğinde de görülmüştür. KT16’da görülen bir diğer L1HS insersiyonu ise *RASA1* intronunda görülmüş, *RASA1* inhibisyonunun ise RTK-RAS sinyal yolağının hiperaktivasyonuna yol açtığı farklı tip kanserlerde bildirilmiştir (Bellazzo ve Collavin, 2020). Tüm bu veriler de, hasta fenotipinde belirtilen multifokalite ve bilateralite gibi görece daha kötü prognoz (J. R. Han vd., 2017; Kartal vd., 2017; Prescott ve Parangi, 2012) ile örtüşmektedir.

Kanser-ilişkili gen setleri kullanılarak gerçekleştirilen taramalar sonucunda; unifokal, parankim ve minimal kapsül invazyonu izlenen K1 hastasının normal dokusunda herhangi bir özgün L1HS insersiyonuna rastlanmamıştır. KT1’de tümör oluşumunu tek başına açıklayamayan *CBLB* intronik L1HS insersiyonu bulgusu, passenger bir varyant olarak görülmektedir. Bununla birlikte, metastaz baskılayıcı fonksiyonu bildirilmiş *CBLB* (X. Liu vd., 2020; Xu vd., 2017) intronunda bulduğumuz insersiyonun hastanın MLN bulgusuna katkı sağlayabileceği muhtemel gözükmektedir

(Şekil 4.13A). K2 hastasının bulgularında herhangi bir parankim ya da kapsül invazyonu görülmemekle birlikte hastada diffüz hiperplazi ek bulgusu bulunmaktadır. K1’de olduğu gibi K2’de de normal dokuda L1HS insersiyonu tespit edilmemiştir. PTK’de upregüle olduğu bildirilmiş *SYTL5*’in (Fan vd., 2021) intronuna lokalize olan L1HS’nin, *SYTL5*’in ifadelenmesini azaltarak hastanın iyi prognoza katkı sağladığını düşünmekteyiz.

RLN ve MLN bulgusu bulunmayan ancak multifokalite, bilateralite, parankim ve minimal kapsül invazyonu bildirilmiş K6 kodlu hastanın normal doku örneğinde *RASGRP1* 3’UTR’inde tespit edilen L1HS insersiyonunun tümör supresör *RASGRP1* (Gbenedio vd., 2019) deregülasyonuna neden olarak tümör çevre dokusunda genomik instabiliteye katkı sağlaması olası gözükmemektedir. Bununla birlikte KT6’da, WNT sinyal yolağında proto-onkogen olarak rol oynayan *FZD7*’nin (X. Qiu vd., 2016) 5’Flank bölgesinde L1HS insersiyonu saptanmıştır. Ancak, insersiyonun gerçekleştiği lokasyonla 100 bp’lik pencere içerisinde örtüşen, $FDR \leq 0,25$ ’e yükseltilmiş eşik değerinde dahi, tanımlanmış herhangi bir transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi bulunamamıştır. Farklı kanser tiplerinde, yanlış uç birleştirmeye yol açan intronik varyantları tümörögenезle ilişkilendirilmiş olan *IKZF1* (Jung vd., 2021), KT6’da tespit edilen bir diğer L1HS konakçısı gen olmuştur. Kontrol dokusunda insersiyona rastlanmamış bir diğer hasta K13’tür. K13’te parankim invazyonu, FNH ve kronik lenfositik tiroidit ek bulguları mevcuttur. İlginç olarak bir GWAS çalışmasında Çernobil Kazasında radyasyona maruz kalanlarda *MGMT* intronik varyantı ile PTK riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Lonjou vd., 2017). KT13’te, nöroendokrin tümör hücrelerinde aşırı ifadelenmesi tümörögenезle ilişkilendirilmiş *MAML3* (Alzofon vd., 2021) ve farklı tip kanserlerde tümör baskılayıcı ya da proto-onkogen olarak rol oynayabilen *TLE4* (S. Y. Wang vd., 2016; Wu vd., 2016) genlerinin intronlarında L1HS insersiyonu saptanmıştır. Aynı örnekte L1HS insersiyonu tespit edilen *TENM1* geninin aşırı ifadelenmesi ise literatürde metastatik lenf nodu bulgularıyla ilişkilendirilmiştir (S. P. Cheng vd., 2017). KT13 örneğinde elde edilen insersiyon profiline bakıldığında ek patolojik bulgular ve ayrıca RLN ve parankim invazyonu görülmesiyle birlikte MLN görülmemesi, *TENM1* insersiyonunun diğer varyantların etkilerinin dengelenmesine katkı sağlayabileceği akla yatkın gelmektedir.

K7 örneğinin kontrol dokusunda saptanan ve literatür verisi ışığında tümörögenезle ilişkili olarak yorumladığımız *EBF1* (Jung vd., 2021) intronik L1HS

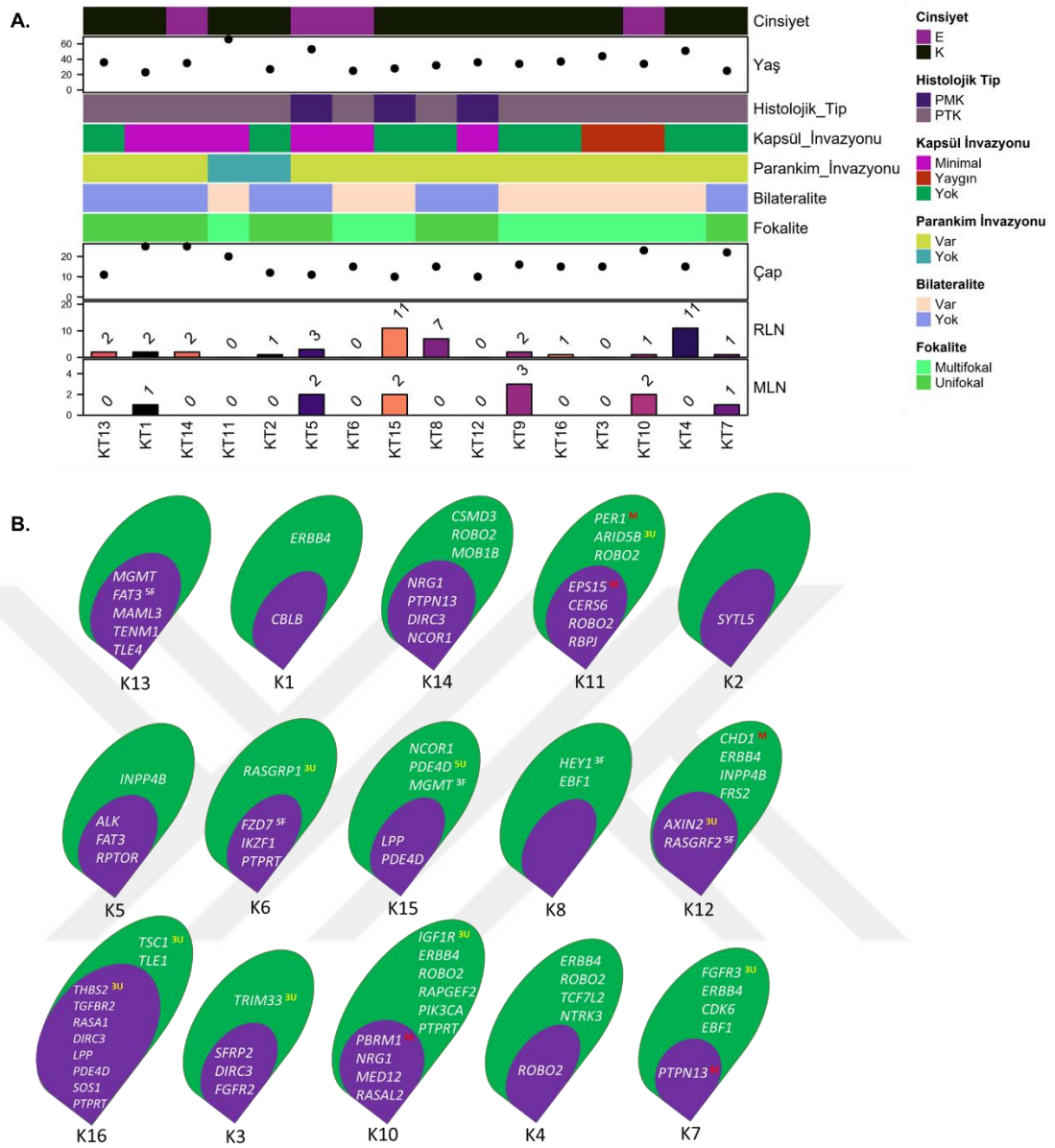
insersiyonu K8 örneğinde de yine kontrol dokusunda saptanmıştır. K7 ve K8 örneği fenotiplerine bakıldığında K7’de kronik lenfositik tiroidit ek bulgusu dışında oldukça benzerdir. K8’de herhangi ek bir patolojik bulgu bildirilmemiştir. Yine K8 kontrol dokusunda, yükseltgenmiş transkripsiyonel aktivitesi tümör anjiyogeneziyle ilişkilendirilmiş *HEY1* geninin (L. Gao vd., 2020) 3’Komşu bölgesine L1HS retrotranspozisyonu gözlemlenmiştir. İlgili bölge MotifMap çevrim içi aracıyla taranmış; ancak FDR eşik değeri 0,25’e kadar çıkarıldığında dahi herhangi bir tanımlanmış transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi bulunamamıştır. Bununla birlikte, anjiyogenez teşvikinde rol oynayan *HEY1* geninin (L. Gao vd., 2020) 3’Komşu bölgesindeki L1HS insersiyonunun Şekil 1.3b’de gösterilen mekanizma ile genin transkripsiyonel aktivasyonuna neden olan alternatif transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi oluşturması muhtemel gözükmemektedir. Öyle ki, iyi prognoz sergileyen hasta fenotipinde gruptaki ortalama RLN bulgusunun üzerinde bir sayıda RLN bulunmasına, *HEY1* baskılanmasının ortadan kalkmasının katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. K8 örneğinin tümör dokusunda ise kanser-ilişkili genlerde L1HS insersiyonuna rastlanmaması, KT8’deki görece benign bulguları destekleyici niteliktedir (Şekil 4.13A). K9’da ise ilgili genlerde hem tümör hem de kontrol dokusunda L1HS insersiyonu bulunamamıştır.

Hasta K4’te, K10’da tespit edilen intronik insersiyonlara rastlanmıştır. *ERBB4* ve *ROBO2* intronlarına L1HS insersiyonları KC10’da olduğu KC4’te de görülmüştür. KT10’dan farklı olarak ise KT4’te yalnızca *ROBO2* intronunda insersiyon tespit edilmiştir. Kronik lenfositik tiroidit ek bulgusu olan K4’te metastatik lenf nodu görülmemesi, KC4 ve KT4’te görece düşük retrotranspozisyon aktivitesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

K3 örneğinin tümör genomunda, K14 ve K16 tümör dokularının genomunda tespit edilen intronik *DIRC3* insersiyonu gözlemlenmiştir. Ayrıca KT3’te *SFR2* intronunda L1HS insersiyonu gözlemlenmiştir. Birçok kanser tipinde *SFR2* ekspresyonunun hipermetilasyon kaynaklı azaldığı bildirilmiştir. Dahası glioma ve hipofiz adenomlarının agresif tiplerinde, *SFR2* ifadenmesinin düşük dereceli alt tiplerinden çok daha dramatik olarak azaldığı bildirilmiştir (van Loon vd., 2021). Bu nedenle KT3’teki *SFR2* intronik insersiyonunun muhtemel hasar verici etkisinden dolayı RLN ve MLN görülmeyen, bununla birlikte multifokalite ve bilateralite ile yaygın kapsül invazyonu gösteren görece agresif bulgulara katkı sağladığını

düşünmekteyiz. K3'ün kontrol dokusunda ise *TRIM33* (Tripartite Motif Containing 33; Üç bölümlü Motif içeren 33) 3'UTR'sinde insersiyon saptanmıştır. *TRIM33* DNA hasar tamirinde rol oynayan bir tümör supresör olarak, birçok kanserde ekspresyon seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (McAvera ve Crawford, 2020). Burada da KC3'te, *TRIM33* 3'UTR'sinde saptanan L1HS insersiyonunun, genomik instabiliteye katkı sağlaması olası görünmektedir.

KT15 ve KT16'da tespit edilen, intronik varyantları düşük TSH seviyesi ve buna bağlı olarak tiroid kanseri riskiyle ilişkilendirilmiş *LPP* ve *PDE4D* (Jung vd., 2021) genlerinin intronunda L1HS insersiyonları gözlemlenmiştir. İlginç olarak K15 kontrol dokusunda *PDE4D*'nin intronunun başka bir lokasyonunda L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Hizalama verisi IGV'de görüntülenen örnekte, *PDE4D*'nin birçok transkripsiyon başlangıç bölgesine sahip olduğu görülmüştür. KC15'te hizalanan, benzersiz komşu diziyi içeren okumaların genin alternatif 5'UTR bölgesi yönünde olduğu, bu nedenle de L1HS retrotranspozisyonunun aslında 5'UTR bölgesine gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bunun dışında KC15'te, *MGMT* 3'Flank'inde ve NOTCH sinyal yolağında yer alan ve heterozigotluk kaybı prostat kanserinde tümör mutasyon birikimiyle ilişkilendirilmiş olan *NCOR1* geninde (Chung vd., 2019) intronunda insersiyonlar tespit edilmiştir. *MGMT*'nin 3'Komşu bölgesinde yer alan L1HS insersiyon lokasyonu ise MotifMap aracında incelenmiş; ancak bu lokasyonda tanımlanmış bir transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi bulunamamıştır. Mevcut veriler ışığında L1HS insersiyonlarının, hastada özellikle pre-kanseröz heterojenite ve genomik instabiliteye katkı sağladığını; böylece ≤ 1 cm tümör boyutu fenotipine sahip örneklerden KT15'te diğer ≤ 1 cm tümör boyutuna sahip hasta örneklerinden farklı olarak multifokalite ve bilateraliteyle birlikte oldukça fazla reaktif lenf nodu (RLN) görülmesine (Şekil 4.13A) yol açtığını düşünmekteyiz.



Şekil 4.13. Klasik PTK örnekleri fenotiplerinin ve örnek dokularında görülen özgün L1HS insersiyonlarının gösterimi. **A.** Hastaların tümör patohistolojisi ve fenotipi ile ilgili bilgileri; E: erkek, K: kadın, PMK: eski sınıflandırma adıyla papiller tiroid mikrokarsinomu anlamındadır, ≤ 1 cm olan tümör boyutuna sahip vakaları temsil etmektedir, PTK: papiller tiroid kansinom, RLN: reaktif lenf nodu sayısı, MLN: metastatik lenf nodu, Çap: mm cinsinden tümör çapını ifade etmektedir, **B.** Hasta tümör (mor alan) ve kontrol doku (yeşil alan) örneklerinde kanser-ilişkili genlerde tespit edilen L1HS insersiyonları, ^M: ekzonik, ^{3U}: 5'UTR, ^{3U}: 3'UTR, ^{3F}: 3'Flank haricindekiler L1HS'lerin intronik insersiyonlarını temsil etmektedir.

4.2.2. TC-PTK vakalarında L1HS insersiyonlarının mutajenik etkinliklerinin değerlendirilmesi

Kanser-ilişkili genler tarandığında tall cell alt tip PTK'nin bazı örneklerinde klasik PTK örneklerinden farklı olarak, intron-ekzon sınırlarında retrotranspozisyonlar gözlemlenmiştir (Şekil 4.14B). Güncel bir çalışmada tiroid kanseri hücre hatlarının

%10'unda *CREBBP* fonksiyon kaybı gözlemlendiği raporlanmış, Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas; TCGA) araştırma ağı veritabanını kullanan başka bir çalışmada ise tiroid kanseri olgularında *CREBBP* ekspresyon seviyesinin normal kohorta göre anlamlı derecede düşük olduğu raporlanmıştır (Landa vd., 2019; Tu vd., 2018).

Bu çalışmada, T13 hastasının tümör dokusunda *CREBBP* intron-ekzon sınırında L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Yanlış uç birleştirmeye ve / veya prematüre transkripsiyon sonlanımına yol açabilecek bu insersiyon bir tümör supresör olan *CREBBP* fonksiyonunu bozabilecek potansiyele sahiptir. Bununla birlikte TT13'te, Hippo sinyal yolağında proto-onkogen olarak rol oynayan olan *TEAD2*'nin (Calses vd., 2019) 3'UTR'sindeki L1HS insersiyonunun, *CREBBP* fonksiyon kaybını dengeleyebileceği, böylece T13'te metastatik lenf nodunun gözlemlenmemesinin nedenlerinden biri olabileceği düşünülmüştür. Hastanın kontrol dokusunda da bir diğer Hippo sinyal yolağı üyesi tümör baskılayıcı gen *TAOK3*'ün intronunda insersiyon tespit edilmiştir. DNA hasarı cevabı, apoptoz ve diğer fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde rol oynayan *TAOK3* (Fang vd., 2020) fonksiyonel aberasyonu, hastanın kontrol dokusunda mutasyon birikimine zemin hazırlayabileceğini düşündürmektedir.

Klasik PTK grubunda da tespit edilen ve bir diğer Hippo sinyal yolağında tümör baskılayıcı gen grubunda bulunan *FAT3* intronik insersiyonu TT11'de de görülmüştür. TT11'de bulunan diğer insersiyonlar ise NOTCH sinyal yolağından *MAML2* ve *SKP1* genlerinde tespit edilmiştir. Akciğer ve skuamöz hücreli karsinomlarda hipermutant kohortlarda yapılan güncel bir çalışmada NOTCH sinyal yolağındaki mutasyonların yüksek tümör mutasyon birikimi ile güçlü ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (H. Zhang vd., 2021). *NRG1* intronik insersiyonları ise klasik PTK grubunda sadece tümör dokusunda tespit edilmişken, TC-PTK'de T11'in normal dokusunda saptanmıştır. *NRG1* intronik varyantları diferansiye tiroid karsinomu riskiyle ilişkili olduğundan (Saenko ve Rogounovitch, 2018), insersiyonun TC11 örneğinde pre-neoplastik süreçte katkı sağlamış olabileceği akla yatkın gelmektedir. Özellikle NOTCH sinyal yolağı tümör supresör genlerinde tespit edilen intronik L1HS insersiyonları, hastada görece yüksek sayıda MLN ve RLN oluşumlarına neden olabilecek potansiyeldedir (Şekil 4.14B).

TT9 örneğinde *RASA2* intronunda L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, RTK-RAS sinyal yolağında rol oynayan *RASA2*'nin düşük ifadenmesinin melanomada hasta sağ kalımını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Arafeh vd., 2015). Ek patolojik bulgusu bulunmayan hastanın fenotipinde invaziv karakter ve görece yüksek metastatik lenf nodu izlenmesine, *RASA2*'deki intronik L1HS insersiyonunun katkı yapabileceği olası gözükmemektedir. Bununla birlikte T9 hastasının normal dokusunda tespit edilen *TCF7L2* intronik insersiyonunun malign geçişe katkı sağlayabileceği öngörülmektedir. Öyle ki kolorektal kanserde yapılan bir çalışmada, WNT sinyal yolağında tümör baskılayıcı olarak rol oynayan *TCF7L2*'nin fonksiyon kaybının maligniteyi arttırabileceği raporlanmıştır (Wenzel vd., 2020). RTK-RAS sinyal yolağı ilişkili bir diğer gen olan ve L1HS insersiyonu barındıran *RASGRP3* ise TT5 örneğinde tespit edilmiştir. *RASGRP3*'ün bir proto-onkogen olarak papiller tiroid karsinomlarında potansiyel bir terapötik hedef olduğu güncel çalışmalarda bildirilmiştir (Qiu vd., 2017; Zaballos vd., 2019). *RASGRP3*'te intronik L1HS insersiyonu olası bir passenger (yolcu) varyant olarak TT5 örneğinde gözlemlenen görece benign bulguları destekleyici niteliktedir (Şekil 4.14A). T5 normal dokusunda ise klasik PTK örneklerinden KC12 intronunda da tespit edilen, *FRS2* intronuna L1HS retrotranspozisyonu saptanmıştır. *FRS2*, TSH seviyesi düşüklüğü ile ilişkili bulunarak, PTK riskini arttırıcı bir faktör olarak literatürde raporlanmıştır (J. Zhou vd., 2018). Bunun dışında hastanın normal dokusunda - fonksiyon kayıpları tiroid kanseriyle ilişkilendirilmiş *E2F3* ve *GSK3B* genlerinde (Duda vd., 2020; Onda vd., 2004; Ziebold vd., 2003) bulunan intronik L1HS insersiyonlarının pre-kanseröz genomik instabilitenin oluşmasında rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

PTK ile ilişkilendirilmiş intronik bir SNP bildirilmiş *PDE4D* geninde (W. Zhou vd., 2020), KT16'ya benzer şekilde TT4'te de intronik L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. T4'ün normal dokusunda ise birçok kanserde upregüle olduğu belirtilmiş *WNT8B* (Ngernsombat vd., 2021) geninde L1HS insersiyonu gözlemlenmiştir. Ek bulgusu kronik non-spesifik tiroidit olan hasta T4'te genomik instabiliteye yol açacak başka hücre içi mekanizmaların rol oynadığını düşünmekteyiz. Retrotranspozisyon potansiyelinin yaş ile pozitif korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Cajuso vd., 2019; Scott vd., 2016). Tall cell alt tip PTK'de ortalama hasta yaşı 49 iken, T4 kodlu hasta 21 yaş ile gruptaki en genç hastadır. Bu nedenle hasta fenotipinin oluşmasında

retrotranspozisyon dışındaki mutajenik mekanizmaların daha baskın rol alması akla yatkın gelmektedir.

T16 kodlu hastada, kanser-ilişkili genlerden *DKK2*'nin intronuna insersiyon tümör dokusunda ve *DTX1* 3'UTR'sine insersiyon ise kontrol dokusunda tespit edilmiştir. Bir çalışmada, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomlarda NOTCH sinyal yolağı ile ilişkili *DTX1* gen ekspresyonunun azalması hücre migrasyonu potansiyeli ile ilişkili olabileceği tahminlenmiştir (Gaykalova vd., 2017). T16 örneğinin normal dokusunda *DTX1* fonksiyonel kaybına yol açabilecek L1HS insersiyonunun, dokuda migrasyonu teşvik edebileceği ve ileri mutasyon birikimlerine neden olarak (Sahu vd., 2021) kanser progresyonunu etkileyebileceğini düşünmekteyiz. WNT sinyal yolağı baskılayıcısı olarak *DKK2* ifadesinin azalmasının, normal-benzeri meme kanseri alt tipinde prognostik potansiyeli olduğu bir çalışmada ifade edilmiştir (Shao vd., 2018). Hastanın *DKK2* intronundaki L1HS insersiyonunun; multifokalite, bilateralite ve kapsül invazyonu bulgularında rolü olabileceğini akla getirmektedir.

Reaktif lenf nodu sayıları diğer hastalara göre oldukça yüksek olan T7 kodlu hasta aynı zamanda tüm PTK grupları içerisinde 10 BBA (Büyük Büyültme Alanı)'nda 1 mitoz görülen tek örnek ve ekstratirodial ekstensiyon gözlemlenen 2 hastadan biridir. K14 hastasının kontrol dokusunun genomunda tespit edilen *CSMD3* intronik insersiyonu, T7 hastasında tümör dokuda tespit edilmiştir. Over kanseri hastalarında yapılan bir çalışmada *CSMD3* mutasyonunun tümör mutasyon yükü ve kötü prognozla yüksek korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Lu vd., 2021). Başka bir çalışmada, Çin popülasyonuna ait 28 eşli PTK doku örnekleri arasında *CSMD3* bir örnekte nonsense (anlamsız) ve bir diğer örnekte intronik varyant raporlanmıştır (Yang vd., 2019). Bir diğer WNT sinyal yolağında tümör baskılayıcı rol oynayan *ZNRF3*'ün fonksiyon kaybının PTK klinik örneklerinde hücre proliferasyonu ve invazyonu ile ilişkili olarak prognostik belirteç olabileceği yorumlanmıştır (W. Qiu vd., 2016). TC7'de ayrıca *ERBB2* 5'Flank'indeki L1HS insersiyonunun bulunduğu bölge MotifMap çevrim içi aracı kullanılarak taranmış ve bölgenin TEAD1 transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi içerdiği saptanmıştır. TEAD1'in hücre proliferasyonunu ve tümör progresyonunu teşvik ettiği ve aşırı ifadelenmesinin mide kanseri ve endometriyumda kötü prognozla ilişkili olduğu bilinmektedir (M.-h. Wang vd., 2022). Burada L1HS'nin, kendi promotörüne bağlanacak transkripsiyonel aktivatörler aracılığıyla *TEAD1* aşırı ifadelenmesinin tümör progresyonuna katkısına benzer

şekilde, *ERBB2*'nin aşırı ifadelenmesine yol açarak pre-neoplastik gelişime (Ieni vd., 2015; Vaught vd., 2012; X. Zhu vd., 2014) katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Bir diğer ekstratiroidal ekstensiyon bulgusu olan hasta ise T14'tür. T7'den farklı olarak T14'te metastatik lenf nodu görülmemekte ve görece düşük sayıda RLN görülmektedir. Bununla birlikte hasta tümör dokusunda cerrahi sınır pozitifliği bildirilmiştir. Hastanın kontrol dokusu TC14'te ise, kanser-ilişkili genlerin hiçbirinde L1HS insersiyonu saptanmamıştır. TT14'te, KT15 ve KT16'da tespit edilen tiroid karsinomu riski ile ilişkilendirilmiş intronik varyant görülen *LPP* geni (W. Zhou vd., 2020) intronunda L1HS insersiyonu gözlemlenmiştir. Bunun dışında tiroid kanseri hücre hatları ve primer tümörler üzerinde yapılan çalışmalarda NOTCH sinyal yolağındaki tümör baskılayıcı genlerden olan *EP300*'de (Y. H. Huang vd., 2021) sıkça fonksiyon kaybına yol açan mutasyonlar görüldüğü bildirilmiştir (Kasaian vd., 2015; Landa vd., 2019). TT14 örneğinde *EP300*'deki intronik L1HS insersiyonu, tümör mutasyon yükünü artırarak hızlı tümör büyümesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Y. H. Huang vd., 2021; G. Zhu vd., 2020). Bununla birlikte bir diğer insersiyon ise *WNT7B* intronunda saptanmıştır. *WNT7B* anjiyogenez, invazyon ve metastaz ile ilişkilendirilmiş bir proto-onkogen olarak tiroid kanseri dahil birçok kanserde aşırı-eksprese olduğu bildirilmiştir (T. Song vd., 2019; Yeo vd., 2014). L1HS insersiyonunun lenf nodu metastazının baskılanmasına katkı sağlayabileceği akla gelmektedir. Cerrahi sınırda pozitifliği ve ekstratiroidal yayılımı bulunan T14 kodlu hastada (Şekil 4.14A) L1HS insersiyonları *EP300* fonksiyonunu etkileyerek tümör büyümesine katkı sağlarken, *WNT7B* ekspresyonunun azalmasına yol açarak lenf nodu metastazını engelleyici bir katkıda bulunabileceğini düşünmekteyiz.

TT4 ve KT6'da tespit edilen *PDE4D* intronuna L1HS retrotranspozisyonu, T8 kodlu hastanın tümör dokusunda da gözlemlenmiştir. T4 ile yaş, kalsifikasyon ve cerrahi sınır pozitifliği haricinde benzer fenotiplere sahip olan T8, tall cell alt tip PTK grubunun en yüksek 2. RLN sayısına (19) sahiptir. Papiller tiroid karsinomlarının tanımlanan tüm tiplerinde aşırı-ifadelenildiği görülen *MTOR* (Ahmed vd., 2014; J. Liu ve Brown, 2011), TT8 örneğinde intronik L1HS insersiyonu taşımaktadır. Cerrahi sınırı pozitif olarak raporlanmış, MLN ve yüksek RLN görülen hastada, olası *MTOR* fonksiyon kaybının TT8 tümör dokusu çapının görece küçük kalmasına katkı sağladığını düşünmekteyiz. Örneğin normal dokusunda ise Hippo sinyal yolağı proto-onkogeni *YAP1* ve RTK-RAS proto-onkogeni *SHC4* (Celano vd., 2018; Maind ve

Raut, 2019) intronlarındaki L1HS insersiyonlarının pre-kanseröz doku büyümesini ve hücrel heterojeniteyi baskılayarak tümör büyümesinin baskılanmasında rol oynaması olası gözükmetedir.

T6 hastasının tümör örneğinde, MTOR sinyal yolağıyla interaksyonu bulunan ve böbrek kanserinde bir tümör supresör olarak tanımlanmış *FNIP2* geni (Hasumi vd., 2015) ekzonunda özgün L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. TT16 örneğine benzer şekilde ise TT6'da ayrıca WNT sinyal yolağında tümör baskılayıcı bir diğer gen olan *DKK3*'ün intronunda L1HS insersiyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.14B). T6 kodlu hastada da TT16 hastasında gözlemlenen bilateralite, multifokalite gibi fenotipik bulgular görülmektedir. *DKK3*, PTK'de bir tümör supresör gen olarak tanımlanmış ve ekspresyon seviyesinin PTK agresifliği ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (Yin vd., 2013). T6 kontrol dokusunda tümör supresör *FAT3* geninde L1HS insersiyonunun saptanması, pre-neoplastik dokularda görülen genomik instabiliteye katkı sağlayabileceğini akla getirmektedir (Guo vd., 2021). Bir diğer MTOR sinyal yolağında proto-onkogen olarak rol oynayan *RICTOR* geni intronunda insersiyon saptanmıştır. Pankreas kanserinde yapılan bir çalışmada *RICTOR* ekspresyon seviyesiyle kötü prognoz ilişkili bulunmuştur (Schmidt vd., 2017). Folliküller tiroid kanserinde ve birçok farklı kanser tipinde deregülasyona uğrayan NOTCH sinyal yolağından *CTBP2* geninde de (Fuhrer, 2006; Y. Wang vd., 2016) intronik L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Böylece T6 hastasının kontrol dokusunda *FAT3* inhibisyonunun etkisini dengeleyebilecek *RICTOR* ve *CTBP2* inaktivasyonları sayesinde T16'dan farklı olarak T6'da RLN görülmemesi ve daha küçük tümör çapına sahip olma gibi fenotipik özelliklerin açığa çıkabileceğini tahmin etmekteyiz.

Bilateralite, multifokalite ve 1 adet RLN bulgusu olan T1 kodlu hastada (Şekil 4.14A), normal dokuda kanser-ilişkili genlerde L1HS insersiyonuna rastlanmamıştır. Kolon, meme ve akciğer tümör örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada NOTCH sinyal yolağında tümör baskılayıcı rolü bulunan *NUMBL* inhibisyon seviyesinin kötü prognozla korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Garcia-Heredia vd., 2016). Bu nedenle hastanın tümör dokusunda saptanan *NUMBL* genindeki intronik insersiyon, passenger bir varyant olarak multifokalite, bilateralite gibi bulgulara katkı sağladığı düşüncesindeyiz. TC1 örneğinde olduğu gibi ilgili genlerde T3 kontrol dokusunda ilgili genlerde herhangi bir L1HS insersiyonu tespit edilmemiştir. T3'ün tümör dokusunda bulunan *TG* genindeki L1HS insersiyonunun, T1'den farklı olarak RLN ve

özellikle de yüksek sayıdaki lenf nodu metastazında etkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Öyle ki, papiller tiroid karsinomlarında yapılan bir çalışmada; somatik *TG* mutasyonları anlamlı derecede klonal büyüme ve metastazla ilişkili bulunmuştur (Siraj vd., 2016).

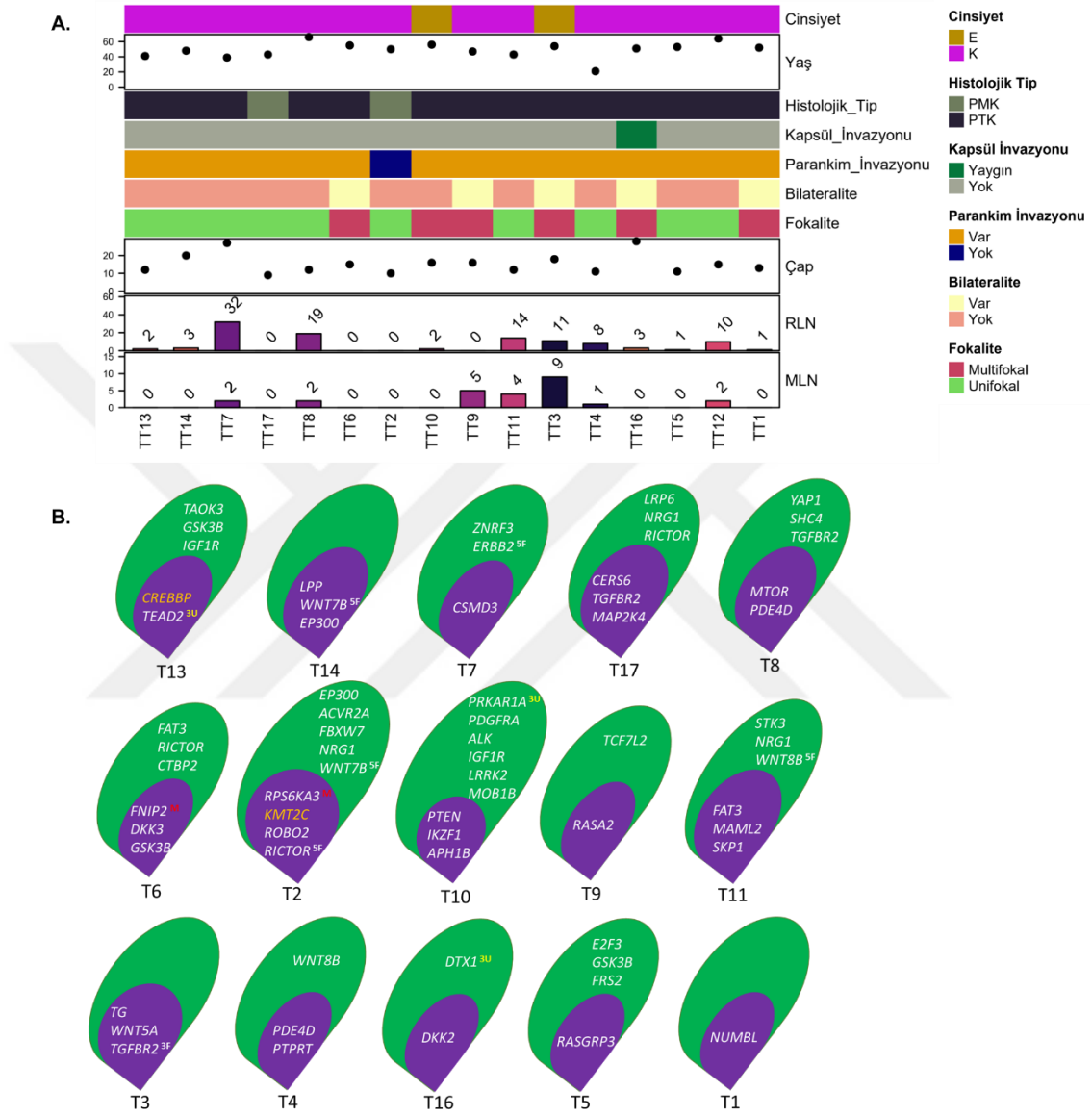
Tall cell alt tip PTK grubundaki 2 adet ≤ 1 cm tümör boyutu fenotipine sahip hastalardan biri olan T17'nin (Şekil 4.14A) tümör dokusunda intronik varyantları PTK riski ile ilişkilendirilmiş *CERS6* ve *MAP2K4* (Jung vd., 2021; W. Zhou vd., 2020) genlerinin dışında KT16'da saptanan *TGFBR2* intronuna insersiyon TT17'de de gözlemlenmiştir. Tümör supresör olan *TGFBR2*'de görülen bazı SNP'lerin papiller tiroid kanseri progresyonuna katkı sağladığı bildirilmiştir (Choe vd., 2012) T17 kontrol dokusunda ise diferansiye tiroid karsinomu riski ile ilişkilendirilmiş intronik *NRG1* varyantına benzer şekilde *NRG1* intronuna L1HS insersiyonunun yanında WNT sinyal yolağından proto-onkogen olan ve deregülasyonu meme kanserin alt popülasyonların oluşmasına yol açtığı belirlenmiş *LRP6*'nın intronunda insersiyon görülmesi, daha pre-kanseröz dokunun heterojenitesinin baskılanarak invaziv olmayan, tümör boyutu 1 cm olan hasta fenotipine katkı sağladığını düşünmekteyiz (C. C. Liu vd., 2010; Saenko ve Rogounovitch, 2018).

Tall cell alt tip PTK grubundaki bir diğer 1 cm tümör boyutuna sahip olan hasta ise T2'dir. T2 tümör dokusunda, farklı tip kanserlerde intronik yanlış uç birleştirme varyantları bildirilmiş *ROBO2*'ye (Jung vd., 2021) intronik L1HS retrotranspozisyonu gözlemlenmiştir. TT2'de ayrıca *KMT2C* intron-ekzon sınırına L1HS insersiyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.14B). Yapılan bir çalışmada, histon metiltransferaz genlerinden olan *KMT2C*'deki mutasyonların sıklıkla agresif tip PTK alt tiplerinde görüldüğü raporlanmıştır (Jin vd., 2021). Bu çalışmada, yalnızca tall cell alt tip PTK grubunda tespit edilen üçüncü *RICTOR* hedeflemiş L1HS insersiyonu, bu hastada genin 5'Flank bölgesinde tespit edilmiştir. İnsersiyonun bulunduğu lokasyonda tanımlanmış transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri MotifMap çevrim içi aracı ile taranmış ve $FDR \leq 0,05$ eşik değerinin üzerinde FDR 0,1'de Spi-1 (Spi-1 Proto-Oncogene; Spi-1 Proto-Onkogeni) bağlanma bölgesi saptanmıştır. Spi-1, tümör baskılayıcı olarak rol oynayabilmekte; ayrıca birçok kanserdeki gibi onkogenik etkide de bulunabilmektedir (Huang vd., 2022). Burada, L1HS insersiyonundan kaynaklı Spi-1 bağlanma bölgesinin bozulmasıyla proto-onkogen *RICTOR*'un ekspresyonunun indirgenmesi muhtemel gözükse de, L1HS'nin kendi üzerindeki promotör dizileri sayesinde gen

ifadesinin artabileceği de akılda tutulmalıdır (Şekil 1.3). Tüm bu malignite teşvik edici gözükken L1HS insersiyonlarının yanında, fonksiyonel etki potansiyeli en yüksek olan ekzonik L1HS insersiyonu, *RPS6KA3* geninde saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda *RPS6KA3*'ün baskılanmasının tümör büyümesini engellediği bildirilmiştir (L. Y. Li vd., 2020; Yoo vd., 2019). L1HS insersiyonu sonucunda *RPS6KA3*'te oluşabilecek fonksiyon kaybının, parankim invazyonu görülmeyen, aynı zamanda ≤ 1 cm tümör boyutu fenotipi gözlemlenen T2 kodlu hastadaki benign bulguları açıklayabileceğini düşünmekteyiz. Hastanın kontrol dokusunda gözlemlenen *NRG1*'e intronik L1HS insersiyonu dışında *FBXW7* ve *ACVR2A* intronlarında L1HS insersiyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.14B). Literatürde benzer şekilde; mide kanserinde her iki gende transpozon insersiyonuyla karşılaşıldığı bildirilmiştir (Takeda vd., 2016).

T10 hastasının tümör dokusunda, insan kanserlerinde proksimal intronik ve yanlış uç birleştirme varyantları sıkça tespit edilmiş *IKZF1* geninde (Jung vd., 2021) L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Papiller tiroid karsinomları üzerinde yapılan bir araştırmada *PTEN* kaybı folliküler alt tip PTK ile ilişkili bulunmuş, ancak çalışmada *PTEN* delesyonu dışında başka inaktivasyon mekanizmalarının da araştırılması önerilmiştir (Beg vd., 2015). Literatürde daha önceden endometrium kanserinde, MTOR sinyal yolağında önemli tümör supresör görevleri olan *PTEN* geninin 6. ekzonunda, olası bir sürücü mutasyon olarak L1HS insersiyonu bildirilmiştir (Helman vd., 2014). Burada ise TT10 örneğinde *PTEN* intronuna L1HS retrotranspozisyonu tespit edilmiştir. Hastanın normal dokusunda da birçok L1HS insersiyonuna rastlanmıştır. Bunlardan *PRKAR1A* 3'UTR'sinde tespit edilen L1HS insersiyonunun, papiller tiroid kanserinde bildirilmiş *PRKAR1A* ablasyonuna (Pitsava vd., 2021) benzer sonuçlar doğurması olası gözükmektedir. *APH1B*, NOTCH sinyal yolağındaki terapötik hedeflerden biri olan gamma sekretaz alt ünitelerinden birini oluşturmaktadır (Moore vd., 2020). Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas; TCGA) araştırma ağını kullanarak yapılan bir çalışmada, tiroid kanseri grubunda *APH1B*'de ekzon atlatma (exon skipping) varyantlarının görüldüğü bildirilmiştir (B. Han vd., 2021). TC10 örneğinde de hipotetik olarak ekzon atlanmasına neden olabilecek *APH1B* intronuna retrotranspozisyon saptanmıştır (Şekil 4.14B). T10 örneğinin normal dokusunda, aşırı ifadelenmeleri tiroid kanserlerinde tümör progresyonuyla ilişkilendirilmiş *PDGFRA* (Shi vd., 2020), *ALK* (Panebianco vd., 2019), *LRRK2* (Z. C. Jiang vd., 2019) ve ayrıca PTK'de upregüle olduğu bildirilmiş *IGF1R* (Y. J. Liu vd.,

2013) genlerinin intronlarında lokalize diğer L1HS insersiyonlarının; aynı dokuda *PRKAR1A* 3'UTR'sinde ve tümör dokusunda bulunan *PTEN* intronik insersiyonlarının potansiyel etkilerini kompanse edebileceğini, görece benign bir fenotipin (Şekil 4.14A) oluşmasına katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.



Şekil 4.14. Tall cell alt tip PTK örnekleri fenotiplerinin ve örnek dokularında görülen özgün L1HS insersiyonlarının gösterimi. A. Hastaların tümör patohistolojisi ve fenotipi ile ilgili bilgileri; E: erkek, K: kadın, PMK: eski sınıflandırma adıyla papiller tiroid mikrokarsinomu anlamındadır, ≤1 cm olan tümör boyutuna sahip vakaları temsil etmektedir, PTK: papiller tiroid kanser, RLN: reaktif lenf nodu sayısı, MLN: metastatik lenf nodu, Çap: mm cinsinden tümör çapını ifade etmektedir, B. Hastalara ait tümör (mor alan) ve normal doku (yeşil alan) örneklerinde kanser-ilişkili genlerde tespit edilen L1HS insersiyonları, ^M: ekzonik, ^{3U}: 3'UTR, ^{5F}: 5'Flank, turuncu ile yazılan genler: intron-ekzon sınırında L1HS insersiyonu bulunduran genleri bildirmektedir, haricindekiler ise intronlarında L1HS'lerin lokalize olduğu genleri temsil etmektedir.

Sonuç olarak, kanser-ilişkili gen setlerine bakıldığında 64 örneğin (32 adet eşli doku örneği) yaklaşık %84'ünde (54 örnek) insersiyon saptanmıştır. Tiroid kanseri tümörlerinde retrotranspozisyon aktivitesine dair literatürde herhangi bir veri görülmemektedir. Akciğer kanserinde agresif ve normal tümör retrotranspozisyon sayısı referans alınarak (Tubio vd., 2014) tall cell alt tipinde klasik papiller tiroid karsinomuna göre hasta örneği başına L1HS insersiyonlarının %8 daha fazla görülmesi beklenmiş ancak klasik PTK örneklerinin tümör / normal dokusunda 2064 / 2346 adet; TC-PTK örneklerinin tümör / normal dokusunda ise 1803 / 2049 adet özgün L1HS insersiyonu saptanmıştır. Beklenenin aksine klasik PTK'de, TC-PTK'ye göre %14,5 daha fazla özgün L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Bununla birlikte kanser-ilişkili genler tarandığında, klasik PTK'de 77 ve TC-PTK'de 67 olmak üzere gruplarda birbirine yakın sayıda özgün L1HS insersiyonu tespit edilmiştir. Klasik PTK'de daha fazla özgün L1HS insersiyonunun tespit edilmesiyle ilişkili olabilecek kütüphane konsantrasyonu, fragman boyutu ve okuma sayısı parametreleri, doğrusal regresyon analiziyle incelenmiştir. Analiz sonucunda kütüphane konsantrasyonu, fragman boyutu ve okuma sayısının tespit edilen özgün L1HS sayısı ile ilişkili olmadığı açığa çıkarılmıştır (sırasıyla; $p = 0,8549$; $p = 0,5299$, $p = 0,4881$) (Ek Şekil 1.2). Bu sonuçlar, güç analizinde referans alınan çalışmadaki akciğer kanseri örneklerinden farklı olarak (Tubio vd., 2014), tall cell alt tip PTK örneklerinin tümör ve normal dokusunda klasik PTK örneklerine göre daha az sayıda özgün L1HS insersiyonunun gözlemlenmesinin tümör ve tümör mikro-çevresine ait farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Öyle ki yapılan çalışmalarda hızlı progresyon gösteren kanserlerde yüksek hasar verici mutasyonların daha yoğun olarak negatif seçilim baskısına maruz kaldığı ve popülasyondan silinebildiği gösterilmiştir (McFarland vd., 2013). Sonuç olarak klasik PTK'ye göre daha hızlı progresyon gösteren TC-PTK'de (Coca-Pelaz vd., 2020) L1HS'lerin görece yüksek hasar verici genomik bölgelere lokalize olduğu, bu nedenle de TC-PTK örneklerinin genomundaki L1HS'lerin klasik PTK'ye göre daha sık negatif seçilime uğradığını düşünmekteyiz.

4.3. Klasik ve tall cell alt tip PTK örneklerinde kanser-ilişkili genlerin dışında L1HS insersiyonları barındıran ortak gen bölgeleri

Bu tez kapsamında, kanser-ilişkili gen setlerinde tarandığında özgün L1HS insersiyonu gözlemlenmeyen 6 adet klasik PTK ve 5 adet TC-PTK örneklerinden en az ikisinde ortak olarak görülen 7 adet gen lokusu tespit edilmiştir. Klasik PTK

örneklerinden KC1, KC2 ve KC13'te *GPHN* intronunda özgün L1HS insersiyonu saptanmıştır. Papiller tiroid kansinonlarında yapılan bir çalışmada *GPHN*, kromozomal instabilite ile ilişkili bulunmuştur (J. Han vd., 2019). Prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiş *EHBP1* polimorfizmine (Ioannidis vd., 2010) benzer şekilde KC2, KT9 ve KC13'te *EHBP1* intronunda özgün L1HS insersiyonu gözlemlenmiştir. L1HS insersiyonu tespit edilen KC1 ve KT9'da ise, yapılan bir pan-kanser analizi çalışmasında farklı tip kanserlerde sıklıkla hipometilasyona uğradığı bildirilen *TRERF1*'de (Transcriptional Regulating Factor 1; Transkripsiyonel Düzenleyici Faktör 1) (Gonzalez-Reymundez ve Vazquez, 2020) intronik L1HS insersiyonları saptanmıştır. KC2 ve KT9 örneklerinin *SLX4IP* (SLX4 Interacting Protein; SLX4 ile Etkileşen Protein) intronunda da özgün L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. *SLX4IP* ifadesinin azalması ise birçok farklı kanser tipiyle ilişkilendirilmiştir (H. Zhang vd., 2019). KC9 ve TC12 örneklerinde ise *MEIS2* (Meis Homeobox 2) intronunda özgün L1HS insersiyonu saptanmıştır. Yapılan güncel bir çalışmada, *MEIS2*'nin ekspresyonunun tiroid kanserinde anlamlı olarak azaldığı raporlanmıştır (Wen vd., 2021). KT9 ve TC14 örneğinde ise *PCDH9* intronunda L1HS insersiyonu saptanmıştır. *PCDH9* aşırı ifadelenmesi ise endometrium kanserinde bildirilmiştir (X. He vd., 2020). 7 gen lokusu arasında tall cell alt tip PTK'ye özgü olarak bir RNA geni olan *LINC00865*'in 3'Flank'inde hem TC3'te hem de TC12'de insersiyon tespit edilmiştir. İlginç olarak, anaplastik tiroid kansinomu üzerinde yapılan bir çalışmada, tümör hücrelerinde *LINC00865*'in ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Yakushina vd., 2021).

5. SONUÇ

Çalışma sonucunda L1HS'lerin, K-PTK ve TC-PTK gruplarında hem tümör hem de kontrol dokularında aktif oldukları, sıklıkla intronik ve intergenik bölgelere retrotranspozisyon gerçekleştirdikleri ortaya çıkarılmış; her iki grupta kontrol dokularının genomunda L1HS insersiyon sayısı tümör dokularının genomundaki L1HS insersiyon sayısından daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca beklenenin aksine, TC-PTK örneklerinde saptanan toplam özgün L1HS insersiyonu sayısının klasik PTK'den daha düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte kanser-ilişkili gen setlerine bakıldığında; özgün L1HS insersiyonu tespit edilen toplam gen sayısı TC-PTK grubunun kontrol ve tümör dokularında sırasıyla 34 ve 33, K-PTK grubunun kontrol ve tümör dokularında ise sırasıyla 35 ve 42 bulunarak, her iki grupta benzer sayılarda özgün L1HS insersiyonu gözlemlenmiştir.

Klasik ve tall cell alt tip PTK gruplarında, kanser-ilişkili genlerde saptanan L1HS insersiyonları da sıklıkla intronik bölgelerde görülmüştür. İtronik yanlış uç birleştirme mutasyonları kanserlerde bildirilmiş olan genlerin (Jung vd., 2021) yaklaşık %23'ünde (15 gen) bu çalışmada, L1HS insersiyonlarıyla karşılaşılmıştır. Ayrıca, klasik ve agresif alt tip tiroid karsinomlarında, KDTK ve ATK'lerde bildirilmiş mutasyonlara sahip 7 gende (Coca-Pelaz vd., 2020; Jin vd., 2021) L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. Bunun dışında L1HS'lerin, tiroid kanseri riskiyle ilişkilendirilen SNP'ler bildirilmiş 6 lokusa (Gudmundsson vd., 2017; W. Zhou vd., 2020) ve radyasyon-ilişkili diferansiye tiroid kanseri riskiyle ilişkilendirilmiş 1 gen bölgesine (Zidane vd., 2019) retrotranspozisyon gerçekleştirdikleri saptanmıştır. Her iki alt tipte ortak olarak L1HS insersiyonu barındıran 15 gen saptanmış; insersiyon barındıran kanser-ilişkili bazı ortak genler, farklı PTK gruplarında kontrol ve tümör olarak, farklı doku bölgelerinde tespit edilmiştir. Hasar verici potansiyeli görece yüksek olan ekzonik ve intron-ekzon sınırındaki L1HS insersiyonlarının ise 8/9'unun kanser-ilişkili gen setlerindeki tümör baskılayıcı genlerde zenginleştiği gözlemlenmiştir. Bu kategorideki insersiyonlar K-PTK'de her iki dokuda da gözlemlenirken, TC-PTK'de yalnızca tümör doku örneklerinde tespit edilmiştir.

Kanser-ilişkili gen setlerinde özgün L1HS insersiyonlarının en sık görüldüğü ilk üç gen ise *ERBB4*, *ROBO2* ve *NRG1* olmuştur. *ERBB4* intronlarına gerçekleşen L1HS retrotranspozisyonları yalnızca K-PTK grubunun 5 farklı örneğe ait kontrol dokusunda

tespit edilmiştir. *ROBO2* intronlarındaki L1HS insersiyonlarının 4/7'si K-PTK grubunun kontrol dokusunda; 1'i ise TC-PTK'de tümör dokusunda gözlemlenmiştir. Daha önceden kolorektal tümörlerde *ROBO2* intronuna L1 retrotranspozisyonu bildirilmiştir (Solyom vd., 2012). Güncel bir çalışmada ise pre-malignant Barrett özofagusu lezyonları üzerinde yapılan bir çalışmada hem *ERBB4* hem de *ROBO2* genlerinde L1 insersiyonu raporlanmıştır (Katz-Summercorn vd., 2022). İlginç olarak, *NRG1*'de tespit edilen insersiyonlar K-PTK'de tümör doku örneklerinde gözlemlenirken, TC-PTK'de kontrol doku örneklerinde tespit edilmiştir. COSMIC veri tabanından alınan tümör örnekleri üzerinde yapılan bir araştırmada, kolorektal tümörlerde *NRG1*'de lokalize L1 retrotranspozonlarına sıkça rastlandığı bildirilmiştir (Cajuso vd., 2019). Başka bir çalışmada ise *NRG1*'de saptanan bir SNP'nin PTK riskiyle anlamlı olarak ilişkili olduğu raporlanmıştır (H. He vd., 2018). *NRG1* genindeki bulgulara benzer şekilde, *DIRC3*'te lokalize L1HS retrotranspozonları K-PTK grubunun 3 farklı tümör örneğinde tespit edilmiştir. Tiroid kanseri üzerinde yapılan güncel bir risk puanlama çalışmasında da, *DIRC3* ve *NRG1*'i içeren 6 SNP tespit edilmiştir (S. S. Song vd., 2021). Burada da KT14 örneğinde, her iki genin intronlarında L1HS insersiyonu bulunmuştur. K-PTK grubunun kontrol doku örneklerinde baskın olarak görülen *ERBB4* ve ilişkili RTK-RAS sinyal yolağı proto-onkogenleri dışında MTOR, WNT, NOTCH ve Hippo sinyal yolağı tümör baskılayıcı genlerinde de L1HS insersiyonları saptanmıştır. Ayrıca K-PTK kontrol dokularında, 8 RTK-RAS sinyal yolağı proto-onkogeninin 2'sinde tespit edilen L1HS insersiyonlarının, genlerin 3'UTR'sinde olduğu görülmüştür. Klasik PTK'de farklı tümör doku örneklerine dağılmış, yine NOTCH, WNT, Hippo, RTK-RAS ve TGFβ (Transforming Growth Factor-beta; Transforme edici Büyüme Faktörü-beta) sinyal yolaklarının tümör baskılayıcı genlerinde L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. Bununla birlikte Hippo sinyal yolağından yalnızca *FAT3* tümör supresör geninde, 2 farklı K-PTK tümör örneğinde L1HS insersiyonu gözlemlenmiş; insersiyonlardan birinin *FAT3* 5'Komşu bölgesinde olduğu görülmüştür.

Tall cell alt tip PTK kontrol dokularında L1HS retrotranspozisyonlarının görüldüğü konakçı proto-onkogenlerin ise WNT ve RTK-RAS sinyal yolağında rol oynadıkları saptanmış; ancak insersiyonların K-PTK grubunda tespit edilen insersiyonlardan farklı olarak proto-onkogenlerin sıklıkla 5'Komşu bölgesinde lokalize oldukları gözlemlenmiştir. Bunun dışında TC-PTK grubunun kontrol

dokularında, baskın olarak, Hippo sinyal yolağındaki tümör supresör genlerinin intronlarının özgün L1HS insersiyonlarını barındırdığı görülmüştür. WNT başta olmak üzere, TGF β ve NOTCH sinyal yolakları tümör supresör genlerinde de insersiyonlar tespit edilmiştir. TGF β sinyal yolağı tümör baskılayıcı genlerinde L1HS insersiyonu tespit edilen 5 dokudan 4'ü TC-PTK grubuna ait olduğu görülmüştür. SNP'leri PTK'de tümör progresyonu ile ilişkilendirilmiş *TGFBR2* (Choe vd., 2012), TC-PTK'de TGF β sinyal yolağındaki L1HS'ler tarafından sıkça hedeflenen gen olmuştur. TC-PTK tümör dokularında L1HS insersiyonlarının, grubun kontrol dokularına benzer şekilde WNT sinyal yolağındaki ve TC-PTK'ye özgü olarak MTOR ve RTK-RAS sinyal yolaklarında bazı onkogenlerin 5'Komşu bölgelerinde lokalize oldukları saptanmıştır. Tall cell alt tip PTK tümör örneklerinde de, K-PTK tümör örneklerine benzer olarak NOTCH, WNT, Hippo ve TGF β tümör supresör genlerinde lokalize L1HS'ler gözlemlenmiştir. K-PTK tümör örneklerinden farklı olarak ise, bir TC-PTK tümör örneğinde, MTOR sinyal yolağındaki tümör supresör olarak rol oynayan *PTEN* geninin intronunda L1HS insersiyonu tespit edilmiştir.

Örneklerde, PTK alt tipi fark etmeksizin, özgün L1HS insersiyonlarının en sık görüldüğü 20 gene bakıldığında 17'sinin, euL1db veri tabanında germ hattı ve / veya somatik olarak L1 insersiyonu barındıran genler olduğu görülmüştür. Geriye kalan genler ise bu çalışmadaki K-PTK ve TC-PTK örneklerine özgü olarak L1HS insersiyonu tespit edilmiş genler olmuştur. Bunun dışında, kanser-ilişkili gen setlerinde bulunmayan ancak örneklerde 2 veya daha fazla ortak gözükten 7 adet gen bulunmuştur.

Klasik ve tall cell alt tip PTK gruplarında L1HS insersiyonlarının görüldüğü ortak kanser-ilişkili sinyal yolakları tespit edilmiştir. Klasik ve tall cell PTK gruplarında ortak olarak RTK-RAS, NOTCH, WNT, Hippo ve TGF β sinyal yolakları genlerinde L1HS insersiyonlarının zenginleştiği tespit edilmiş; ancak insersiyonların bu sinyal yolaklarındaki kümelenmeleri her iki grupta farklılık göstermiştir. İnsersiyonların K-PTK grubunda daha sık olarak RTK-RAS sinyal yolağı; TC-PTK'de ise WNT, NOTCH ve Hippo sinyal yolaklarında zenginleştiği saptanmıştır. İki grubun kontrol ve tümör dokularında, ortak olarak tespit edilen sinyal yolaklarındaki proto-onkogenlerde lokalize L1HS insersiyonlarının, K-PTK grubunda sıklıkla intronik bölgelerde, TC-PTK grubunda ise hedef proto-onkogenlerin ifadenin yükseltgenmesiyle sonuçlanabilecek 5'Komşu gen bölgelerinde olduğu görülmüştür.

Tümör supresör genlere bakıldığında, klasik ve tall cell alt tip PTK gruplarının kontrol ve tümör dokularında L1HS insersiyonlarının ortak olarak WNT ve NOTCH sinyal yolağı genlerinde zenginleştiği görülmüştür. Bununla birlikte TGF β sinyal yolağı tümör baskılayıcı genlerine gerçekleşen L1HS retrotranspozisyonları daha çok TC-PTK grubunda gözlemlenmiştir.

Solid tümörlerde tümör çevre dokusunda nötral, nötrale yakın ya da daha az hasar verici varyantların hücre popülasyonu içerisinde seleksiyon baskısından kaçarak pre-kanseröz heterojenitenin oluşmasına katkı sağladığı bilinmektedir (West vd., 2021). Her iki grubun kontrol dokularının genomunda tespit edilen özgün L1HS insersiyon sayısının tümör dokularındaki insersiyon sayısından fazla bulunmasına, hipotetik olarak daha az hasar verici olan intronik ve intergenik bölgelerdeki insersiyonların negatif seçilim baskısından kaçışlarının neden olabileceğini düşünmekteyiz. TC-PTK örneklerinde ise K-PTK'ye göre daha az sayıda özgün L1HS insersiyonları tespit edilmiştir. 5'Komşu bölgelerinde lokalize L1HS'lerin ilgili proto-onkogenlerin ifadenmesini arttırarak pre-kanseröz heterojenitenin azalmasına ve sonucunda TC-PTK örneklerindeki intronik ve intergenik insersiyonların hücre popülasyondan silinmesine; yerine hasar verici potansiyeli daha yüksek ekzonik ve intron-ekzon sınırlarındaki insersiyonların, tümör popülasyonunda sağ kalmasına sebebiyet vermesi mümkün gözükmektedir. K-PTK ve TC-PTK örneklerinde kanser-ilişkili genlerde tespit edilen insersiyonların bazı benign veya malign hasta kliniği ve histopatolojik bulguları destekleyebilecek nitelikte olduğu da görülmüştür.

Sonuç olarak, klasik ve tall cell alt tip PTK gruplarında farklı kanser fenotiplerinin açığa çıkmasına neden olabilecek özgün L1HS insersiyon profilleri görülmektedir. Tespit edilen L1HS insersiyonlarının fonksiyonel sonuçlarını gözlemleyebilmek adına RNA-Seq gibi yöntemler ile L1HS tarafından hedeflenen genlerin ekspresyon seviyelerine bakılmalıdır. Ayrıca, çalışmada kullanılan kanser-ilişkili gen setlerinde saptanmamış; ancak hem gruplara özgü olarak hem de iki PTK grubunda ortak görülen, L1HS'ler tarafından hedeflenmiş 7 adet gen bölgesinin, PTK'de biyobelirteç olarak önemini açığa çıkarmak üzere yürütülecek ileri deneysel çalışmalar değerli gözükmektedir. Bunun dışında, PTK'de sık görülen diğer genetik aberasyonların gelecekte L1HS insersiyon profilleriyle birlikte araştırılması, L1HS retrotranspozisyonlarının tümör progresyonu ve prognoz üzerindeki etkilerinin daha

iyi anlaşılmasını sağlayacak; L1HS'lerin papiller tiroid karsinomlarında terapötik bir hedef olarak değerinin açığa çıkarılmasına katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Abdullah, M. I., Junit, S. M., Ng, K. L., Jayapalan, J. J., Karikalan, B. ve Hashim, O. H. (2019). Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations. *Int J Med Sci*, 16(3), 450-460. doi:10.7150/ijms.29935
- Acha-Sagredo, A., Ganguli, P. ve Ciccarelli, F. D. (2022). Somatic variation in normal tissues: friend or foe of cancer early detection? *Ann Oncol*, 33(12), 1239-1249. doi:10.1016/j.annonc.2022.09.156
- Acquaviva, G., de Biase, D., Diquigiovanni, C., Argento, C. M., De Leo, A., Bonora, E., Rhoden, K. J., Pession, A. ve Tallini, G. (2020). BRAF Exon 15 Mutations in Papillary Carcinoma and Adjacent Thyroid Parenchyma: A Search for the Early Molecular Events Associated with Tumor Development. *Cancers (Basel)*, 12(2). doi:10.3390/cancers12020430
- Ade, C. M., Servant, G., Morales, M. E. ve Roy-Engel, A. M. (2017). Environment, Cellular Signaling, and L1 Activity. In G. Cristofari (Ed.), *Human Retrotransposons in Health and Disease* (pp. 157-194). Cham: Springer International Publishing.
- Agarwal, S., Bychkov, A. ve Jung, C. K. (2021). Emerging Biomarkers in Thyroid Practice and Research. *Cancers (Basel)*, 14(1). doi:10.3390/cancers14010204
- Ahmed, M., Hussain, A. R., Bavi, P., Ahmed, S. O., Al Sobhi, S. S., Al-Dayel, F., Uddin, S. ve Al-Kuraya, K. S. (2014). High prevalence of mTOR complex activity can be targeted using Torin2 in papillary thyroid carcinoma. *Carcinogenesis*, 35(7), 1564-1572. doi:10.1093/carcin/bgu051
- Ali, A., Han, K. ve Liang, P. (2021). Role of Transposable Elements in Gene Regulation in the Human Genome. *Life (Basel)*, 11(2). doi:10.3390/life11020118
- Alzofon, N., Koc, K., Panwell, K., Pozdeyev, N., Marshall, C. B., Albuja-Cruz, M., Raeburn, C. D., Nathanson, K. L., Cohen, D. L., Wierman, M. E., Kiseljak-Vassiliades, K. ve Fishbein, L. (2021). Mastermind Like Transcriptional Coactivator 3 (MAML3) Drives Neuroendocrine Tumor Progression. *Mol Cancer Res*, 19(9), 1476-1485. doi:10.1158/1541-7786.MCR-20-0992
- Amacher, A. M., Goyal, B., Lewis, J. S., Jr., El-Mofty, S. K. ve Chernock, R. D. (2015). Prevalence of a hobnail pattern in papillary, poorly differentiated, and anaplastic thyroid carcinoma: a possible manifestation of high-grade transformation. *Am J Surg Pathol*, 39(2), 260-265. doi:10.1097/PAS.0000000000000329
- Arafeh, R., Qutob, N., Emmanuel, R., Keren-Paz, A., Madore, J., Elkahloun, A., Wilmott, J. S., Gartner, J. J., Di Pizio, A., Winograd-Katz, S., Sindiri, S., Rotkopf, R., Dutton-Regester, K., Johansson, P., Pritchard, A. L., Waddell, N., Hill, V. K., Lin, J. C., Hevroni, Y., Rosenberg, S. A., Khan, J., Ben-Dor, S., Niv, M. Y., Ulitsky, I., Mann, G. J., Scolyer, R. A., Hayward, N. K. ve Samuels, Y. (2015). Recurrent inactivating RASA2 mutations in melanoma. *Nat Genet*, 47(12), 1408-1410. doi:10.1038/ng.3427
- Ariumi, Y. (2016). Guardian of the Human Genome: Host Defense Mechanisms against LINE-1 Retrotransposition. *Front Chem*, 4, 28. doi:10.3389/fchem.2016.00028
- Aschacher, T., Wolf, B., Enzmann, F., Kienzl, P., Messner, B., Sampl, S., Svoboda, M., Mechtcheriakova, D., Holzmann, K. ve Bergmann, M. (2016). LINE-1 induces hTERT and ensures telomere maintenance in tumour cell lines. *Oncogene*, 35(1), 94-104. doi:10.1038/onc.2015.65
- Avram, A. M., Zukotynski, K., Nadel, H. R. ve Giovanella, L. (2022). Management of Differentiated Thyroid Cancer: The Standard of Care. *J Nucl Med*, 63(2), 189-195. doi:10.2967/jnumed.121.262402

- Bai, Y., Kakudo, K. ve Jung, C. K. (2020). Updates in the Pathologic Classification of Thyroid Neoplasms: A Review of the World Health Organization Classification. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 35(4), 696-715. doi:10.3803/EnM.2020.807
- Baloch, Z. W., Asa, S. L., Barletta, J. A., Ghossein, R. A., Juhlin, C. C., Jung, C. K., LiVolsi, V. A., Papotti, M. G., Sobrinho-Simoes, M., Tallini, G. ve Mete, O. (2022). Overview of the 2022 WHO Classification of Thyroid Neoplasms. *Endocr Pathol*, 33(1), 27-63. doi:10.1007/s12022-022-09707-3
- Barbaro, D., Basili, G. ve Materazzi, G. (2021). Total thyroidectomy vs. lobectomy in differentiated thyroid cancer: is there a reasonable size cut-off for decision? A narrative review. *Gland Surg*, 10(7), 2275-2283. doi:10.21037/gs-21-242
- Barreat, J. G. N. ve Katzourakis, A. (2022). An ancient endogenous DNA virus in the human genome. *bioRxiv*, 2022.2002.2001.478760. doi:10.1101/2022.02.01.478760
- Beck, C. R., Garcia-Perez, J. L., Badge, R. M. ve Moran, J. V. (2011). LINE-1 elements in structural variation and disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 12, 187-215. doi:10.1146/annurev-genom-082509-141802
- Beg, S., Siraj, A. K., Jehan, Z., Prabakaran, S., Al-Sobhi, S. S., Al-Dawish, M., Al-Dayel, F. ve Al-Kuraya, K. S. (2015). PTEN loss is associated with follicular variant of Middle Eastern papillary thyroid carcinoma. *Br J Cancer*, 112(12), 1938-1943. doi:10.1038/bjc.2015.169
- Belancio, V. P., Deininger, P. L. ve Roy-Engel, A. M. (2009). LINE dancing in the human genome: transposable elements and disease. *Genome Med*, 1(10), 97. doi:10.1186/gm97
- Belancio, V. P., Hedges, D. J. ve Deininger, P. (2006). LINE-1 RNA splicing and influences on mammalian gene expression. *Nucleic Acids Res*, 34(5), 1512-1521. doi:10.1093/nar/gkl027
- Bellazzo, A. ve Collavin, L. (2020). Cutting the Brakes on Ras-Cytoplasmic GAPs as Targets of Inactivation in Cancer. *Cancers (Basel)*, 12(10). doi:10.3390/cancers12103066
- Bodak, M., Yu, J. ve Ciaudo, C. (2014). Regulation of LINE-1 in mammals. *Biomol Concepts*, 5(5), 409-428. doi:10.1515/bmc-2014-0018
- Bodea, G. O., McKelvey, E. G. Z. ve Faulkner, G. J. (2018). Retrotransposon-induced mosaicism in the neural genome. *Open Biol*, 8(7). doi:10.1098/rsob.180074
- Boissinot, S., Chevret, P. ve Furano, A. V. (2000). L1 (LINE-1) retrotransposon evolution and amplification in recent human history. *Mol Biol Evol*, 17(6), 915-928. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026372
- Boni, C. ve Sorio, C. (2021). The Role of the Tumor Suppressor Gene Protein Tyrosine Phosphatase Gamma in Cancer. *Front Cell Dev Biol*, 9, 768969. doi:10.3389/fcell.2021.768969
- Bourque, G., Burns, K. H., Gehring, M., Gorbunova, V., Seluanov, A., Hammell, M., Imbeault, M., Izsvak, Z., Levin, H. L., Macfarlan, T. S., Mager, D. L. ve Feschotte, C. (2018). Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol*, 19(1), 199. doi:10.1186/s13059-018-1577-z
- Burns, K. H. (2017). Transposable elements in cancer. *Nat Rev Cancer*, 17(7), 415-424. doi:10.1038/nrc.2017.35
- Cajuso, T., Sulo, P., Tanskanen, T., Katainen, R., Taira, A., Hanninen, U. A., Kondelin, J., Forsstrom, L., Valimaki, N., Aavikko, M., Kaasinen, E., Ristimaki, A., Koskensalo, S., Lepisto, A., Renkonen-Sinisalo, L., Seppala, T., Kuopio, T., Bohm, J., Mecklin, J. P., Kilpivaara, O., Pitkanen, E., Palin, K. ve Aaltonen, L. A. (2019). Retrotransposon

- insertions can initiate colorectal cancer and are associated with poor survival. *Nat Commun*, 10(1), 4022. doi:10.1038/s41467-019-11770-0
- Calses, P. C., Crawford, J. J., Lill, J. R. ve Dey, A. (2019). Hippo Pathway in Cancer: Aberrant Regulation and Therapeutic Opportunities. *Trends Cancer*, 5(5), 297-307. doi:10.1016/j.trecan.2019.04.001
- Cameselle-Teijeiro, J. M., Eloy, C., Amendoeira, I., Soares, P., Caneiro-Gómez, J., Melo, M. ve Sobrinho-Simões, M. (2018). Rare Papillary Thyroid Carcinomas. In J. M. Cameselle-Teijeiro, C. Eloy ve M. Sobrinho-Simões (Eds.), *Rare Tumors of the Thyroid Gland: Diagnosis and WHO classification* (pp. 5-25). Cham: Springer International Publishing.
- Cancer Genome Atlas Research, N. (2014). Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*, 159(3), 676-690. doi:10.1016/j.cell.2014.09.050
- Carreira, P. E., Richardson, S. R. ve Faulkner, G. J. (2014). L1 retrotransposons, cancer stem cells and oncogenesis. *FEBS J*, 281(1), 63-73. doi:10.1111/febs.12601
- Celano, M., Mignogna, C., Rosignolo, F., Sponziello, M., Iannone, M., Lepore, S. M., Lombardo, G. E., Maggisano, V., Verrienti, A., Bulotta, S., Durante, C., Di Loreto, C., Damante, G. ve Russo, D. (2018). Expression of YAP1 in aggressive thyroid cancer. *Endocrine*, 59(1), 209-212. doi:10.1007/s12020-017-1240-6
- Chakladar, J., Li, W. T., Bouvet, M., Chang, E. Y., Wang-Rodriguez, J. ve Ongkeko, W. M. (2019). Papillary Thyroid Carcinoma Variants are Characterized by Co-dysregulation of Immune and Cancer Associated Genes. *Cancers (Basel)*, 11(8). doi:10.3390/cancers11081179
- Chen, X., Theobard, R., Zhang, J. ve Dai, X. (2020). Genetic interactions between INPP4B and RAD50 is prognostic of breast cancer survival. *Biosci Rep*, 40(1). doi:10.1042/BSR20192546
- Cheng, J., He, J., Wang, S., Zhao, Z., Yan, H., Guan, Q., Li, J., Guo, Z. ve Ao, L. (2020). Biased Influences of Low Tumor Purity on Mutation Detection in Cancer. *Front Mol Biosci*, 7, 533196. doi:10.3389/fmolb.2020.533196
- Cheng, S. P., Chen, M. J., Chien, M. N., Lin, C. H., Lee, J. J. ve Liu, C. L. (2017). Overexpression of teneurin transmembrane protein 1 is a potential marker of disease progression in papillary thyroid carcinoma. *Clin Exp Med*, 17(4), 555-564. doi:10.1007/s10238-016-0445-y
- Chiba, K., Lorbeer, F. K., Shain, A. H., McSwiggen, D. T., Schruf, E., Oh, A., Ryu, J., Darzacq, X., Bastian, B. C. ve Hockemeyer, D. (2017). Mutations in the promoter of the telomerase gene TERT contribute to tumorigenesis by a two-step mechanism. *Science*, 357(6358), 1416-1420. doi:10.1126/science.aao0535
- Choe, B.-K., Kim, S. K., Park, H. J., Park, H.-K., Kwon, K. H., Lim, S. H. ve Yim, S.-V. (2012). Polymorphisms of TGFBR2 contribute to the progression of papillary thyroid carcinoma. *Molecular & Cellular Toxicology*, 8(1), 1-8. doi:10.1007/s13273-012-0001-0
- Chung, J. H., Dewal, N., Sokol, E., Mathew, P., Whitehead, R., Millis, S. Z., Frampton, G. M., Bratslavsky, G., Pal, S. K., Lee, R. J., Necchi, A., Gregg, J. P., Lara, P., Jr., Antonarakis, E. S., Miller, V. A., Ross, J. S., Ali, S. M. ve Agarwal, N. (2019). Prospective Comprehensive Genomic Profiling of Primary and Metastatic Prostate Tumors. *JCO Precis Oncol*, 3. doi:10.1200/PO.18.00283
- Coca-Pelaz, A., Shah, J. P., Hernandez-Prera, J. C., Ghossein, R. A., Rodrigo, J. P., Hartl, D. M., Olsen, K. D., Shaha, A. R., Zafereo, M., Suarez, C., Nixon, I. J., Randolph, G. W., Makitie, A. A., Kowalski, L. P., Vander Poorten, V., Sanabria, A., Guntinas-Lichius,

- O., Simo, R., Zbaren, P., Angelos, P., Khafif, A., Rinaldo, A. ve Ferlito, A. (2020). Papillary Thyroid Cancer-Aggressive Variants and Impact on Management: A Narrative Review. *Adv Ther*, 37(7), 3112-3128. doi:10.1007/s12325-020-01391-1
- Colonna Romano, N. ve Fanti, L. (2022). Transposable Elements: Major Players in Shaping Genomic and Evolutionary Patterns. *Cells*, 11(6). doi:10.3390/cells11061048
- Coufal, N. G., Garcia-Perez, J. L., Peng, G. E., Marchetto, M. C. N., Muotri, A. R., Mu, Y., Carson, C. T., Macia, A., Moran, J. V. ve Gage, F. H. (2011). Ataxia telangiectasia mutated (ATM) modulates long interspersed element-1 (L1) retrotransposition in human neural stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(51), 20382-20387. doi:doi:10.1073/pnas.1100273108
- Dai, X., Liu, Z. ve Zhang, S. (2015). Over-expression of EPS15 is a favorable prognostic factor in breast cancer. *Mol Biosyst*, 11(11), 2978-2985. doi:10.1039/c5mb00219b
- Daily, K., Patel, V. R., Rigor, P., Xie, X. ve Baldi, P. (2011). MotifMap: integrative genome-wide maps of regulatory motif sites for model species. *BMC Bioinformatics*, 12, 495. doi:10.1186/1471-2105-12-495
- Davies, L., Morris, L. G., Haymart, M., Chen, A. Y., Goldenberg, D., Morris, J., Ogilvie, J. B., Terris, D. J., Netterville, J., Wong, R. J., Randolph, G. ve Committee, A. E. S. S. (2015). American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Disease State Clinical Review: The Increasing Incidence of Thyroid Cancer. *Endocr Pract*, 21(6), 686-696. doi:10.4158/EP14466.DSCR
- Delys, L., Detours, V., Franc, B., Thomas, G., Bogdanova, T., Tronko, M., Libert, F., Dumont, J. E. ve Maenhaut, C. (2007). Gene expression and the biological phenotype of papillary thyroid carcinomas. *Oncogene*, 26(57), 7894-7903. doi:10.1038/sj.onc.1210588
- Deng, Y., Li, H., Wang, M., Li, N., Tian, T., Wu, Y., Xu, P., Yang, S., Zhai, Z., Zhou, L., Hao, Q., Song, D., Jin, T., Lyu, J. ve Dai, Z. (2020). Global Burden of Thyroid Cancer From 1990 to 2017. *JAMA Netw Open*, 3(6), e208759. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.8759
- Dong, J. J., Zhou, Y., Liu, Y. T., Zhang, Z. W., Zhou, X. J., Wang, H. J. ve Liao, L. (2013). In vitro evaluation of the therapeutic potential of nevirapine in treatment of human thyroid anaplastic carcinoma. *Mol Cell Endocrinol*, 370(1-2), 113-118. doi:10.1016/j.mce.2013.02.001
- Doolittle, W. F. (2022). All about levels: transposable elements as selfish DNAs and drivers of evolution. *Biology & Philosophy*, 37(4). doi:10.1007/s10539-022-09852-3
- Doucet, A. J., Wilusz, J. E., Miyoshi, T., Liu, Y. ve Moran, J. V. (2015). A 3' Poly(A) Tract Is Required for LINE-1 Retrotransposition. *Mol Cell*, 60(5), 728-741. doi:10.1016/j.molcel.2015.10.012
- Doucet, T. T. ve Kazazian, H. H., Jr. (2016). Long Interspersed Element Sequencing (L1-Seq): A Method to Identify Somatic LINE-1 Insertions in the Human Genome. *Methods Mol Biol*, 1400, 79-93. doi:10.1007/978-1-4939-3372-3_5
- Drozd, V., Branovan, D. I. ve Reiners, C. (2020). Increasing Incidence of Thyroid Carcinoma: Risk Factors and Seeking Approaches for Primary Prevention. *International Journal of Thyroidology*, 13(2), 95-110. doi:10.11106/ijt.2020.13.2.95
- Duda, P., Akula, S. M., Abrams, S. L., Steelman, L. S., Martelli, A. M., Cocco, L., Ratti, S., Candido, S., Libra, M., Montalto, G., Cervello, M., Gizak, A., Rakus, D. ve McCubrey, J. A. (2020). Targeting GSK3 and Associated Signaling Pathways Involved in Cancer. *Cells*, 9(5). doi:10.3390/cells9051110
- Einaga, N., Yoshida, A., Noda, H., Suemitsu, M., Nakayama, Y., Sakurada, A., Kawaji, Y., Yamaguchi, H., Sasaki, Y., Tokino, T. ve Esumi, M. (2017). Assessment of the quality

- of DNA from various formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues and the use of this DNA for next-generation sequencing (NGS) with no artifactual mutation. *PLoS One*, 12(5), e0176280. doi:10.1371/journal.pone.0176280
- Ewing, A. D., Gacita, A., Wood, L. D., Ma, F., Xing, D., Kim, M. S., Manda, S. S., Abril, G., Pereira, G., Makohon-Moore, A., Looijenga, L. H., Gillis, A. J., Hruban, R. H., Anders, R. A., Romans, K. E., Pandey, A., Iacobuzio-Donahue, C. A., Vogelstein, B., Kinzler, K. W., Kazazian, H. H., Jr. ve Solyom, S. (2015). Widespread somatic L1 retrotransposition occurs early during gastrointestinal cancer evolution. *Genome Res*, 25(10), 1536-1545. doi:10.1101/gr.196238.115
- Ewing, A. D. ve Kazazian, H. H., Jr. (2010). High-throughput sequencing reveals extensive variation in human-specific L1 content in individual human genomes. *Genome Res*, 20(9), 1262-1270. doi:10.1101/gr.106419.110
- Fallahi, P., Ferrari, S. M., Galdiero, M. R., Varricchi, G., Elia, G., Ragusa, F., Paparo, S. R., Benvenga, S. ve Antonelli, A. (2022). Molecular targets of tyrosine kinase inhibitors in thyroid cancer. *Semin Cancer Biol*, 79, 180-196. doi:10.1016/j.semcancer.2020.11.013
- Fan, R., Dong, L., Li, P., Wang, X. ve Chen, X. (2021). Integrated bioinformatics analysis and screening of hub genes in papillary thyroid carcinoma. *PLoS One*, 16(6), e0251962. doi:10.1371/journal.pone.0251962
- Fang, C. Y., Lai, T. C., Hsiao, M. ve Chang, Y. C. (2020). The Diverse Roles of TAO Kinases in Health and Diseases. *Int J Mol Sci*, 21(20). doi:10.3390/ijms21207463
- Faulkner, G. J. ve Billon, V. (2018). L1 retrotransposition in the soma: a field jumping ahead. *Mob DNA*, 9, 22. doi:10.1186/s13100-018-0128-1
- Feschotte, C. ve Pritham, E. J. (2007). DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annu Rev Genet*, 41, 331-368. doi:10.1146/annurev.genet.40.110405.090448
- Feusier, J., Watkins, W. S., Thomas, J., Farrell, A., Witherspoon, D. J., Baird, L., Ha, H., Xing, J. ve Jorde, L. B. (2019). Pedigree-based estimation of human mobile element retrotransposition rates. *Genome Res*, 29(10), 1567-1577. doi:10.1101/gr.247965.118
- Fiala, C. ve Diamandis, E. P. (2020). Mutations in normal tissues-some diagnostic and clinical implications. *BMC Med*, 18(1), 283. doi:10.1186/s12916-020-01763-y
- Flasch, D. A., Macia, A., Sanchez, L., Ljungman, M., Heras, S. R., Garcia-Perez, J. L., Wilson, T. E. ve Moran, J. V. (2019). Genome-wide de novo L1 Retrotransposition Connects Endonuclease Activity with Replication. *Cell*. doi:10.1016/j.cell.2019.02.050
- Fueyo, R., Judd, J., Feschotte, C. ve Wysocka, J. (2022). Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 23(7), 481-497. doi:10.1038/s41580-022-00457-y
- Fuhrer, D. (2006). Molecular determination of benign and malignant thyroid tumors. *Expert Rev Endocrinol Metab*, 1(6), 763-773. doi:10.1586/17446651.1.6.763
- Fullmer, T., Cabanillas, M. E. ve Zafereo, M. (2021). Novel Therapeutics in Radioactive Iodine-Resistant Thyroid Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 12, 720723. doi:10.3389/fendo.2021.720723
- Fusco, A., Chiappetta, G., Hui, P., Garcia-Rostan, G., Golden, L., Kinder, B. K., Dillon, D. A., Giuliano, A., Cirafici, A. M., Santoro, M., Rosai, J. ve Tallini, G. (2002). Assessment of RET/PTC oncogene activation and clonality in thyroid nodules with incomplete morphological evidence of papillary carcinoma: a search for the early precursors of papillary cancer. *Am J Pathol*, 160(6), 2157-2167. doi:10.1016/S0002-9440(10)61164-9

- Gao, L., Ge, C., Wang, S., Xu, X., Feng, Y., Li, X., Wang, C., Wang, Y., Dai, F. ve Xie, S. (2020). The Role of p53-Mediated Signaling in the Therapeutic Response of Colorectal Cancer to 9F, a Spermine-Modified Naphthalene Diimide Derivative. *Cancers (Basel)*, 12(3). doi:10.3390/cancers12030528
- Gao, X., Liu, Q., Chen, X., Chen, S., Yang, J., Liu, Q. ve Cheng, Y. (2021). Screening of tumor grade-related mRNAs and lncRNAs for Esophagus Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Lab Anal*, 35(6), e23797. doi:10.1002/jcla.23797
- Garcia-Heredia, J. M., Verdugo Sivianes, E. M., Lucena-Cacace, A., Molina-Pinelo, S. ve Carnero, A. (2016). Numb-like (NumbL) downregulation increases tumorigenicity, cancer stem cell-like properties and resistance to chemotherapy. *Oncotarget*, 7(39), 63611-63628. doi:10.18632/oncotarget.11553
- Gaykalova, D. A., Zizkova, V., Guo, T., Tiscareno, I., Wei, Y., Vatapalli, R., Hennessey, P. T., Ahn, J., Danilova, L., Khan, Z., Bishop, J. A., Gutkind, J. S., Koch, W. M., Westra, W. H., Fertig, E. J., Ochs, M. F. ve Califano, J. A. (2017). Integrative computational analysis of transcriptional and epigenetic alterations implicates DTX1 as a putative tumor suppressor gene in HNSCC. *Oncotarget*, 8(9), 15349-15363. doi:10.18632/oncotarget.14856
- Gbenedio, O. M., Bonnans, C., Grun, D., Wang, C. Y., Hatch, A. J., Mahoney, M. R., Barras, D., Matli, M., Miao, Y., Garcia, K. C., Tejpar, S., Delorenzi, M., Venook, A. P., Nixon, A. B., Warren, R. S., Roose, J. P. ve Depeille, P. (2019). RasGRP1 is a potential biomarker to stratify anti-EGFR therapy response in colorectal cancer. *JCI Insight*, 5. doi:10.1172/jci.insight.127552
- Gerdes, P., Richardson, S. R., Mager, D. L. ve Faulkner, G. J. (2016). Transposable elements in the mammalian embryo: pioneers surviving through stealth and service. *Genome Biol*, 17, 100. doi:10.1186/s13059-016-0965-5
- Geropoulos, G., Psarras, K., Papaioannou, M., Giannis, D., Meitanidou, M., Kaprinotis, K., Symeonidis, N., Pavlidis, E. T., Pavlidis, T. E., Sapalidis, K., Ahmed, N. M., Abdel-Aziz, T. E. ve Eddama, M. M. R. (2022). Circulating microRNAs and Clinicopathological Findings of Papillary Thyroid Cancer: A Systematic Review. *In Vivo*, 36(4), 1551-1569. doi:10.21873/invivo.12866
- Gillanders, S. L. ve O'Neill, J. P. (2018). Prognostic markers in well differentiated papillary and follicular thyroid cancer (WDTC). *Eur J Surg Oncol*, 44(3), 286-296. doi:10.1016/j.ejso.2017.07.013
- Gomes-Filho, J. V., Daume, M. ve Randau, L. (2018). Unique Archaeal Small RNAs. *Annu Rev Genet*, 52, 465-487. doi:10.1146/annurev-genet-120417-031300
- Gonzalez-Reymundez, A. ve Vazquez, A. I. (2020). Multi-omic signatures identify pan-cancer classes of tumors beyond tissue of origin. *Sci Rep*, 10(1), 8341. doi:10.1038/s41598-020-65119-5
- Grabundzija, I., Hickman, A. B. ve Dyda, F. (2018). Helraiser intermediates provide insight into the mechanism of eukaryotic replicative transposition. *Nat Commun*, 9(1), 1278. doi:10.1038/s41467-018-03688-w
- Grundy, E. E., Diab, N. ve Chiappinelli, K. B. (2022). Transposable element regulation and expression in cancer. *FEBS J*, 289(5), 1160-1179. doi:10.1111/febs.15722
- Gu, Z., Eils, R. ve Schlesner, M. (2016). Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. *Bioinformatics*, 32(18), 2847-2849. doi:10.1093/bioinformatics/btw313

- Gu, Z., Gu, L., Eils, R., Schlesner, M. ve Brors, B. (2014). circlize Implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics*, 30(19), 2811-2812. doi:10.1093/bioinformatics/btu393
- Gualtieri, A., Andreola, F., Sciamanna, I., Sinibaldi-Vallebona, P., Serafino, A. ve Spadafora, C. (2013). Increased expression and copy number amplification of LINE-1 and SINE B1 retrotransposable elements in murine mammary carcinoma progression. *Oncotarget*, 4(11), 1882-1893. doi:10.18632/oncotarget.1188
- Gudmundsson, J., Thorleifsson, G., Sigurdsson, J. K., Stefansdottir, L., Jonasson, J. G., Gudjonsson, S. A., Gudbjartsson, D. F., Masson, G., Johannsdottir, H., Halldorsson, G. H., Stacey, S. N., Helgason, H., Sulem, P., Senter, L., He, H., Liyanarachchi, S., Ringel, M. D., Aguillo, E., Panadero, A., Prats, E., Garcia-Castano, A., De Juan, A., Rivera, F., Xu, L., Kiemeny, L. A., Eyjolfsson, G. I., Sigurdardottir, O., Olafsson, I., Kristvinsson, H., Netea-Maier, R. T., Jonsson, T., Mayordomo, J. I., Plantinga, T. S., Hjartarson, H., Hrafnkelsson, J., Sturgis, E. M., Thorsteinsdottir, U., Rafnar, T., de la Chapelle, A. ve Stefansson, K. (2017). A genome-wide association study yields five novel thyroid cancer risk loci. *Nat Commun*, 8, 14517. doi:10.1038/ncomms14517
- Guo, Z., Yan, X., Song, C., Wang, Q., Wang, Y., Liu, X. P., Huang, J., Li, S. ve Hu, W. (2021). FAT3 Mutation Is Associated With Tumor Mutation Burden and Poor Prognosis in Esophageal Cancer. *Front Oncol*, 11, 603660. doi:10.3389/fonc.2021.603660
- Han, B., Yang, M., Yang, X., Liu, M., Xie, Q., Fan, G., Hosseini, D. K., Yu, J., Song, P., Chen, X. ve Sun, H. (2021). Systematic Analysis of Survival-Associated Alternative Splicing Signatures in Thyroid Carcinoma. *Front Oncol*, 11, 561457. doi:10.3389/fonc.2021.561457
- Han, J., Chen, M., Fang, Q., Zhang, Y., Wang, Y., Esma, J. ve Qiao, H. (2019). Prediction of the Prognosis Based on Chromosomal Instability-Related DNA Methylation Patterns of ELOVL2 and UBAC2 in PTCs. *Mol Ther Nucleic Acids*, 18, 650-660. doi:10.1016/j.omtn.2019.09.027
- Han, J. R., Jung, J. H., Kim, W. W., Lee, J., Park, H. Y., Kim, H. J. ve Park, J.-Y. (2017). Bilateral Papillary Thyroid Cancer Increases the Risk of Lymph Node Metastasis Compared with Unilateral Multifocal Papillary Thyroid Cancer. *Journal of Endocrine Surgery*, 17(2). doi:10.16956/jes.2017.17.2.63
- Han, J. S., Szak, S. T. ve Boeke, J. D. (2004). Transcriptional disruption by the L1 retrotransposon and implications for mammalian transcriptomes. *Nature*, 429(6989), 268-274. doi:10.1038/nature02536
- Hancks, D. C. ve Kazazian, H. H., Jr. (2016). Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mob DNA*, 7, 9. doi:10.1186/s13100-016-0065-9
- Hasumi, H., Baba, M., Hasumi, Y., Lang, M., Huang, Y., Oh, H. F., Matsuo, M., Merino, M. J., Yao, M., Ito, Y., Furuya, M., Iribe, Y., Kodama, T., Southon, E., Tassarollo, L., Nagashima, K., Haines, D. C., Linehan, W. M. ve Schmidt, L. S. (2015). Folliculin-interacting proteins Fnip1 and Fnip2 play critical roles in kidney tumor suppression in cooperation with Flcn. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(13), E1624-1631. doi:10.1073/pnas.1419502112
- He, H., Li, W., Liyanarachchi, S., Wang, Y., Yu, L., Genutis, L. K., Maharry, S., Phay, J. E., Shen, R., Brock, P. ve de la Chapelle, A. (2018). The Role of NRG1 in the Predisposition to Papillary Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 103(4), 1369-1379. doi:10.1210/jc.2017-01798
- He, X., Lei, S., Zhang, Q., Ma, L., Li, N. ve Wang, J. (2020). Dereglulation of cell adhesion molecules is associated with progression and poor outcomes in endometrial cancer:

- Analysis of The Cancer Genome Atlas data. *Oncol Lett*, 19(3), 1906-1914. doi:10.3892/ol.2020.11295
- Helman, E., Lawrence, M. S., Stewart, C., Sougnez, C., Getz, G. ve Meyerson, M. (2014). Somatic retrotransposition in human cancer revealed by whole-genome and exome sequencing. *Genome Res*, 24(7), 1053-1063. doi:10.1101/gr.163659.113
- Hermant, C. ve Torres-Padilla, M. E. (2021). TFs for TEs: the transcription factor repertoire of mammalian transposable elements. *Genes Dev*, 35(1-2), 22-39. doi:10.1101/gad.344473.120
- Houten, P. V., Netea-Maier, R. T. ve Smit, J. W. (2022). Differentiated thyroid carcinoma: An update. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 101687. doi:10.1016/j.beem.2022.101687
- Huang, J., Chen, W., Jie, Z. ve Jiang, M. (2022). Comprehensive Analysis of Immune Implications and Prognostic Value of SPI1 in Gastric Cancer. *Front Oncol*, 12, 820568. doi:10.3389/fonc.2022.820568
- Huang, S. P., Chen, Y. T., Chen, L. C., Lee, C. H., Huang, C. Y., Yu, C. C., Lin, V. C., Lu, T. L. ve Bao, B. Y. (2021). NRG1 Genetic Variant Influences the Efficacy of Androgen-Deprivation Therapy in Men with Prostate Cancer. *Biomedicines*, 9(5). doi:10.3390/biomedicines9050528
- Huang, Y. H., Cai, K., Xu, P. P., Wang, L., Huang, C. X., Fang, Y., Cheng, S., Sun, X. J., Liu, F., Huang, J. Y., Ji, M. M. ve Zhao, W. L. (2021). CREBBP/EP300 mutations promoted tumor progression in diffuse large B-cell lymphoma through altering tumor-associated macrophage polarization via FBXW7-NOTCH-CCL2/CSF1 axis. *Signal Transduct Target Ther*, 6(1), 10. doi:10.1038/s41392-020-00437-8
- Hubley, R., Finn, R. D., Clements, J., Eddy, S. R., Jones, T. A., Bao, W., Smit, A. F. ve Wheeler, T. J. (2016). The Dfam database of repetitive DNA families. *Nucleic Acids Res*, 44(D1), D81-89. doi:10.1093/nar/gkv1272
- Hulme, A. E., Kulpa, D. A., Perez, J. L. G. ve Moran, J. V. (2006). The Impact of LINE-1 Retro transposition on the Human Genome. In J. R. Lupski ve P. Stankiewicz (Eds.), *Genomic Disorders: The Genomic Basis of Disease* (pp. 35-55). Totowa, NJ: Humana Press.
- Hunt, J. L., Baloch, Z. W., Barnes, L., Swalsky, P. A., Trusky, C. L., Sesatomi, E., Finkelstein, S. ve LiVolsi, V. A. (2002). Loss of heterozygosity mutations of tumor suppressor genes in cytologically atypical areas in chronic lymphocytic thyroiditis. *Endocr Pathol*, 13(4), 321-330. doi:10.1385/ep:13:4:321
- Ieni, A., Barresi, V., Rigoli, L., Caruso, R. A. ve Tuccari, G. (2015). HER2 Status in Premalignant, Early, and Advanced Neoplastic Lesions of the Stomach. *Dis Markers*, 2015, 234851. doi:10.1155/2015/234851
- Ioannidis, J. P., Castaldi, P. ve Evangelou, E. (2010). A compendium of genome-wide associations for cancer: critical synopsis and reappraisal. *J Natl Cancer Inst*, 102(12), 846-858. doi:10.1093/jnci/djq173
- Iskow, R. C., McCabe, M. T., Mills, R. E., Torene, S., Pittard, W. S., Neuwald, A. F., Van Meir, E. G., Vertino, P. M. ve Devine, S. E. (2010). Natural mutagenesis of human genomes by endogenous retrotransposons. *Cell*, 141(7), 1253-1261. doi:10.1016/j.cell.2010.05.020
- Ivancevic, A. M., Kortschak, R. D., Bertozzi, T. ve Adelson, D. L. (2016). LINEs between Species: Evolutionary Dynamics of LINE-1 Retrotransposons across the Eukaryotic Tree of Life. *Genome Biol Evol*, 8(11), 3301-3322. doi:10.1093/gbe/evw243

- Janjua, N. ve Wreesmann, V. B. (2018). Aggressive differentiated thyroid cancer. *Eur J Surg Oncol*, 44(3), 367-377. doi:10.1016/j.ejso.2017.09.019
- Jiang, J. C., Rothnagel, J. A. ve Upton, K. R. (2021). Widespread Exaptation of L1 Transposons for Transcription Factor Binding in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*, 22(11). doi:10.3390/ijms22115625
- Jiang, Z. C., Chen, X. J., Zhou, Q., Gong, X. H., Chen, X. ve Wu, W. J. (2019). Downregulated LRRK2 gene expression inhibits proliferation and migration while promoting the apoptosis of thyroid cancer cells by inhibiting activation of the JNK signaling pathway. *Int J Oncol*, 55(1), 21-34. doi:10.3892/ijo.2019.4816
- Jin, M., Song, D. E., Ahn, J., Song, E., Lee, Y. M., Sung, T. Y., Kim, T. Y., Kim, W. B., Shong, Y. K., Jeon, M. J. ve Kim, W. G. (2021). Genetic Profiles of Aggressive Variants of Papillary Thyroid Carcinomas. *Cancers (Basel)*, 13(4). doi:10.3390/cancers13040892
- Jung, H., Lee, K. S. ve Choi, J. K. (2021). Comprehensive characterisation of intronic mis-splicing mutations in human cancers. *Oncogene*, 40(7), 1347-1361. doi:10.1038/s41388-020-01614-3
- Kaliszewski, K., Diakowska, D., Wojtczak, B., Forkasiewicz, Z., Pupka, D., Nowak, L. ve Rudnicki, J. (2019). Which papillary thyroid microcarcinoma should be treated as "true cancer" and which as "precancer"? *World J Surg Oncol*, 17(1), 91. doi:10.1186/s12957-019-1638-0
- Kartal, K., Besler, E., Aygün, N., Öz, A., Bozdağ, E., Yılmaz Özgüven, B., Çitgez, B., Yetkin, G., Mihmanlı, M. ve Uludağ, M. (2017). The prognostic importance of bilaterality in patients with papillary thyroid cancer. *SiSli Etfal Hastanesi Tip Bulteni / The Medical Bulletin of Sisli Hospital*, 91-95. doi:10.5350/semb.20170608051635
- Karzai, S., Zhang, Z., Sutton, W., Prescott, J., Segev, D. L., McAdams-DeMarco, M., Biswal, S. S., Ramanathan, M., Jr. ve Mathur, A. (2022). Ambient particulate matter air pollution is associated with increased risk of papillary thyroid cancer. *Surgery*, 171(1), 212-219. doi:10.1016/j.surg.2021.05.002
- Kasaian, K., Wiseman, S. M., Walker, B. A., Schein, J. E., Zhao, Y., Hirst, M., Moore, R. A., Mungall, A. J., Marra, M. A. ve Jones, S. J. (2015). The genomic and transcriptomic landscape of anaplastic thyroid cancer: implications for therapy. *BMC Cancer*, 15, 984. doi:10.1186/s12885-015-1955-9
- Katz-Summercorn, A. C., Jammula, S., Frangou, A., Peneva, I., O'Donovan, M., Tripathi, M., Malhotra, S., di Pietro, M., Abbas, S., Devonshire, G., Januszewicz, W., Blasko, A., Nowicki-Osuch, K., MacRae, S., Northrop, A., Redmond, A. M., Wedge, D. C. ve Fitzgerald, R. C. (2022). Multi-omic cross-sectional cohort study of pre-malignant Barrett's esophagus reveals early structural variation and retrotransposon activity. *Nat Commun*, 13(1), 1407. doi:10.1038/s41467-022-28237-4
- Khatami, F. ve Tavangar, S. M. (2018). A Review of Driver Genetic Alterations in Thyroid Cancers. *Iran J Pathol*, 13(2), 125-135. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30697281>
- Kim, H. C., Lee, J. Y., Sung, H., Choi, J. Y., Park, S. K., Lee, K. M., Kim, Y. J., Go, M. J., Li, L., Cho, Y. S., Park, M., Kim, D. J., Oh, J. H., Kim, J. W., Jeon, J. P., Jeon, S. Y., Min, H., Kim, H. M., Park, J., Yoo, K. Y., Noh, D. Y., Ahn, S. H., Lee, M. H., Kim, S. W., Lee, J. W., Park, B. W., Park, W. Y., Kim, E. H., Kim, M. K., Han, W., Lee, S. A., Matsuo, K., Shen, C. Y., Wu, P. E., Hsiung, C. N., Lee, J. Y., Kim, H. L., Han, B. G. ve Kang, D. (2012). A genome-wide association study identifies a breast cancer risk variant in ERBB4 at 2q34: results from the Seoul Breast Cancer Study. *Breast Cancer Res*, 14(2), R56. doi:10.1186/bcr3158

- Kim, K., Cho, S. W., Park, Y. J., Lee, K. E., Lee, D. W. ve Park, S. K. (2021). Association between Iodine Intake, Thyroid Function, and Papillary Thyroid Cancer: A Case-Control Study. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 36(4), 790-799. doi:10.3803/EnM.2021.1034
- Kim, M. J., Kim, J. K., Kim, G. J., Kang, S. W., Lee, J., Jeong, J. J., Chung, W. Y., Kim, D. ve Nam, K. H. (2022). TERT Promoter and BRAF V600E Mutations in Papillary Thyroid Cancer: A Single-Institution Experience in Korea. *Cancers (Basel)*, 14(19). doi:10.3390/cancers14194928
- Kitahara, C. M. ve Sosa, J. A. (2016). The changing incidence of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*, 12(11), 646-653. doi:10.1038/nrendo.2016.110
- Kitahara, C. M. ve Sosa, J. A. (2020). Understanding the ever-changing incidence of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*, 16(11), 617-618. doi:10.1038/s41574-020-00414-9
- Kofanova, O., Bellora, C., Garcia Frasilho, S., Antunes, L., Hamot, G., Mathay, C., Mommaerts, K., Muller, A., DeWitt, B. ve Betsou, F. (2020). Standardization of the preanalytical phase of DNA extraction from fixed tissue for next-generation sequencing analyses. *N Biotechnol*, 54, 52-61. doi:10.1016/j.nbt.2019.07.005
- Kohler, A., Chen, B., Gemignani, F., Elisei, R., Romei, C., Figlioli, G., Cipollini, M., Cristaudo, A., Bambi, F., Hoffmann, P., Herms, S., Kalembe, M., Kula, D., Harris, S., Broderick, P., Houlston, R., Pastor, S., Marcos, R., Velazquez, A., Jarzab, B., Hemminki, K., Landi, S. ve Forsti, A. (2013). Genome-wide association study on differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(10), E1674-1681. doi:10.1210/jc.2013-1941
- Kohlrausch, F. B., Berteli, T. S., Wang, F., Navarro, P. A. ve Keefe, D. L. (2022). Control of LINE-1 Expression Maintains Genome Integrity in Germline and Early Embryo Development. *Reprod Sci*, 29(2), 328-340. doi:10.1007/s43032-021-00461-1
- Kojima, K. K. (2020). Structural and sequence diversity of eukaryotic transposable elements. *Genes Genet Syst*, 94(6), 233-252. doi:10.1266/ggs.18-00024
- Kong, Y., Rose, C. M., Cass, A. A., Williams, A. G., Darwish, M., Lianoglou, S., Haverty, P. M., Tong, A. J., Blanchette, C., Albert, M. L., Mellman, I., Bourgon, R., Greally, J., Jhunjhunwala, S. ve Chen-Harris, H. (2019). Transposable element expression in tumors is associated with immune infiltration and increased antigenicity. *Nat Commun*, 10(1), 5228. doi:10.1038/s41467-019-13035-2
- Kopera, H. C., Moldovan, J. B., Morrish, T. A., Garcia-Perez, J. L. ve Moran, J. V. (2011). Similarities between long interspersed element-1 (LINE-1) reverse transcriptase and telomerase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(51), 20345-20350. doi:10.1073/pnas.1100275108
- Kvikstad, E. M., Piazza, P., Taylor, J. C. ve Lunter, G. (2018). A high throughput screen for active human transposable elements. *BMC Genomics*, 19(1), 115. doi:10.1186/s12864-018-4485-4
- Landa, I., Pozdeyev, N., Korch, C., Marlow, L. A., Smallridge, R. C., Copland, J. A., Henderson, Y. C., Lai, S. Y., Clayman, G. L., Onoda, N., Tan, A. C., Garcia-Rendueles, M. E. R., Knauf, J. A., Haugen, B. R., Fagin, J. A. ve Schweppe, R. E. (2019). Comprehensive Genetic Characterization of Human Thyroid Cancer Cell Lines: A Validated Panel for Preclinical Studies. *Clin Cancer Res*, 25(10), 3141-3151. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2953
- Landriscina, M., Fabiano, A., Altamura, S., Bagala, C., Piscazzi, A., Cassano, A., Spadafora, C., Giorgino, F., Barone, C. ve Cignarelli, M. (2005). Reverse transcriptase inhibitors down-regulate cell proliferation in vitro and in vivo and restore thyrotropin signaling and iodine uptake in human thyroid anaplastic carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(10), 5663-5671. doi:10.1210/jc.2005-0367

- Lavasanifar, A., Sharp, C. N., Korte, E. A., Yin, T., Hosseinnajad, K. ve Jortani, S. A. (2019). Long interspersed nuclear element-1 mobilization as a target in cancer diagnostics, prognostics and therapeutics. *Clin Chim Acta*, 493, 52-62. doi:10.1016/j.cca.2019.02.015
- Lee, E., Iskow, R., Yang, L., Gokcumen, O., Haseley, P., Luquette, L. J., 3rd, Lohr, J. G., Harris, C. C., Ding, L., Wilson, R. K., Wheeler, D. A., Gibbs, R. A., Kucherlapati, R., Lee, C., Kharchenko, P. V., Park, P. J. ve Cancer Genome Atlas Research, N. (2012). Landscape of somatic retrotransposition in human cancers. *Science*, 337(6097), 967-971. doi:10.1126/science.1222077
- Lee, Y. R., Kim, G., Lee, H. W., Tak, W. Y., Park, S. Y., Jang, S. Y., Kweon, Y. O., Park, J. G., Han, Y. S., Chun, J. M., Han, J. R. ve Hur, K. (2021). Long interspersed nuclear element-1 hypomethylation is associated with poor outcomes via the activation of ST18 in human hepatocellular carcinoma. *Medicine (Baltimore)*, 100(16), e25552. doi:10.1097/MD.00000000000025552
- Lenze, D., Müller, H.-H. ve Hummel, M. (2012). Considerations for the use of formalin-fixed and paraffin-embedded tissue specimens for clonality analysis. *Journal of Hematopathology*, 5(1), 27-34. doi:10.1007/s12308-012-0138-8
- Li, H. (2013). Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv: Genomics*.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R. ve Genome Project Data Processing, S. (2009). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078-2079. doi:10.1093/bioinformatics/btp352
- Li, L. Y., Chen, X. S., Wang, K. S., Guan, Y. D., Ren, X. C., Cao, D. S., Sun, X. Y., Li, A. X., Tao, Y. G., Zhang, Y., Yin, M. Z., Wang, X. L., Wu, M. H., Yang, J. M. ve Cheng, Y. (2020). RSK2 protects human breast cancer cells under endoplasmic reticulum stress through activating AMPK α 2-mediated autophagy. *Oncogene*, 39(43), 6704-6718. doi:10.1038/s41388-020-01447-0
- Li, N., Spetz, M. R. ve Ho, M. (2020). The Role of Glypicans in Cancer Progression and Therapy. *J Histochem Cytochem*, 68(12), 841-862. doi:10.1369/0022155420933709
- Lin, R. X., Yang, S. L., Jia, Y., Wu, J. C., Xu, Z. ve Zhang, H. (2022). Epigenetic regulation of papillary thyroid carcinoma by long non-coding RNAs. *Semin Cancer Biol*, 32, 253-260. doi:10.1016/j.semcancer.2021.03.027
- Lincango-Naranjo, E., Solis-Pazmino, P., El Kawkgi, O., Salazar-Vega, J., Garcia, C., Ledesma, T., Rojas, T., Alvarado-Mafla, B., Young, G., Dy, B., Ponce, O. J. ve Brito, J. P. (2021). Triggers of thyroid cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*, 72(3), 644-659. doi:10.1007/s12020-020-02588-8
- Liu, C. C., Prior, J., Piwnica-Worms, D. ve Bu, G. (2010). LRP6 overexpression defines a class of breast cancer subtype and is a target for therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(11), 5136-5141. doi:10.1073/pnas.0911220107
- Liu, J. ve Brown, R. E. (2011). Morphoproteomics demonstrates activation of mammalian target of rapamycin pathway in papillary thyroid carcinomas with nuclear translocation of MTOR in aggressive histological variants. *Mod Pathol*, 24(12), 1553-1559. doi:10.1038/modpathol.2011.121
- Liu, J., Xie, X., Xue, M., Wang, J., Chen, Q., Zhao, Z. ve Sheng, X. (2022). A Pan-Cancer Analysis of the Role of PBRM1 in Human Tumors. *Stem Cells Int*, 2022, 7676541. doi:10.1155/2022/7676541

- Liu, R., Bishop, J., Zhu, G., Zhang, T., Ladenson, P. W. ve Xing, M. (2017). Mortality Risk Stratification by Combining BRAF V600E and TERT Promoter Mutations in Papillary Thyroid Cancer: Genetic Duet of BRAF and TERT Promoter Mutations in Thyroid Cancer Mortality. *JAMA Oncol*, 3(2), 202-208. doi:10.1001/jamaoncol.2016.3288
- Liu, X., Teng, Y., Wu, X., Li, Z., Bao, B., Liu, Y., Qu, X. ve Zhang, L. (2020). The E3 Ubiquitin Ligase Cbl-b Predicts Favorable Prognosis in Breast Cancer. *Front Oncol*, 10, 695. doi:10.3389/fonc.2020.00695
- Liu, Y. J., Qiang, W., Shi, J., Lv, S. Q., Ji, M. J. ve Shi, B. Y. (2013). Expression and significance of IGF-1 and IGF-1R in thyroid nodules. *Endocrine*, 44(1), 158-164. doi:10.1007/s12020-012-9864-z
- Lonjou, C., Damiola, F., Moissonnier, M., Durand, G., Malakhova, I., Masyakin, V., Le Calvez-Kelm, F., Cardis, E., Byrnes, G., Kesminiene, A. ve Lesueur, F. (2017). Investigation of DNA repair-related SNPs underlying susceptibility to papillary thyroid carcinoma reveals MGMT as a novel candidate gene in Belarusian children exposed to radiation. *BMC Cancer*, 17(1), 328. doi:10.1186/s12885-017-3314-5
- Lu, N., Liu, J., Xu, M., Liang, J., Wang, Y., Wu, Z., Xing, Y. ve Diao, F. (2021). CSMD3 is Associated with Tumor Mutation Burden and Immune Infiltration in Ovarian Cancer Patients. *Int J Gen Med*, 14, 7647-7657. doi:10.2147/IJGM.S335592
- Lunter, G. ve Goodson, M. (2011). Stampy: a statistical algorithm for sensitive and fast mapping of Illumina sequence reads. *Genome Res*, 21(6), 936-939. doi:10.1101/gr.111120.110
- Lv, C., Gao, Y., Yao, J., Li, Y., Lou, Q., Zhang, M., Tian, Q., Yang, Y. ve Sun, D. (2021). High Iodine Induces the Proliferation of Papillary and Anaplastic Thyroid Cancer Cells via AKT/Wee1/CDK1 Axis. *Front Oncol*, 11, 622085. doi:10.3389/fonc.2021.622085
- Ma, D., Hovey, R. L., Zhang, Z., Fye, S., Huettner, P. C., Borecki, I. B. ve Rader, J. S. (2013). Genetic variations in EGFR and ERBB4 increase susceptibility to cervical cancer. *Gynecol Oncol*, 131(2), 445-450. doi:10.1016/j.ygyno.2013.07.113
- Ma, G., Babarinde, I. A., Zhou, X. ve Hutchins, A. P. (2022). Transposable Elements in Pluripotent Stem Cells and Human Disease. *Front Genet*, 13, 902541. doi:10.3389/fgene.2022.902541
- Maind, A. ve Raut, S. (2019). Identifying condition specific key genes from basal-like breast cancer gene expression data. *Comput Biol Chem*, 78, 367-374. doi:10.1016/j.compbiolchem.2018.12.022
- Mainieri, A. ve Haig, D. (2018). Lost in translation: The 3'-UTR of IGF1R as an ancient long noncoding RNA. *Evol Med Public Health*, 2018(1), 82-91. doi:10.1093/emph/eoy008
- Martincorena, I. ve Campbell, P. J. (2015). Somatic mutation in cancer and normal cells. *Science*, 349(6255), 1483-1489. doi:10.1126/science.aab4082
- Mayakonda, A., Lin, D. C., Assenov, Y., Plass, C. ve Koeffler, H. P. (2018). Maftools: efficient and comprehensive analysis of somatic variants in cancer. *Genome Res*, 28(11), 1747-1756. doi:10.1101/gr.239244.118
- McAvera, R. M. ve Crawford, L. J. (2020). TIF1 Proteins in Genome Stability and Cancer. *Cancers (Basel)*, 12(8). doi:10.3390/cancers12082094
- McCullers, T. J. ve Steiniger, M. (2017). Transposable elements in Drosophila. *Mob Genet Elements*, 7(3), 1-18. doi:10.1080/2159256X.2017.1318201
- McFarland, C. D., Korolev, K. S., Kryukov, G. V., Sunyaev, S. R. ve Mirny, L. A. (2013). Impact of deleterious passenger mutations on cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(8), 2910-2915. doi:10.1073/pnas.1213968110

- McHeik, S., Aptekar, L., Coopman, P., D'Hondt, V. ve Freiss, G. (2020). Dual Role of the PTPN13 Tyrosine Phosphatase in Cancer. *Biomolecules*, 10(12). doi:10.3390/biom10121659
- McLaren, W., Gil, L., Hunt, S. E., Riat, H. S., Ritchie, G. R., Thormann, A., Flicek, P. ve Cunningham, F. (2016). The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol*, 17(1), 122. doi:10.1186/s13059-016-0974-4
- Melo, M., Cameselle-Teijeiro, J. M., Eloy, C., Amendoeira, I., Soares, P., Caneiro-Gómez, J. ve Sobrinho-Simões, M. (2018). Therapeutic Options. In J. M. Cameselle-Teijeiro, C. Eloy ve M. Sobrinho-Simões (Eds.), *Rare Tumors of the Thyroid Gland: Diagnosis and WHO classification* (pp. 107-110). Cham: Springer International Publishing.
- Miki, Y., Nishisho, I., Horii, A., Miyoshi, Y., Utsunomiya, J., Kinzler, K. W., Vogelstein, B. ve Nakamura, Y. (1992). Disruption of the APC gene by a retrotransposal insertion of L1 sequence in a colon cancer. *Cancer Res*, 52(3), 643-645. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1310068>
- Miller, I., Totrov, M., Korotchikina, L., Kazyulkin, D. N., Gudkov, A. V. ve Korolev, S. (2021). Structural dissection of sequence recognition and catalytic mechanism of human LINE-1 endonuclease. *Nucleic Acids Res*, 49(19), 11350-11366. doi:10.1093/nar/gkab826
- Mills, R. E., Bennett, E. A., Iskow, R. C. ve Devine, S. E. (2007). Which transposable elements are active in the human genome? *Trends Genet*, 23(4), 183-191. doi:10.1016/j.tig.2007.02.006
- Mir, A. A., Philippe, C. ve Cristofari, G. (2015). euL1db: the European database of L1HS retrotransposon insertions in humans. *Nucleic Acids Res*, 43(Database issue), D43-47. doi:10.1093/nar/gku1043
- Miranda-Filho, A., Lortet-Tieulent, J., Bray, F., Cao, B., Franceschi, S., Vaccarella, S. ve Dal Maso, L. (2021). Thyroid cancer incidence trends by histology in 25 countries: a population-based study. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 9(4), 225-234. doi:10.1016/S2213-8587(21)00027-9
- Mita, P., Sun, X., Fenyő, D., Kahler, D. J., Li, D., Agmon, N., Wudzinska, A., Keegan, S., Bader, J. S., Yun, C. ve Boeke, J. D. (2020). BRCA1 and S phase DNA repair pathways restrict LINE-1 retrotransposition in human cells. *Nat Struct Mol Biol*, 27(2), 179-191. doi:10.1038/s41594-020-0374-z
- Modoni, S., Landriscina, M., Fabiano, A., Fersini, A., Urbano, N., Ambrosi, A. ve Cignarelli, M. (2007). Reinduction of cell differentiation and 131I uptake in a poorly differentiated thyroid tumor in response to the reverse transcriptase (RT) inhibitor nevirapine. *Cancer Biother Radiopharm*, 22(2), 289-295. doi:10.1089/cbr.2006.316
- Moore, G., Annett, S., McClements, L. ve Robson, T. (2020). Top Notch Targeting Strategies in Cancer: A Detailed Overview of Recent Insights and Current Perspectives. *Cells*, 9(6). doi:10.3390/cells9061503
- Moreira, D. A., de Lanna, C. A., da Cruz, J. G. V. ve Boroni, M. (2021). To Build or To Break: The Dual Impact of Interspersed Transposable Elements in Cancer. In L. A. Haddad (Ed.), *Human Genome Structure, Function and Clinical Considerations* (pp. 245-273). Cham: Springer International Publishing.
- Munoz-Lopez, M., Vilar-Astasio, R., Tristan-Ramos, P., Lopez-Ruiz, C. ve Garcia-Perez, J. L. (2016). Study of Transposable Elements and Their Genomic Impact. *Methods Mol Biol*, 1400, 1-19. doi:10.1007/978-1-4939-3372-3_1
- Nagahashi, M., Shimada, Y., Ichikawa, H., Nakagawa, S., Sato, N., Kaneko, K., Homma, K., Kawasaki, T., Kodama, K., Lyle, S., Takabe, K. ve Wakai, T. (2017). Formalin-fixed

- paraffin-embedded sample conditions for deep next generation sequencing. *J Surg Res*, 220, 125-132. doi:10.1016/j.jss.2017.06.077
- Nath, M. C. ve Erickson, L. A. (2018). Aggressive Variants of Papillary Thyroid Carcinoma: Hobnail, Tall Cell, Columnar, and Solid. *Adv Anat Pathol*, 25(3), 172-179. doi:10.1097/PAP.0000000000000184
- Nechifor-Boila, A. C., Loghin, A., Vacariu, V., Halatiu, V. B. ve Borda, A. (2015). The storage period of the formalin-fixed paraffin-embedded tumor blocks does not influence the concentration and purity of the isolated DNA in a series of 83 renal and thyroid carcinomas. *Rom J Morphol Embryol*, 56(2 Suppl), 759-763. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26429169>
- Nervo, A., Retta, F., Ragni, A., Piovesan, A., Gallo, M. ve Arvat, E. (2022). Management of Progressive Radioiodine-Refractory Thyroid Carcinoma: Current Perspective. *Cancer Manag Res*, 14, 3047-3062. doi:10.2147/CMAR.S340967
- Ngernsombat, C., Prattapong, P., Larbcharoensub, N., Khotthong, K. ve Janvilisri, T. (2021). WNT8B as an Independent Prognostic Marker for Nasopharyngeal Carcinoma. *Curr Oncol*, 28(4), 2529-2539. doi:10.3390/curroncol28040230
- Nguyen, T. H. M., Carreira, P. E., Sanchez-Luque, F. J., Schauer, S. N., Fagg, A. C., Richardson, S. R., Davies, C. M., Jesuadian, J. S., Kempen, M. H. C., Troskie, R. L., James, C., Beaven, E. A., Wallis, T. P., Coward, J. I. G., Chetty, N. P., Crandon, A. J., Venter, D. J., Armes, J. E., Perrin, L. C., Hooper, J. D., Ewing, A. D., Upton, K. R. ve Faulkner, G. J. (2018). L1 Retrotransposon Heterogeneity in Ovarian Tumor Cell Evolution. *Cell Rep*, 23(13), 3730-3740. doi:10.1016/j.celrep.2018.05.090
- Nishikawa, Y., Nakayama, R., Obika, S., Ohsaki, E., Ueda, K. ve Honda, T. (2018). Inhibition of LINE-1 Retrotransposition by Capsaicin. *Int J Mol Sci*, 19(10). doi:10.3390/ijms19103243
- Niu, Y., Teng, X., Zhou, H., Shi, Y., Li, Y., Tang, Y., Zhang, P., Luo, H., Kang, Q., Xu, T. ve He, S. (2022). Characterizing mobile element insertions in 5675 genomes. *Nucleic Acids Res*, 50(5), 2493-2508. doi:10.1093/nar/gkac128
- Oishi, N., Kondo, T., Ebina, A., Sato, Y., Akaishi, J., Hino, R., Yamamoto, N., Mochizuki, K., Nakazawa, T., Yokomichi, H., Ito, K., Ishikawa, Y. ve Katoh, R. (2017). Molecular alterations of coexisting thyroid papillary carcinoma and anaplastic carcinoma: identification of TERT mutation as an independent risk factor for transformation. *Mod Pathol*, 30(11), 1527-1537. doi:10.1038/modpathol.2017.75
- Onda, M., Nagai, H., Yoshida, A., Miyamoto, S., Asaka, S. I., Akaishi, J., Takatsu, K., Nagahama, M., Ito, K., Shimizu, K. ve Emi, M. (2004). Up-regulation of transcriptional factor E2F1 in papillary and anaplastic thyroid cancers. *J Hum Genet*, 49(6), 312-318. doi:10.1007/s10038-004-0146-3
- Ong, E., Xiang, Z., Zhao, B., Liu, Y., Lin, Y., Zheng, J., Mungall, C., Courtot, M., Ruttenberg, A. ve He, Y. (2017). Ontobee: A linked ontology data server to support ontology term dereferencing, linkage, query and integration. *Nucleic Acids Res*, 45(D1), D347-D352. doi:10.1093/nar/gkw918
- Ovchinnikov, I., Rubin, A. ve Swergold, G. D. (2002). Tracing the LINEs of human evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(16), 10522-10527. doi:10.1073/pnas.152346799
- Pace-Asciak, P., Russell, J. O. ve Tufano, R. P. (2022). Surgical treatment of thyroid cancer: Established and novel approaches. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 101664. doi:10.1016/j.beem.2022.101664
- Pacini, F., Fuhrer, D., Elisei, R., Handkiewicz-Junak, D., Leboulleux, S., Luster, M., Schlumberger, M. ve Smit, J. W. (2022). 2022 ETA Consensus Statement: What are the

- indications for post-surgical radioiodine therapy in differentiated thyroid cancer? *Eur Thyroid J*, 11(1). doi:10.1530/ETJ-21-0046
- Panebianco, F., Nikitski, A. V., Nikiforova, M. N., Kaya, C., Yip, L., Condello, V., Wald, A. I., Nikiforov, Y. E. ve Chiosea, S. I. (2019). Characterization of thyroid cancer driven by known and novel ALK fusions. *Endocr Relat Cancer*, 26(11), 803-814. doi:10.1530/ERC-19-0325
- Papaioannou, M., Chorti, A. G., Chatzikyriakidou, A., Giannoulis, K., Bakkar, S. ve Papavramidis, T. S. (2021). MicroRNAs in Papillary Thyroid Cancer: What Is New in Diagnosis and Treatment. *Front Oncol*, 11, 755097. doi:10.3389/fonc.2021.755097
- Park, J., Kim, D., Lee, J. O., Park, H. C., Ryu, B. Y., Kim, J. H., Lee, S. H. ve Chung, Y. J. (2022). Dissection of molecular and histological subtypes of papillary thyroid cancer using alternative splicing profiles. *Exp Mol Med*, 54(3), 263-272. doi:10.1038/s12276-022-00740-0
- Paterson, A. L., Weaver, J. M., Eldridge, M. D., Tavare, S., Fitzgerald, R. C., Edwards, P. A. ve Consortium, O. C. (2015). Mobile element insertions are frequent in oesophageal adenocarcinomas and can mislead paired-end sequencing analysis. *BMC Genomics*, 16, 473. doi:10.1186/s12864-015-1685-z
- Patnala, R., Lee, S. H., Dahlstrom, J. E., Ohms, S., Chen, L., Dheen, S. T. ve Rangasamy, D. (2014). Inhibition of LINE-1 retrotransposon-encoded reverse transcriptase modulates the expression of cell differentiation genes in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 143(2), 239-253. doi:10.1007/s10549-013-2812-7
- Pavlicek, A. ve Jurka, J. (2006). Ancient Transposable Elements, Processed Pseudogenes, and Endogenous Retroviruses. In J. R. Lupski ve P. Stankiewicz (Eds.), *Genomic Disorders: The Genomic Basis of Disease* (pp. 57-72). Totowa, NJ: Humana Press.
- Pellegriti, G., Frasca, F., Regalbuto, C., Squatrito, S. ve Vigneri, R. (2013). Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol*, 2013, 965212. doi:10.1155/2013/965212
- Philippe, C., Vargas-Landin, D. B., Doucet, A. J., van Essen, D., Vera-Otarola, J., Kuciak, M., Corbin, A., Nigumann, P. ve Cristofari, G. (2016). Activation of individual L1 retrotransposon instances is restricted to cell-type dependent permissive loci. *Elife*, 5. doi:10.7554/eLife.13926
- Pitsava, G., Stratakis, C. A. ve Faucz, F. R. (2021). PRKAR1A and Thyroid Tumors. *Cancers (Basel)*, 13(15). doi:10.3390/cancers13153834
- Pizarro, J. G. ve Cristofari, G. (2016). Post-Transcriptional Control of LINE-1 Retrotransposition by Cellular Host Factors in Somatic Cells. *Front Cell Dev Biol*, 4, 14. doi:10.3389/fcell.2016.00014
- Platt, R. N., 2nd, Vandeweghe, M. W. ve Ray, D. A. (2018). Mammalian transposable elements and their impacts on genome evolution. *Chromosome Res*, 26(1-2), 25-43. doi:10.1007/s10577-017-9570-z
- Pradhan, R. K. ve Ramakrishna, W. (2022). Transposons: Unexpected players in cancer. *Gene*, 808, 145975. doi:10.1016/j.gene.2021.145975
- Prescott, J. D. ve Parangi, S. (2012). Bilaterality in papillary thyroid carcinoma: does it influence prognosis? *Ann Surg Oncol*, 19(1), 1-2. doi:10.1245/s10434-011-2098-0
- Protasova, M. S., Andreeva, T. V. ve Rogaev, E. I. (2021). Factors Regulating the Activity of LINE1 Retrotransposons. *Genes (Basel)*, 12(10). doi:10.3390/genes12101562

- Qiu, W., Xia, X., Qiu, Z., Guo, M. ve Yang, Z. (2017). RasGRP3 controls cell proliferation and migration in papillary thyroid cancer by regulating the Akt-MDM2 pathway. *Gene*, 633, 35-41. doi:10.1016/j.gene.2017.08.024
- Qiu, W., Yang, Z., Fan, Y. ve Zheng, Q. (2016). ZNRF3 is downregulated in papillary thyroid carcinoma and suppresses the proliferation and invasion of papillary thyroid cancer cells. *Tumour Biol*, 37(9), 12665-12672. doi:10.1007/s13277-016-5250-4
- Qiu, X., Jiao, J., Li, Y. ve Tian, T. (2016). Overexpression of FZD7 promotes glioma cell proliferation by upregulating TAZ. *Oncotarget*, 7(52), 85987-85999. doi:10.18632/oncotarget.13292
- Rahbari, R., Habibi, L., Garcia-Puche, J. L., Badge, R. M. ve Garcia-Perez, J. (2015). LINE-1 Retrotransposons and Their Role in Cancer. In P. Mehdi-pour (Ed.), *Epigenetics Territory and Cancer* (pp. 51-99). Dordrecht: Springer International Publishing.
- Richardson, S. R., Doucet, A. J., Kopera, H. C., Moldovan, J. B., Garcia-Perez, J. L. ve Moran, J. V. (2015). The Influence of LINE-1 and SINE Retrotransposons on Mammalian Genomes. *Microbiol Spectr*, 3(2), MDNA3-0061-2014. doi:10.1128/microbiolspec.MDNA3-0061-2014
- Richardson, S. R. ve Faulkner, G. J. (2018). Heritable L1 Retrotransposition Events During Development: Understanding Their Origins: Examination of heritable, endogenous L1 retrotransposition in mice opens up exciting new questions and research directions. *Bioessays*, 40(6), e1700189. doi:10.1002/bies.201700189
- Riesco-Eizaguirre, G., Galofre, J. C., Grande, E., Zafon Llopis, C., Ramon y Cajal Asensio, T., Navarro Gonzalez, E., Jimenez-Fonseca, P., Santamaria Sandi, J., Gomez Saez, J. M. ve Capdevila, J. (2016). Spanish consensus for the management of patients with advanced radioactive iodine refractory differentiated thyroid cancer. *Endocrinol Nutr*, 63(4), e17-24. doi:10.1016/j.endonu.2015.08.007
- Robinson, J. T., Thorvaldsdottir, H., Turner, D. ve Mesirov, J. P. (2022). igv.js: an embeddable JavaScript implementation of the Integrative Genomics Viewer (IGV). *Bioinformatics*, 39(1). doi:10.1093/bioinformatics/btac830
- Rodic, N. ve Burns, K. H. (2013). Long interspersed element-1 (LINE-1): passenger or driver in human neoplasms? *PLoS Genet*, 9(3), e1003402. doi:10.1371/journal.pgen.1003402
- Rodriguez-Martin, B., Alvarez, E. G., Baez-Ortega, A., Zamora, J., Supek, F., Demeulemeester, J., Santamarina, M., Ju, Y. S., Temes, J., Garcia-Souto, D., Detering, H., Li, Y., Rodriguez-Castro, J., Dueso-Barroso, A., Bruzos, A. L., Dentro, S. C., Blanco, M. G., Contino, G., Ardeljan, D., Tojo, M., Roberts, N. D., Zumalave, S., Edwards, P. A. W., Weischenfeldt, J., Puiggros, M., Chong, Z., Chen, K., Lee, E. A., Wala, J. A., Raine, K., Butler, A., Waszak, S. M., Navarro, F. C. P., Schumacher, S. E., Monlong, J., Maura, F., Bolli, N., Bourque, G., Gerstein, M., Park, P. J., Wedge, D. C., Beroukhi, R., Torrents, D., Korb, J. O., Martincorena, I., Fitzgerald, R. C., Van Loo, P., Kazazian, H. H., Burns, K. H., Group, P. S. V. W., Campbell, P. J., Tubio, J. M. C. ve Consortium, P. (2020). Pan-cancer analysis of whole genomes identifies driver rearrangements promoted by LINE-1 retrotransposition. *Nat Genet*, 52(3), 306-319. doi:10.1038/s41588-019-0562-0
- Romei, C. ve Elisei, R. (2021). A Narrative Review of Genetic Alterations in Primary Thyroid Epithelial Cancer. *Int J Mol Sci*, 22(4). doi:10.3390/ijms22041726
- Roos, D. ve de Boer, M. (2018). Retrotransposable genetic elements causing neutrophil defects. *Eur J Clin Invest*, 48 Suppl 2, e12953. doi:10.1111/eci.12953
- Rossi, E. D., Pantanowitz, L. ve Hornick, J. L. (2021). A worldwide journey of thyroid cancer incidence centred on tumour histology. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 9(4), 193-194. doi:10.1016/s2213-8587(21)00049-8

- Saenko, V. A. ve Rogounovitch, T. I. (2018). Genetic Polymorphism Predisposing to Differentiated Thyroid Cancer: A Review of Major Findings of the Genome-Wide Association Studies. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 33(2), 164-174. doi:10.3803/EnM.2018.33.2.164
- Sahu, S., Sridhar, D., Abnave, P., Kosaka, N., Dattani, A., Thompson, J. M., Hill, M. A. ve Aboobaker, A. (2021). Ongoing repair of migration-coupled DNA damage allows planarian adult stem cells to reach wound sites. *Elife*, 10. doi:10.7554/eLife.63779
- Salem, A. H., Myers, J. S., Otieno, A. C., Watkins, W. S., Jorde, L. B. ve Batzer, M. A. (2003). LINE-1 preTa elements in the human genome. *J Mol Biol*, 326(4), 1127-1146. doi:10.1016/s0022-2836(03)00032-9
- Sampathkumar, G., Nair, V., Menon, U. V., Smitha, N. V., Sundaram, S., Kumar, H., Pavithran, P. V., Bhavani, N., Menon, A. S., Abraham, N. ve Pullikkal, A. (2018). A Comparison of Clinicopathological Characteristics and Short-Term Outcome of Papillary Thyroid Carcinoma with Tall Cell Histology and Classic Papillary Thyroid Carcinoma: A Single-Institution Experience. *Indian J Endocrinol Metab*, 22(3), 405-409. doi:10.4103/ijem.IJEM_65_18
- Savage, A. L., Schumann, G. G., Breen, G., Bubb, V. J., Al-Chalabi, A. ve Quinn, J. P. (2019). Retrotransposons in the development and progression of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 90(3), 284-293. doi:10.1136/jnnp-2018-319210
- Schauer, S. N., Carreira, P. E., Shukla, R., Gerhardt, D. J., Gerdes, P., Sanchez-Luque, F. J., Nicoli, P., Kindlova, M., Ghisletti, S., Santos, A. D., Rapoud, D., Samuel, D., Faivre, J., Ewing, A. D., Richardson, S. R. ve Faulkner, G. J. (2018). L1 retrotransposition is a common feature of mammalian hepatocarcinogenesis. *Genome Res*, 28(5), 639-653. doi:10.1101/gr.226993.117
- Schmidbauer, B., Menhart, K., Hellwig, D. ve Grosse, J. (2017). Differentiated Thyroid Cancer-Treatment: State of the Art. *Int J Mol Sci*, 18(6). doi:10.3390/ijms18061292
- Schmidt, K. M., Hellerbrand, C., Ruemmele, P., Michalski, C. W., Kong, B., Kroemer, A., Hackl, C., Schlitt, H. J., Geissler, E. K. ve Lang, S. A. (2017). Inhibition of mTORC2 component RICTOR impairs tumor growth in pancreatic cancer models. *Oncotarget*, 8(15), 24491-24505. doi:10.18632/oncotarget.15524
- Sciamanna, I., De Luca, C. ve Spadafora, C. (2016). The Reverse Transcriptase Encoded by LINE-1 Retrotransposons in the Genesis, Progression, and Therapy of Cancer. *Front Chem*, 4, 6. doi:10.3389/fchem.2016.00006
- Scott, E. C. ve Devine, S. E. (2017). The Role of Somatic L1 Retrotransposition in Human Cancers. *Viruses*, 9(6). doi:10.3390/v9060131
- Scott, E. C., Gardner, E. J., Masood, A., Chuang, N. T., Vertino, P. M. ve Devine, S. E. (2016). A hot L1 retrotransposon evades somatic repression and initiates human colorectal cancer. *Genome Res*, 26(6), 745-755. doi:10.1101/gr.201814.115
- Shafique, K. ve Baloch, Z. (2019). Risk stratification of papillary thyroid carcinoma and its variants; from clinicopathologic features to molecular profiling. *Diagnostic Histopathology*, 25(5), 143-153. doi:10.1016/j.mpdhp.2019.02.001
- Shao, Y. C., Nie, X. C., Song, G. Q., Wei, Y., Xia, P. ve Xu, X. Y. (2018). Prognostic value of DKK2 from the Dickkopf family in human breast cancer. *Int J Oncol*, 53(6), 2555-2565. doi:10.3892/ijo.2018.4588
- Shi, L., Chen, H., Qin, Y. Y., Gan, T. Q. ve Wei, K. L. (2020). Clinical and biologic roles of PDGFRA in papillary thyroid cancer: a study based on immunohistochemical and in vitro analyses. *Int J Clin Exp Pathol*, 13(5), 1094-1107. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32509085>

- Shukla, R., Upton, K. R., Munoz-Lopez, M., Gerhardt, D. J., Fisher, M. E., Nguyen, T., Brennan, P. M., Baillie, J. K., Collino, A., Ghisletti, S., Sinha, S., Iannelli, F., Radaelli, E., Dos Santos, A., Rapoud, D., Guettier, C., Samuel, D., Natoli, G., Carninci, P., Ciccarelli, F. D., Garcia-Perez, J. L., Faivre, J. ve Faulkner, G. J. (2013). Endogenous retrotransposition activates oncogenic pathways in hepatocellular carcinoma. *Cell*, 153(1), 101-111. doi:10.1016/j.cell.2013.02.032
- Silaghi, H., Lozovanu, V., Georgescu, C. E., Pop, C., Nasui, B. A., Catoi, A. F. ve Silaghi, C. A. (2022). State of the Art in the Current Management and Future Directions of Targeted Therapy for Differentiated Thyroid Cancer. *Int J Mol Sci*, 23(7). doi:10.3390/ijms23073470
- Silver, C. E., Owen, R. P., Rodrigo, J. P., Rinaldo, A., Devaney, K. O. ve Ferlito, A. (2011). Aggressive variants of papillary thyroid carcinoma. *Head Neck*, 33(7), 1052-1059. doi:10.1002/hed.21494
- Sipos, J. A. ve Ringel, M. D. (2022). Molecular testing in thyroid cancer diagnosis and management. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 101680. doi:10.1016/j.beem.2022.101680
- Siraj, A. K., Masoodi, T., Bu, R., Beg, S., Al-Sobhi, S. S., Al-Dayel, F., Al-Dawish, M., Alkuraya, F. S. ve Al-Kuraya, K. S. (2016). Genomic Profiling of Thyroid Cancer Reveals a Role for Thyroglobulin in Metastasis. *Am J Hum Genet*, 98(6), 1170-1180. doi:10.1016/j.ajhg.2016.04.014
- Soares, P., Pova, A. A., Melo, M., Vinagre, J., Maximo, V., Eloy, C., Cameselle-Teijeiro, J. M. ve Sobrinho-Simoes, M. (2021). Molecular Pathology of Non-familial Follicular Epithelial-Derived Thyroid Cancer in Adults: From RAS/BRAF-like Tumor Designations to Molecular Risk Stratification. *Endocr Pathol*, 32(1), 44-62. doi:10.1007/s12022-021-09666-1
- Solyom, S., Ewing, A. D., Rahrman, E. P., Doucet, T., Nelson, H. H., Burns, M. B., Harris, R. S., Sigmon, D. F., Casella, A., Erlanger, B., Wheelan, S., Upton, K. R., Shukla, R., Faulkner, G. J., Largaespada, D. A. ve Kazazian, H. H., Jr. (2012). Extensive somatic L1 retrotransposition in colorectal tumors. *Genome Res*, 22(12), 2328-2338. doi:10.1101/gr.145235.112
- Son, J. H., Do, H. ve Han, J. (2022). Intragenic L1 Insertion: One Possibility of Brain Disorder. *Life (Basel)*, 12(9). doi:10.3390/life12091425
- Song, S. S., Huang, S. ve Park, S. (2021). Association of Polygenetic Risk Scores Related to Cell Differentiation and Inflammation with Thyroid Cancer Risk and Genetic Interaction with Dietary Intake. *Cancers (Basel)*, 13(7). doi:10.3390/cancers13071510
- Song, T., Yang, J., Zhou, J., Chen, Z. ve Yuan, X. (2019). A Review of the Mechanisms of Wnt7b in the Process of Malignant Tumor Invasion and Metastasis. *International Journal of Pharmacology*, 15(5), 523-532. doi:10.3923/ijp.2019.523.532
- Su, X., Wang, W., Ruan, G., Liang, M., Zheng, J., Chen, Y., Wu, H., Fahey, T. J., Guan, M. ve Teng, L. (2016). A Comprehensive Characterization of Mitochondrial Genome in Papillary Thyroid Cancer. *Int J Mol Sci*, 17(10). doi:10.3390/ijms17101594
- Sultana, T., van Essen, D., Siol, O., Bailly-Bechet, M., Philippe, C., Zine El Aabidine, A., Pioger, L., Nigumann, P., Sacconi, S., Andrau, J. C., Gilbert, N. ve Cristofari, G. (2019). The Landscape of L1 Retrotransposons in the Human Genome Is Shaped by Pre-insertion Sequence Biases and Post-insertion Selection. *Mol Cell*. doi:10.1016/j.molcel.2019.02.036
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. ve Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and

- Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3), 209-249. doi:10.3322/caac.21660
- Tabriz, N., Grone, J., Uslar, V., Tannapfel, A. ve Weyhe, D. (2020). BRAF V600E mutation correlates with aggressive clinico-pathological features but does not influence tumor recurrence in papillary thyroid carcinoma-10-year single-center results. *Gland Surg*, 9(6), 1902-1913. doi:10.21037/gs-20-244
- Takeda, H., Rust, A. G., Ward, J. M., Yew, C. C., Jenkins, N. A. ve Copeland, N. G. (2016). Sleeping Beauty transposon mutagenesis identifies genes that cooperate with mutant Smad4 in gastric cancer development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113(14), E2057-2065. doi:10.1073/pnas.1603223113
- Tan, L., He, X. ve Shen, G. (2020). Identification of a 15-pseudogene based prognostic signature for predicting survival and antitumor immune response in breast cancer. *Aging (Albany NY)*, 13(10), 14499-14521. doi:10.18632/aging.103735
- Tang, W., Mun, S., Joshi, A., Han, K. ve Liang, P. (2018). Mobile elements contribute to the uniqueness of human genome with 15,000 human-specific insertions and 14 Mbp sequence increase. *DNA Res*, 25(5), 521-533. doi:10.1093/dnares/dsy022
- Tate, J. G., Bamford, S., Jubb, H. C., Sondka, Z., Beare, D. M., Bindal, N., Boutselakis, H., Cole, C. G., Creatore, C., Dawson, E., Fish, P., Harsha, B., Hathaway, C., Jupe, S. C., Kok, C. Y., Noble, K., Ponting, L., Ramshaw, C. C., Rye, C. E., Speedy, H. E., Stefancsik, R., Thompson, S. L., Wang, S., Ward, S., Campbell, P. J. ve Forbes, S. A. (2018). COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D941-D947. doi:10.1093/nar/gky1015
- Thomas, J. ve Pritham, E. J. (2015). Helitrons, the Eukaryotic Rolling-circle Transposable Elements. *Microbiol Spectr*, 3(4). doi:10.1128/microbiolspec.MDNA3-0049-2014
- Tu, Y., Fan, G., Xi, H., Zeng, T., Sun, H., Cai, X. ve Kong, W. (2018). Identification of candidate aberrantly methylated and differentially expressed genes in thyroid cancer. *J Cell Biochem*, 119(11), 8797-8806. doi:10.1002/jcb.27129
- Tubio, J. M. C., Li, Y., Ju, Y. S., Martincorena, I., Cooke, S. L., Tojo, M., Gundem, G., Pipinikas, C. P., Zamora, J., Raine, K., Menzies, A., Roman-Garcia, P., Fullam, A., Gerstung, M., Shlien, A., Tarpey, P. S., Papaemmanuil, E., Knappskog, S., Van Loo, P., Ramakrishna, M., Davies, H. R., Marshall, J., Wedge, D. C., Teague, J. W., Butler, A. P., Nik-Zainal, S., Alexandrov, L., Behjati, S., Yates, L. R., Bolli, N., Mudie, L., Hardy, C., Martin, S., McLaren, S., O'Meara, S., Anderson, E., Maddison, M., Gamble, S., Foster, C., Warren, A. Y., Whitaker, H., Brewer, D., Eeles, R., Cooper, C., Neal, D., Lynch, A. G., Visakorpi, T., Isaacs, W. B., Veer, L. V., Caldas, C., Desmedt, C., Sotiriou, C., Aparicio, S., Foekens, J. A., Eyfjord, J. E., Lakhani, S. R., Thomas, G., Myklebost, O., Span, P. N., Borresen-Dale, A. L., Richardson, A. L., Van de Vijver, M., Vincent-Salomon, A., Van den Eynden, G. G., Flanagan, A. M., Futreal, P. A., Janes, S. M., Bova, G. S., Stratton, M. R., McDermott, U., Campbell, P. J., Group, I. B. C., Group, I. B. C. ve Group, I. P. C. (2014). Mobile DNA in cancer. Extensive transduction of nonrepetitive DNA mediated by L1 retrotransposition in cancer genomes. *Science*, 345(6196), 1251343. doi:10.1126/science.1251343
- Valero, C., Lee, M., Hoen, D., Wang, J., Nadeem, Z., Patel, N., Postow, M. A., Shoushtari, A. N., Plitas, G., Balachandran, V. P., Smith, J. J., Crago, A. M., Long Roche, K. C., Kelly, D. W., Samstein, R. M., Rana, S., Ganly, I., Wong, R. J., Hakimi, A. A., Berger, M. F., Zehir, A., Solit, D. B., Ladanyi, M., Riaz, N., Chan, T. A., Seshan, V. E. ve Morris, L. G. T. (2021). The association between tumor mutational burden and prognosis is dependent on treatment context. *Nat Genet*, 53(1), 11-15. doi:10.1038/s41588-020-00752-4

- van Loon, K., Huijbers, E. J. M. ve Griffioen, A. W. (2021). Secreted frizzled-related protein 2: a key player in noncanonical Wnt signaling and tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev*, 40(1), 191-203. doi:10.1007/s10555-020-09941-3
- van Roon, E. H., de Miranda, N. F., van Nieuwenhuizen, M. P., de Meijer, E. J., van Puijenbroek, M., Yan, P. S., Huang, T. H., van Wezel, T., Morreau, H. ve Boer, J. M. (2011). Tumour-specific methylation of PTPRG intron 1 locus in sporadic and Lynch syndrome colorectal cancer. *Eur J Hum Genet*, 19(3), 307-312. doi:10.1038/ejhg.2010.187
- Vaught, D. B., Stanford, J. C., Young, C., Hicks, D. J., Wheeler, F., Rinehart, C., Sanchez, V., Koland, J., Muller, W. J., Arteaga, C. L. ve Cook, R. S. (2012). HER3 is required for HER2-induced preneoplastic changes to the breast epithelium and tumor formation. *Cancer Res*, 72(10), 2672-2682. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-3594
- Volante, M., Lam, A. K., Papotti, M. ve Tallini, G. (2021). Molecular Pathology of Poorly Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer: What Do Pathologists Need to Know? *Endocr Pathol*, 32(1), 63-76. doi:10.1007/s12022-021-09665-2
- Vuong, H. G., Long, N. P., Anh, N. H., Nghi, T. D., Hieu, M. V., Hung, L. P., Nakazawa, T., Katoh, R. ve Kondo, T. (2018). Papillary thyroid carcinoma with tall cell features is as aggressive as tall cell variant: a meta-analysis. *Endocr Connect*, 7(12), R286-R293. doi:10.1530/EC-18-0333
- Wang, M.-h., Li, B.-z., Chen, Y. ve Wang, J. (2022). TEADs serve as potential prognostic biomarkers and targets for human gastric cancer. *BMC Gastroenterology*, 22(1), 308. doi:10.1186/s12876-022-02386-8
- Wang, S. ve Ding, Z. (2017). Fibroblast growth factor receptors in breast cancer. *Tumour Biol*, 39(5), 1010428317698370. doi:10.1177/1010428317698370
- Wang, S. Y., Gao, K., Deng, D. L., Cai, J. J., Xiao, Z. Y., He, L. Q., Jiao, H. L., Ye, Y. P., Yang, R. W., Li, T. T., Liang, L., Liao, W. T. ve Ding, Y. Q. (2016). TLE4 promotes colorectal cancer progression through activation of JNK/c-Jun signaling pathway. *Oncotarget*, 7(3), 2878-2888. doi:10.18632/oncotarget.6694
- Wang, X., Cheng, W., Liu, C. ve Li, J. (2016). Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: current evidence on clinicopathologic features and molecular biology. *Oncotarget*, 7(26), 40792-40799. doi:10.18632/oncotarget.8215
- Wang, Y., Che, S., Cai, G., He, Y., Chen, J. ve Xu, W. (2016). Expression and prognostic significance of CTBP2 in human gliomas. *Oncol Lett*, 12(4), 2429-2434. doi:10.3892/ol.2016.4998
- Wedge, D. C., Gundem, G., Mitchell, T., Woodcock, D. J., Martincorena, I., Ghorri, M., Zamora, J., Butler, A., Whitaker, H., Kote-Jarai, Z., Alexandrov, L. B., Van Loo, P., Massie, C. E., Dentre, S., Warren, A. Y., Verrill, C., Berney, D. M., Dennis, N., Merson, S., Hawkins, S., Howat, W., Lu, Y. J., Lambert, A., Kay, J., Kremeyer, B., Karaszi, K., Luxton, H., Camacho, N., Marsden, L., Edwards, S., Matthews, L., Bo, V., Leongamornlert, D., McLaren, S., Ng, A., Yu, Y., Zhang, H., Dadaev, T., Thomas, S., Easton, D. F., Ahmed, M., Bancroft, E., Fisher, C., Livni, N., Nicol, D., Tavaré, S., Gill, P., Greenman, C., Khoo, V., Van As, N., Kumar, P., Ogden, C., Cahill, D., Thompson, A., Mayer, E., Rowe, E., Dudderidge, T., Gnanapragasam, V., Shah, N. C., Raine, K., Jones, D., Menzies, A., Stebbings, L., Teague, J., Hazell, S., Corbishley, C., Group, C. S., de Bono, J., Attard, G., Isaacs, W., Visakorpi, T., Fraser, M., Boutros, P. C., Bristow, R. G., Workman, P., Sander, C., Consortium, T., Hamdy, F. C., Futreal, A., McDermott, U., Al-Lazikani, B., Lynch, A. G., Bova, G. S., Foster, C. S., Brewer, D. S., Neal, D. E., Cooper, C. S. ve Eeles, R. A. (2018). Sequencing of prostate cancers identifies new cancer genes, routes of progression and drug targets. *Nat Genet*, 50(5), 682-692. doi:10.1038/s41588-018-0086-z

- Wen, X., Liu, M., Du, J. ve Wang, X. (2021). Meis homeobox 2 (MEIS2) inhibits the proliferation and promotes apoptosis of thyroid cancer cell and through the NF-kappaB signaling pathway. *Bioengineered*, 12(1), 1766-1772. doi:10.1080/21655979.2021.1923354
- Wenzel, J., Rose, K., Haghighi, E. B., Lamprecht, C., Rauen, G., Freihe, V., Kesselring, R., Boerries, M. ve Hecht, A. (2020). Loss of the nuclear Wnt pathway effector TCF7L2 promotes migration and invasion of human colorectal cancer cells. *Oncogene*, 39(19), 3893-3909. doi:10.1038/s41388-020-1259-7
- West, J., Schenck, R. O., Gatenbee, C., Robertson-Tessi, M. ve Anderson, A. R. A. (2021). Normal tissue architecture determines the evolutionary course of cancer. *Nat Commun*, 12(1), 2060. doi:10.1038/s41467-021-22123-1
- Wijewardhane, N., Dressler, L. ve Ciccarelli, F. D. (2021). Normal Somatic Mutations in Cancer Transformation. *Cancer Cell*, 39(2), 125-129. doi:10.1016/j.ccell.2020.11.002
- Winder, M., Kosztyla, Z., Boral, A., Kocelak, P. ve Chudek, J. (2022). The Impact of Iodine Concentration Disorders on Health and Cancer. *Nutrients*, 14(11). doi:10.3390/nu14112209
- Wong, K. S., Higgins, S. E., Marqusee, E., Nehs, M. A., Angell, T. ve Barletta, J. A. (2019). Tall Cell Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: Impact of Change in WHO Definition and Molecular Analysis. *Endocr Pathol*, 30(1), 43-48. doi:10.1007/s12022-018-9561-4
- Wong, R., Farrell, S. G. ve Grossmann, M. (2018). Thyroid nodules: diagnosis and management. *Med J Aust*, 209(2), 92-98. doi:10.5694/mja17.01204
- Wu, X. C., Xiao, C. C., Li, H., Tai, Y., Zhang, Q. ve Yang, Y. (2016). Down-regulation of Transducin-Like Enhancer of Split protein 4 in hepatocellular carcinoma promotes cell proliferation and epithelial-Mesenchymal-Transition. *Biochem Biophys Res Commun*, 477(2), 161-166. doi:10.1016/j.bbrc.2016.06.037
- Xing, M. (2013). Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*, 13(3), 184-199. doi:10.1038/nrc3431
- Xu, L., Zhang, Y., Qu, X., Che, X., Guo, T., Cai, Y., Li, A., Li, D., Li, C., Wen, T., Fan, Y., Hou, K., Ma, Y., Hu, X. ve Liu, Y. (2017). E3 Ubiquitin Ligase Cbl-b Prevents Tumor Metastasis by Maintaining the Epithelial Phenotype in Multiple Drug-Resistant Gastric and Breast Cancer Cells. *Neoplasia*, 19(4), 374-382. doi:10.1016/j.neo.2017.01.011
- Yakushina, V. D., Strelnikov, V. V., Tanas, A. S. ve Lavrov, A. V. (2021). Long noncoding RNA landscapes specific to benign and malignant thyroid neoplasms of distinct histological subtypes. *Sci Rep*, 11(1), 16728. doi:10.1038/s41598-021-96149-2
- Yan, Y., Huang, P., Mao, K., He, C., Xu, Q., Zhang, M., Liu, H., Zhou, Z., Zhou, Q., Zhou, Q., Ou, B., Liu, Q., Lin, J., Chen, R., Wang, J., Zhang, J. ve Xiao, Z. (2021). Anti-oncogene PTPN13 inactivation by hepatitis B virus X protein counteracts IGF2BP1 to promote hepatocellular carcinoma progression. *Oncogene*, 40(1), 28-45. doi:10.1038/s41388-020-01498-3
- Yang, C., Gong, J., Xu, W., Liu, Z. ve Cui, D. (2019). Next-generation sequencing identified somatic alterations that may underlie the etiology of Chinese papillary thyroid carcinoma. *Eur J Cancer Prev*. doi:10.1097/CEJ.0000000000000529
- Yeo, E. J., Cassetta, L., Qian, B. Z., Lewkowich, I., Li, J. F., Stefater, J. A., 3rd, Smith, A. N., Wiechmann, L. S., Wang, Y., Pollard, J. W. ve Lang, R. A. (2014). Myeloid WNT7b mediates the angiogenic switch and metastasis in breast cancer. *Cancer Res*, 74(11), 2962-2973. doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-2421

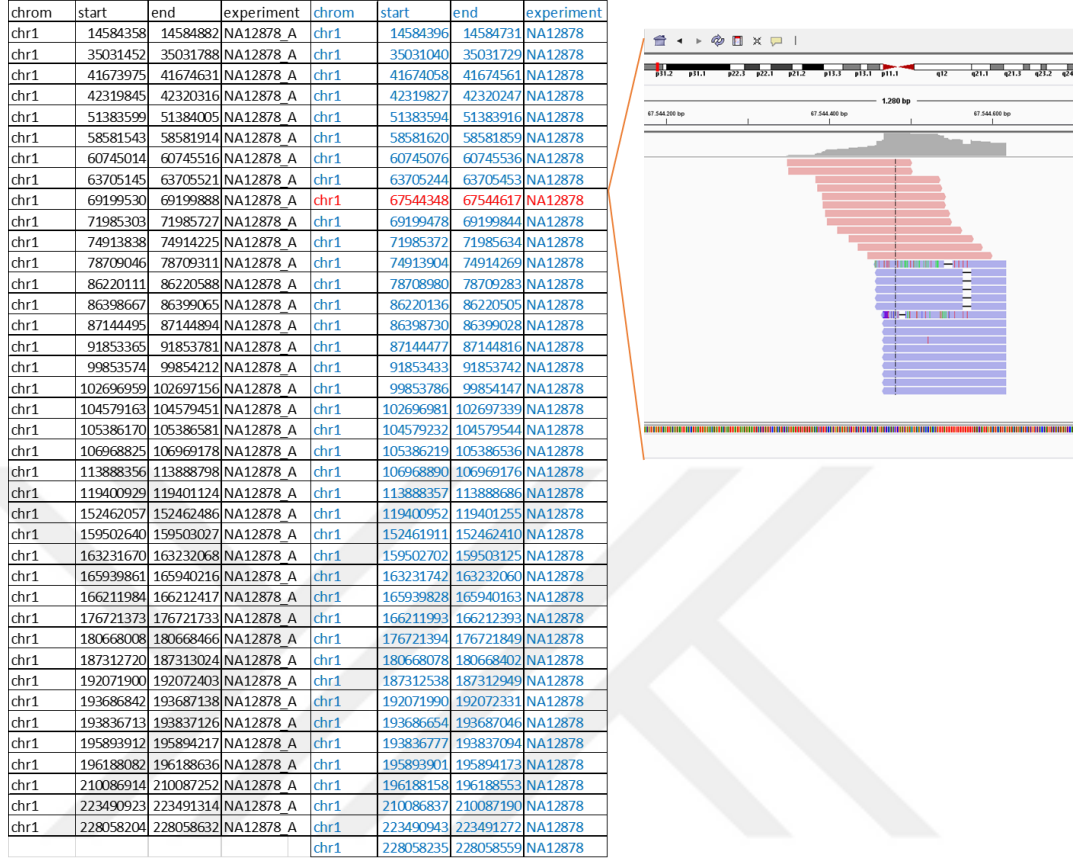
- Yin, D. T., Wu, W., Li, M., Wang, Q. E., Li, H., Wang, Y., Tang, Y. ve Xing, M. (2013). DKK3 is a potential tumor suppressor gene in papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*, 20(4), 507-514. doi:10.1530/ERC-13-0053
- Yoo, S. M., Lee, C. J., An, H. J., Lee, J. Y., Lee, H. S., Kang, H. C., Cho, S. J., Kim, S. M., Park, J., Kim, D. J. ve Cho, Y. Y. (2019). RSK2-Mediated ELK3 Activation Enhances Cell Transformation and Breast Cancer Cell Growth by Regulation of c-fos Promoter Activity. *Int J Mol Sci*, 20(8). doi:10.3390/ijms20081994
- Zaballos, M. A., Acuna-Ruiz, A., Morante, M., Crespo, P. ve Santisteban, P. (2019). Regulators of the RAS-ERK pathway as therapeutic targets in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*, 26(6), R319-R344. doi:10.1530/ERC-19-0098
- Zampella, J. G., Rodic, N., Yang, W. R., Huang, C. R., Welch, J., Gnanakkan, V. P., Cornish, T. C., Boeke, J. D. ve Burns, K. H. (2016). A map of mobile DNA insertions in the NCI-60 human cancer cell panel. *Mob DNA*, 7, 20. doi:10.1186/s13100-016-0078-4
- Zhang, H., Chen, Z., Ye, Y., Ye, Z., Cao, D., Xiong, Y., Srivastava, M., Feng, X., Tang, M., Wang, C., Tainer, J. A. ve Chen, J. (2019). SLX4IP acts with SLX4 and XPF-ERCC1 to promote interstrand crosslink repair. *Nucleic Acids Res*, 47(19), 10181-10201. doi:10.1093/nar/gkz769
- Zhang, H., Wang, Y., Ji, Q., Cai, H., Liang, X., Xie, J., Li, H., Wang, J., Zhu, G., Tian, E., Zhu, L., Yuan, M., Chen, R. ve Zhao, M. (2021). Clinicopathological and molecular characteristics of patients with hypermutant lung cancer: A retrospective cohort study. *Oncol Lett*, 21(4), 329. doi:10.3892/ol.2021.12590
- Zhang, Q., Pan, J., Cong, Y. ve Mao, J. (2022). Transcriptional Regulation of Endogenous Retroviruses and Their Misregulation in Human Diseases. *Int J Mol Sci*, 23(17). doi:10.3390/ijms231710112
- Zhang, X., Zhang, R. ve Yu, J. (2020). New Understanding of the Relevant Role of LINE-1 Retrotransposition in Human Disease and Immune Modulation. *Front Cell Dev Biol*, 8, 657. doi:10.3389/fcell.2020.00657
- Zhou, J., Li, J., Serafim, R. B., Ketchum, S., Ferreira, C. G., Liu, J. C., Coe, K. A., Price, B. D. ve Yusufzai, T. (2018). Human CHD1 is required for early DNA-damage signaling and is uniquely regulated by its N terminus. *Nucleic Acids Res*, 46(8), 3891-3905. doi:10.1093/nar/gky128
- Zhou, W., Brumpton, B., Kabil, O., Gudmundsson, J., Thorleifsson, G., Weinstock, J., Zawistowski, M., Nielsen, J. B., Chaker, L., Medici, M., Teumer, A., Naitza, S., Sanna, S., Schultheiss, U. T., Cappola, A., Karjalainen, J., Kurki, M., Oneka, M., Taylor, P., Fritsche, L. G., Graham, S. E., Wolkfod, B. N., Overton, W., Rasheed, H., Haug, E. B., Gabrielsen, M. E., Skogholt, A. H., Surakka, I., Davey Smith, G., Pandit, A., Roychowdhury, T., Hornsby, W. E., Jonasson, J. G., Senter, L., Liyanarachchi, S., Ringel, M. D., Xu, L., Kiemeny, L. A., He, H., Netea-Maier, R. T., Mayordomo, J. I., Plantinga, T. S., Hrafinkelsson, J., Hjartarson, H., Sturgis, E. M., Palotie, A., Daly, M., Citterio, C. E., Arvan, P., Brummett, C. M., Boehnke, M., de la Chapelle, A., Stefansson, K., Hveem, K., Willer, C. J. ve Asvold, B. O. (2020). GWAS of thyroid stimulating hormone highlights pleiotropic effects and inverse association with thyroid cancer. *Nat Commun*, 11(1), 3981. doi:10.1038/s41467-020-17718-z
- Zhu, C., Zhang, M., Wang, Q., Jen, J., Liu, B. ve Guo, M. (2021). Intratumor Epigenetic Heterogeneity-A Panel Gene Methylation Study in Thyroid Cancer. *Front Genet*, 12, 714071. doi:10.3389/fgene.2021.714071
- Zhu, G., Pei, L., Li, Y. ve Gou, X. (2020). EP300 mutation is associated with tumor mutation burden and promotes antitumor immunity in bladder cancer patients. *Aging (Albany NY)*, 12(3), 2132-2141. doi:10.18632/aging.102728

- Zhu, X., Zhu, Y. J., Kim, D. W., Meltzer, P. ve Cheng, S. Y. (2014). Activation of integrin-ERBB2 signaling in undifferentiated thyroid cancer. *Am J Cancer Res*, 4(6), 776-788. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25520867>
- Zidane, M., Cazier, J. B., Chevillard, S., Ory, C., Schlumberger, M., Dupuy, C., Deleuze, J. F., Bolland, A., Haddy, N., Lesueur, F. ve de Vathaire, F. (2019). Genetic susceptibility to radiation-related differentiated thyroid cancers: a systematic review of literature. *Endocr Relat Cancer*, 26(10), R583-R596. doi:10.1530/ERC-19-0321
- Ziebold, U., Lee, E. Y., Bronson, R. T. ve Lees, J. A. (2003). E2F3 loss has opposing effects on different pRB-deficient tumors, resulting in suppression of pituitary tumors but metastasis of medullary thyroid carcinomas. *Mol Cell Biol*, 23(18), 6542-6552. doi:10.1128/MCB.23.18.6542-6552.2003

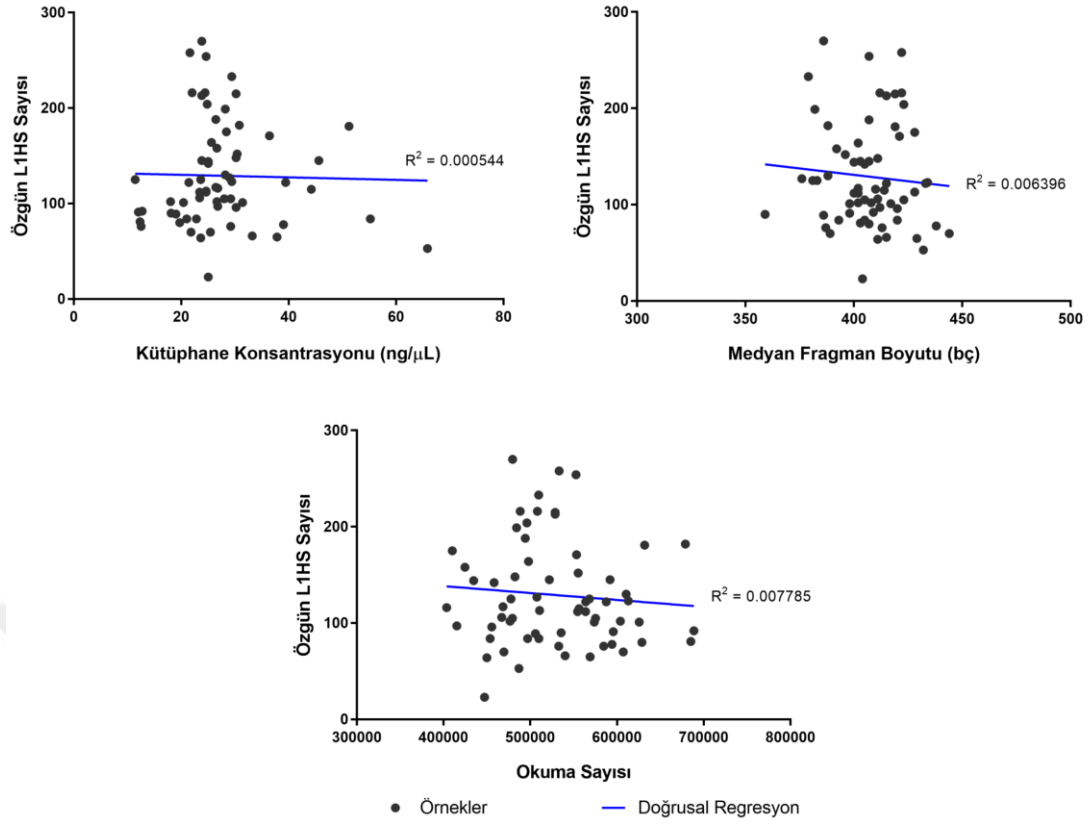


EKLER

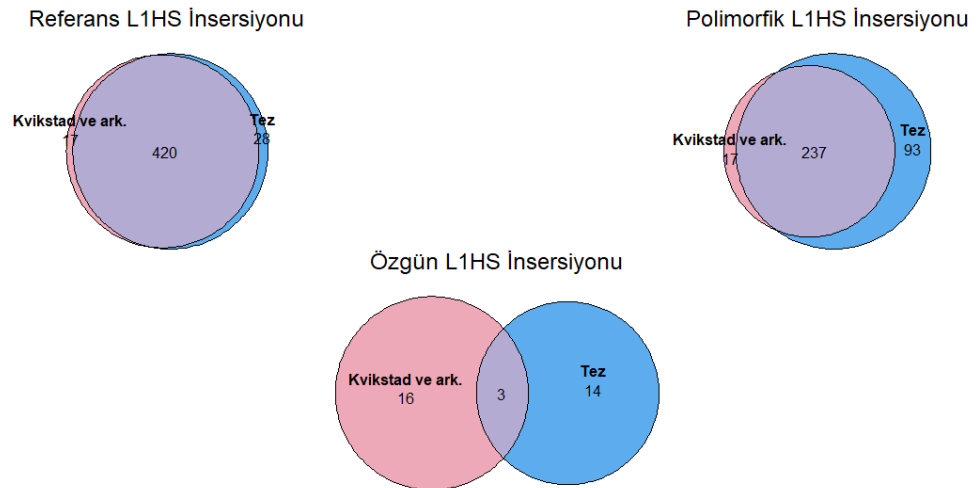
Ek 1. Çalışma performansı ile ilişkili analizler



Ek Şekil 1.1. TE-NGS anotasyonu sonrası BED dosyasında elde edilen ve referans olarak tanımlanan L1HS insersiyonlarının kromozom 1'deki lokasyonları. Sol taraftaki siyah yazılı alan Kvikstad ve ark. tarafından gerçekleştirilen TE-NGS referans çalışmasının NA12878 genomunda tespit ettiği L1HS insersiyonlarını; sağ tarafta mavi yazılı alan ise bu tez çalışmasında kullanılan NA12878 genomunda saptanan insersiyonları göstermektedir. Kırmızıyla işaretli referans lokasyon, bu çalışmada ek olarak tespit edilen referans L1HS insersiyon lokasyonunu göstermektedir. Lokasyonun ayrıca IGV'deki görüntüsü sağ tarafta verilmiştir



Ek Şekil 1.2. Dizileme öncesi örnek kütüphane konsantrasyonlarının, medyan fragman boyutlarının ve okuma sayısının özgün L1HS tespit edilme sayısı arasındaki ilişkinin doğrusal regresyon analizi sonuçları



Ek Şekil 1.3. Referans çalışmada (Kvikstad vd., 2018) ve bu tez çalışması sonucunda, NA12878 genomunda tespit edilen L1HS insersiyon lokasyonlarının farklılık ve ortaklık açısından Venn şeması ile gösterilmesi

Ek 2. Etik kurul kararı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/738-794

17.10.2019

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ümmet ABUR

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz **Klasik ve tall-cell varyant papiller tiroid karsinomlarının patogeneğinde L1Ta retrotranspozonlarının mutajenik rollerinin araştırılması** başlıklı OMÜ KAEEK 2019/658 Karar nolu Genetik çalışma nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 26.09.2019 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof. Dr. Ramis ÇOLAK
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Çağrı Gümüşkaptan, Bartın Köksal Toptan Lisesi'ni bitirdikten sonra İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden 2013 yılında mezun oldu. 2015 yılında İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans programını bitirdi ve aynı yıl Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Tıp (Disiplinlerarası) Doktora Programı'na girdi. Bu programda 2016 ile 2022 arasında araştırma görevlisi olarak görev yapan Çağrı Gümüşkaptan, iyi derecede İngilizce bilmektedir. Temel ilgi alanları; kanser moleküler biyolojisi ve genetiği, evrimsel moleküler tıp ve kompütasyonel genom analizleridir (26/12/2022).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-8600-172X

Yayınlar:

- Abur, U., Sanrı, A., Dogan, C., Altundag, E., Akar, Ö.S., Gumuskaptan, C. ve Ogur, M.G. (2019, 15-18 Haziran). A first case of OFDVI with c.3545delA and c.7400+1G>A mutations for CPLANE1 gene [Poster sunumu]. 52nd Conference of European Society of Human Genetics (ESHG), Gothenburg, İsveç.
- Albayrak, E., Yüce, M. ve Gümüşkaptan, Ç. (2022). Kara Mürver ve Kanser. Editörler: Hayrettin Mutlu, Elif Günelan. Kara Mürver: Meyve mi ilaç mı?. Nobel Bilimsel Eserler.
- Arısan, E.D., Gumuskaptan, C., Berrak, O., Obakan-Yerlikaya, P., Coker-Gurkan, A. ve Palavan-Unsal, N. (2016, 4-7 Mayıs). Diminished cyclin-dependent kinase activity and mTOR are critical in the cell death decision through affecting STAT signalling differently in prostate cancer cells [Davetli konuşmacı]. 1st International Cell Death Research Congress (2nd Congress of Cell Death Research Society), İzmir, Türkiye.
- Arısan, E.D., Gumuskaptan, C., Berrak, O., Obakan-Yerlikaya, P., Coker-Gurkan, A. ve Palavan-Unsal, N. (2015, 22-24 Haziran). Roscovitine treatment inhibited cell proliferation and induced apoptosis via modulating the activity of Stat3 and FoxO1 under control of Akt in LNCaP prostate cancer cells [Davetli konuşmacı], International Conference on Prostate Cancer, Florida, ABD.
- Aymelek, H.S., Abur, Ü., Akar, Ö.S., Altundağ, E., Turgut, M., Kelkitli, E., Gümüşkaptan, Ç ve Oğur, M.G. (2016, 5-9 Ekim). Myeloproliferatif hastalıklar ve alt gruplarında, JAK2 mutasyonunun dağılımı, klinik ve hematolojik korelasyon [Poster sunumu]. 12. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, İzmir, Türkiye.
- Gumuskaptan, C., Kefeli, M., Caliskan, S., Polat, C., Adebali, O. ve Abur, U. (2022, 21-24 Temmuz). L1Ta retrotransposons as endogenous mutagens in papillary thyroid carcinoma [Sözlü sunum]. 2nd International Multidisciplinary Cancer Research Congress, Giresun, Türkiye.

- Gumuskaptan, C., Kefeli, M., Caliskan, S., Polat, C., Adebali, O. ve Abur, U. (2022, 26-28 Mayıs). Investigation of retrotransposon activity in tumour and tumour-adjacent tissue samples of classical and tall-cell variant papillary thyroid carcinomas [Poster sunumu]. 7. Uluslararası Erciyes Tıp Tıbbi Genetik Kongresi, Erciyes, Türkiye.
- Gümüşkaptan, Ç. ve Özel, C. (2011, 19-22 Ağustos). MCF-7 meme kanseri hücre hattında purvanol tarafından indüklenen apoptotik mekanizmanın araştırılması [Poster sunumu]. V. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kongresi, İstanbul, Türkiye.
- Hacibektasoglu, H., Arisan, E.D., Berrak, O., Gumuskaptan, C., Coker-Gurkan, A., Obakan-Yerlikaya, P. ve Palavan-Unsal, N. (2015, 18-19 Mayıs). Investigation the role of CDK inhibitors on ER stress-mediated apoptosis in LNCaP prostate cancer cells [Poster sunumu]. 3rd Anti-cancer Agent Development Congress, İzmir, Türkiye.
- Kara, C., Mammadova, J., Abur, Ü., Gumuskaptan, C., İzci Güllü, E., Dağdemir, A., & Aydın, M. (2023). Genetic testing can change diagnosis and treatment in children with congenital hypothyroidism, European Thyroid Journal, 12(3), e220212. Retrieved May 8, 2023, from <https://doi.org/10.1530/ETJ-22-0212>.
- Kara, C., Mammadova, J., Abur, Ü., Gümüşkaptan, Ç., Aydın H.M. ve Oğur, M.G. (2020, 1-5 Kasım). Hipotiroidizmde Yeni Nesil Dizileme ile Hedeflenmiş Gen Mutasyon Taraması [Sözlü sunum]. XXIV. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji ve Diyabet Çevrim İçi Kongresi.
- Sevilay A., Berrak, O., Gumuskaptan, C., Obakan-Yerlikaya, P., Coker-Gurkan, A. ve Arisan, E.D. (2015, 18-19 Mayıs). Forced Bcl-2 expression induced prevented roscovitine induced-autophagy via in PC3 cells [Poster sunumu]. 3rd Anti-cancer Agent Development Congress, İzmir, Türkiye.
- Yıldırım, A., Gümüşkaptan, C. ve Altundağ, E. (2018, 7-11 Kasım). IKBKB geninde homozigot mutasyonu olan ağır kombine immün yetmezlikli (SCID) bir vaka [Poster sunumu]. Uluslararası Katılımlı 13. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, Antalya, Türkiye.
- Yuce, M., Albayrak, E. ve Gumuskaptan, C. (2022). Comparison of the Anti-Tumor Effect of Conditioned Media of Tonsil-Derived Mesenchymal Stem Cells on A549 and PANC-1 Cancer Cell Lines, PREPRINT, doi.org/10.21203/rs.3.rs-1580173/v1.
- Yuce, M., Gumuskaptan, C., Con, A. H. ve Yazici, F. (2023). Conjugated linoleic acid strengthens the apoptotic effect of cisplatin in A549 cells. Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 166, 106731. doi:https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2023.106731

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. TÜBİTAK 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Bursiyeri (2013-2015).
2. TÜBİTAK 3501 Kariyer Geliştirme Programı Bursiyeri (2013-2014).
3. Erasmus Değişim Programı Bursiyeri (2011-2012).