



Araştırma Makalesi / Research Article

Tiroit kanserinde BRAF gen mutasyonuna demografik ve kanser kliniği perspektifinden bir bakış; Biyoformatiksel kohort çalışması

At a glance of thyroid cancer cases with BRAF gene mutation from a demographic and cancer clinic perspective; Bioinformatics cohort study

Durmuş AYAN^{1,2}, Esmâ ÖZMEN¹, Serpil ERŞAN¹, Dilara Fatma AKIN³, Burcu KÖSE⁴

¹Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Niğde, Türkiye
²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Niğde, Türkiye
³Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Niğde, Türkiye
⁴Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Niğde, Türkiye

Öz

Amaç: BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit kanserli hastaların demografik ve klinik bilgilerinin biyoformatik araçlar yardımıyla incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Toplam 301 BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit kanserli hastaların gen profili, cBioPortal aracılığıyla kanser genom atlası veri tabanından elde edilen veriler üzerinden incelendi. BRAF geninin m-RNA ekspresyon seviyelerinin genel sağ kalım ile ilişkisi gen ifadesi profili oluşturma etkileşimli analiz veri kümesi analizi 2 (GEPIA2) istatistiksel analizi aracı ile değerlendirildi. Ayrıca vakalar yaş dekadlarına, cinsiyetlerine, tümörün klinik özelliklerine göre de değerlendirildi.

Bulgular: 301 vakadan 283'ünde (%94) BRAF^{V600E} yanlış anlamlı mutasyonuna sahipti. BRAF gen mutasyonunun erkeklerle oranla kadınlarda daha fazla görüldüğü tespit edildi. Yaş dekadlarına göre en fazla tanı alma yaş aralığı 30-39 yaş dekadındaydı. Tiroit dışı dokulara yayılımı bulunan vaka sayısı 5 ile sınırlı kalırken, bilinmeyen vaka sayısı 106 kişi ile bildirilmektedir. BRAF gen ekspresyon düzeyleri daha az toplam sağ kalım ile ilişkiliyken, hastalısız sağ kalım ile herhangi bir ilişki bulunamadı.

Sonuç: İncelenen BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit kanseri kohortundan elde edilen veriler ile BRAF gen mutasyonunun tiroit kanseri patogenezine olan katkısı hakkında bilgi edinilebilir ancak daha geniş katılımcıların olduğu ve yaş olarak homojen dağılım gösteren farklı toplumlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: BRAF, Tiroit kanseri, Mutasyon, Biyoformatiksel analiz

Abstract

Aim: We aimed to examine the demographic and clinical information of thyroid cancer patients with BRAF gene mutation via bioinformatic tools.


Material and Method: The gene profile of thyroid cancer patients with 301 BRAF gene mutations was examined using data obtained from the cancer genome atlas database via cBioPortal. The association of m-RNA expression levels of the BRAF gene with overall survival was evaluated with the Gene expression profiling interactive analysis dataset analysis 2 (GEPIA2) statistical analysis tool. In addition, cases were evaluated according to age decades, gender, and clinical features of the tumor.

Results: 283 of 301 cases (94%) had the BRAF^{V600E} missense mutation. BRAF gene mutation was found to be more common in women than in men. According to age decades, the most common age range for diagnosis was in the 30-39 age decade. While the number of cases with invasion to extrathyroidal tissues remains limited to 5, the number of unknown cases is reported to be 106 people. While BRAF gene expression levels were associated with poorer overall survival, no association was found with disease-free survival.

Conclusion: Data obtained from the thyroid cancer cohort with BRAF gene mutation examined could provide information about the contribution of BRAF gene mutation to the pathogenesis of thyroid cancer. However, there is a need for studies to be conducted in different populations with larger participants and a homogeneous age distribution.

Keywords: BRAF, Thyroid cancer, Mutation, Bioinformatics analysis

İletişim adresi/Address for Correspondence:

Durmuş Ayan  <https://orcid.org/0000-0003-2615-8474>
Niğde Research and Training Hospital, Department of Medical Biochemistry/ Niğde
E-mail: durmusayan@hotmail.com
Tel: +90 553 633 81 85

Esmâ Özmen  <https://orcid.org/0000-0001-6432-7457>, Serpil Erşan  <https://orcid.org/0000-0002-8968-4044>, Dilara Fatma Akın 
<https://orcid.org/0000-0002-0903-0017>, Burcu Köse  <https://orcid.org/0000-0003-1068-0196>

Geliş Tarihi/Received:14 Kasım 2023. Kabul Tarihi/Accepted: 20 Aralık 2023. Çevrimiçi Yayın: Published Online: 31 Aralık 2023

GİRİŞ

Tiroit kanserinin insidansı son 30 yıl içerisinde üç katına çıkmıştır¹. Ancak insidans oranları birçok ülke ve bölgede artmasına rağmen ölüm oranları oldukça düşük seviyede kalmıştır. Dünya genelinde açıklanamayan insidans artışı tiroit kanser tedavisi yapan klinisyenler için bir endişe kaynağıdır. Bu epidemiyolojik durum büyük ölçüde hastalığın aşırı tanınması değerlendirilmesine bağlanmaktadır². Ülkelerin çoğunda genç bireylerde artan tiroit kanser insidansı olduğu gözlenmiştir. Bu durum kanseri önleyici stratejilere ihtiyaç olduğunu ortaya koymaktadır³. Bu bilgilere bakıldığında tiroit kanser taraması, tiroit kanseri prevalansının hızla artmasına katkıda bulursa da tiroit kanseri taramasının gerçek faydası tam olarak anlaşılamamıştır¹.

Diferansiye tiroit karsinomları (DTK), tiroit foliküler hücrelerinden kaynaklanır ve en sık görülen endokrin malign tümörlerdir. Papiller tiroit karsinomu (PTK), foliküler tiroit karsinomu (FTK) ve Hürthle hücreli karsinom (HTK), DTK'nin en yaygın varyantlarıdır ve birlikte tüm tiroit kanserlerinin %90'ından fazlasını temsil eder⁴. Histopatolojik olarak tiroit kanserleri dört kategoriye ayrılabilir: PTK, %80-85, FTK, %10-15, anaplastik (ATK, %2-3) ve medüller tiroit kanserleridir (MTK, %2-3). PTK ve FTK toplu olarak diferansiye tiroit kanseri olarak anılır⁵. DTK insidansı son yıllarda dünya çapında artmıştır ve kadınlarda erkeklere göre 2.5-3 kat daha yüksek bir insidans da görülmektedir⁴.

Tüm tiroit kanser türleri arasında PTK en yaygın histolojik tiptir, BRAF^{V600E} en sık mutasyondur ve terapötik ve prognostik etkileri olabilmektedir. BRAF genindeki mutasyonlar, BRAF proteininin hiperaktivasyonuna neden olabilir, bu da mitojenle aktive edilen protein/hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz kinazın (MEK) ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazın (ERK) fosforilasyonuna yol açar. Sonuçta malign transformasyona ve farklılaşmış fonksiyonların potansiyel kaybına neden olur⁵. BRAF^{V600E} mutasyonu BRAF mutasyonlarının %90'ından fazlasını oluşturmaktadır. Bu, ekson 15'de 1799 pozisyonundaki timinin adenin ile ikame edildiği ve 600. kalıntıdaki valin yerine glutamin ile sonuçlanan bir nokta mutasyondur⁶.

BRAF^{V600E} mutasyonu, PTK vakalarının

yaklaşık %40'ında görülür ve agresif klinikopatolojik özellikler, daha yüksek nüks oranı ve hastalıkla ilişkili mortalite ile ilişkilidir. V600E dışındaki BRAF değişiklikleri PTK'de daha az yaygındır ve bunların klinik önemi henüz belirlenmemiştir. BRAF^{V600E} mutasyonu dışında BRAF^{K601E} mutasyonu da bulunmaktadır⁶.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda biyoinformatik araçlar ile elde ettiğimiz BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit kanserli hastaların demografik ve klinik bilgilerini incelemeyi ve mutasyon taşıma ile bu veriler arasında olası ilişkiyi tespit etmeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubunun oluşturulması

Tiroit karsinomu veri seti (n:482) cBioPortal veri tabanından elde edildi. Ham verilere cBioPortal aracılığıyla erişilir. cBioPortal, Kanser Genom Atlası'ndan (TCGA) veri sağlayan açık erişimli bir biyoinformatik araçtır. Veriler 24 Eylül 2023'te indirildi.

Mutasyon Profil Analizi

Mutasyon profili analizi için cBioPortal web aracı kullanıldı. Bu web aracının sunduğu arayüz seçeneği Oncoprint ile tiroit kanserli hastalarda BRAF genindeki değişiklikler takip edildi. Ayrıca amino asit konumu ve lokalizasyonu, nükleotit değişimi, kanser alt tipi, kanser evresi, histolojik derece ve lenf nodu metastazı da cBioportal web aracı kullanılarak değerlendirildi⁷.

Toplam Sağ Kalım ve Hastalısız Sağ Kalım ile BRAF m--RNA ekspresyonu ilişkisi

GEPIA'nın yükseltilmiş bir versiyonu olan GEPIA2 (<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>), tümör dokularını ve normal dokuları karşılaştırmak için kullanılabilen web tabanlı bir veri platformudur. GEPIA'nın eski versiyonunda bulunan diferansiyel ekspresyon analizleri, spektrogram grafiği, korelasyon analizleri, hasta sağkalım analizleri, benzer gen tespitleri gibi fonksiyonların yanı sıra, hayatta kalma haritaları, izoform kullanım profillemesi, yüklü ekspresyon veri karşılaştırmaları eklenmiş ve kanser alt tipi sınıflandırıcıları gibi yeni fonksiyonlar da mevcuttur. Ayrıca, orijinal eski işlevlerden bazılarını yükseltirken, kullanıcıların kendi RNA-seq verilerini

yükleyip bunu TCGA ve GTEx örnekleriyle karşılaştırabilecekleri özelleştirilmiş analizler de sunmaktadır⁸.

Etik Onay ve Etik Standartlar

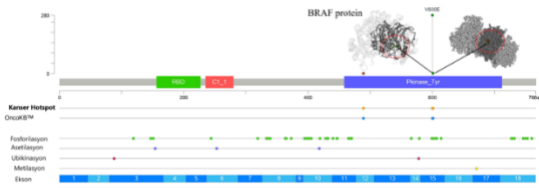
Çalışmamızda kullanılan veriler TCGA kamu veri tabanından elde edildiğinden etik onay gerekmemektedir.

İstatistiksel Analiz:

Hasta ham verilerini elde etmek ve BRAF genindeki mutasyon aralığını ve mutasyonların amino asit konumunu ve lokalizasyonunu, nükleotid değişimini, kanser alt tipini, kanser evresini, histolojik derece ve lenf nodu metastazını istatistiksel olarak değerlendirmek için cBioPortal'dan bir veri seti olan TCGA Pan-Kanser Atlası'nı kullandık. Kullanılan veriler daha sonra medyan, interquartile aralık ve yüzde ile ifade edildi. BRAF geninin genel hayatta kalma analizi, GEPIA2 web sunucusu kullanılarak Kaplan Meier hayatta kalma eğrilerinin çizilmesiyle analiz edildi. p değeri 0.05'in altında olan gen, prognozla ilişkili olduğundan anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Cbioportal database ile elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde tiroit karsinomu olan toplam 482 vakaya ulaştık. 482 vakanın 301'inde (%62.4) BRAF geninde değişimin olduğu görüldü. Bu değişimlerden 283'ü (%94) BRAF^{V600E} yanlış anlamlı mutasyonuna aitti. Bu değişimlerden 2 tanesi (%0.7) BRAF^{K601E} yanlış anlamlı mutasyonuna aitti. (Şekil 1)



Şekil 1: Gen üzerinde bulunan mutasyonların gösterimi

Diğer mutasyonlar ve mutasyonların klinik özellikleri Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1: BRAF^{V600E} Dışındaki Mutasyonların türü ve klinik özellikleri.

No	Gen	Protein Değişimi	Amerikan Ortak Komitesi Kanser Yayın Versiyon Türü	Amerikan Ortak Komitesi Kanser Metastazı Evre Kodu	Neoplazm Hastalığı Lenf Nodu Evresi Amerikan Ortak Komitesi Kanser Kodu	Amerikan Ortak Komitesi Kanser Tümörü Evre Kodu	Neoplazm Hastalığı Evresi Amerikan Ortak Komitesi Kanser Kodu
M-1	BRAF	K601E	7TH	MX	N0	T1B	EVRE I
M-2	BRAF	K601E	7TH	MX	NX	T2	EVRE II
M-3	BRAF	BCL2L11-BRAF Fusion	6TH	MX	N1A	T2	EVRE I
M-4	BRAF	BRAF-AP3B1 Fusion	5TH	M0	N1	T3	EVRE III
M-5	BRAF	BRAF-FAM114A2 Fusion	6TH	MX	NX	T2	EVRE I
M-6	BRAF	BRAF-MACF1 Fusion	7TH	M0	N1A	T2	EVRE I
M-7	BRAF	BRAF-SND1 Fusion	6TH	M0	N1	T2	EVRE I
M-8	BRAF	BRAF-SND1 Fusion	5TH	M0	N0	T1	EVRE I
M-9	BRAF	BRAF-SUGCT Fusion	7TH	MX	N0	T1A	EVRE I
M-10	BRAF	SND1-BRAF Fusion	7TH	M0	N0	T3	EVRE III
M-11	BRAF	SND1-BRAF Fusion	6TH	M0	N1	T2	EVRE I
M-12	BRAF	SND1-BRAF Fusion	7TH	MX	N0	T1A	EVRE I
M-13	BRAF	AP3B1-BRAF Fusion	5TH	M0	N1	T3	EVRE III
M-14	BRAF	FAM114A2-BRAF Fusion	6TH	MX	NX	T2	EVRE I
M-15	BRAF	MACF1-BRAF Fusion	7TH	M0	N1A	T2	EVRE I
M-16	BRAF	MKRN1-BRAF Fusion	7TH	M0	N1B	T3	EVRE I
M-17	BRAF	ZC3H4V1-BRAF Fusion	7TH	M0	N0	T1	EVRE I
M-18	BRAF	P490_Q494del	7TH	M0	N0	T1A	EVRE I

Amerikan Ortak Komitesi Kanser Yayın Versiyon Türüne göre en çok vakanın bulunduğu evre 7TH (n=188, %66.2) olurken, Amerikan Ortak Komitesi Kanser Metastazı Evre Koduna göre en fazla vaka M0'da (n=172, %60.6) bulunmaktaydı. Ayrıca Neoplazm Hastalığı Evresi Amerikan Ortak Komitesi Kanser Koduna göre vakaların çoğu Evre I'de (n=153, %53.9) toplanmaktaydı. Diğer tüm sayısal veriler Tablo 2'de yer almaktadır.

Tablo 2: Komitelerce belirlenen kanser klinik özelliklerinin sayısal ifadeleri

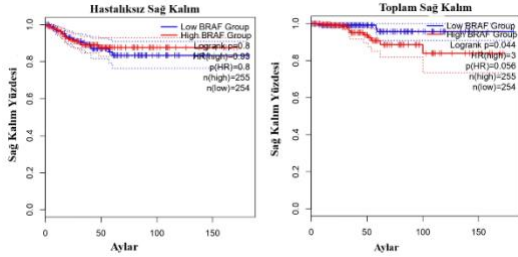
BRAF V600E (c.1799T>A) mutasyonu klinik verileri (n=301)				
Amerikan Ortak Komitesi Kanser Yayın Versiyon Türü	Amerikan Ortak Komitesi Kanser Metastazı Evre Kodu	Neoplazm Hastalığı Lenf Nodu Evresi Amerikan Ortak Komitesi Kanser Kodu	Amerikan Ortak Komitesi Kanser Tümörü Evre Kodu	Neoplazm Hastalığı Evresi Amerikan Ortak Komitesi Kanser Kodu
4TH (n=2)	M0 (n=172)	N0 (n=106)	T1 (n=22)	Evre I (n=153)
5TH (n=7)	M1 (n=5)	N1 (n=35)	T1A (n=8)	Evre II (n=18)
6TH (n=9)	MX (n=106)	N1A (n=71)	T1B (n=45)	Evre III (n=3)
7TH (n=188)		N1B (n=49)	T2 (n=80)	Evre IVA (n=34)
		NX (n=22)	T3 (n=110)	Evre IVC (n=4)
			T4 (n=4)	
			T4A (n=15)	
			TX (n=1)	

BRAF^{V600E} yanlış anlamlı mutasyonu bulunan vakaların tanı alma yaş ortalaması 47.7±15.3 idi. En düşük tanı alma yaşı 15 iken, en yüksek tanı alma yaşı 89 olarak görülmektedir. BRAF^{V600E} yanlış anlamlı mutasyonlarının bulunduğu vakaların tümünde kanser tipi PTK idi. Ayrıca 301 vakanın 8'i (2.7%) hayatını kaybederken, 293'ü (97.4%) hala hayattaydı. Kadın hasta sayısı 209 (%69.4) iken erkek hasta sayısı 74 (%24.6) idi. Ayrıca vakaların ırk kategorisinde en yüksek BRAF^{V600E} görülme oranı beyaz ırka aitti (n=200, %70.4) (Tablo 3).

Tablo 3: BRAF^{V600E} mutasyonunu olan vakalara ait demografik bilgiler

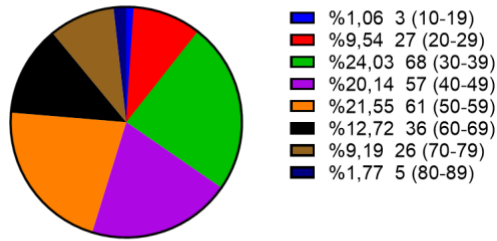
BRAF ^{V600E} (c.1799T>A) mutasyonu demografik bilgiler (n=284)			
Tanı Yaşı Ortalama (Standart sapma)	Cinsiyet	İrk Kategorisi	Toplam Sağ Kalım (Aylar) Medyan (Interkuartil aralık)
47,7 (15,3)	- Kadın (n=209, 69,4%) - Erkek (n=74, 26,4%)	- Amerikan Kızılderili veya Alaska Yerlisi (n=1) - Asya (n=31) - Siyah veya Afrikalı Amerikalı (n=15) - Beyaz (n=200) - Bilinmeyen (n=37)	29,9 (16,8-45,6)

Vakaların toplam sağ kalım durumu için medyan değeri 29.9 aydı. Ayrıca BRAF gen ekspresyonu ile toplam sağ kalım ve hastalısız sağ kalım analiz sonuçlarına göre yüksek BRAF gen ekspresyonu daha kısa toplam sağ kalım ile ilişkiliydi (p=0.044). Diğer taraftan hastalısız sağ kalım ile BRAF gen ekspresyon düzeyleri arasında bir ilişki yoktu (p=0.8) (Şekil 2).

**Şekil 2:** Toplam Sağ kalım ve Hastalısız Sağ Kalım grafikleri

Yaş dekadlarına göre en fazla tanı alma yaş aralığı 30-39 aralığındadır. Diğer yaş dekadlarına ait dağılım Şekil 3'te gösterilmektedir.

Yaş dekadlarına göre tanı yaşları



Toplam=283

Şekil 3: Yaş dekadlarına göre tanı yaşları

TARTIŞMA

Mevcut çalışmada BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit kansinomu kohortunda vakaların demografik özellikleri ve kanser kliniği açısından bazı açık erişimli veri tabanları kullanılarak değerlendirme yapıldı.

BRAF gen mutasyonlarının varlığı, tiroit kanserinde, özellikle PTK önemli bir moleküler olay olarak ortaya çıkmıştır. 7q34 kromozomunda bulunan BRAF geni, mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolunun bir parçası olan serin/treonin kinazı kodlar. Tiroit kanserinde en sık görülen mutasyon, BRAF geninin 600. pozisyonundaki (V600E) glutamatın yerine valinin geçmesidir. BRAF^{V600E} mutasyonu, PTK vakalarının yaklaşık %45-70'inde yaygındır ve bu da onu bu alt tipte en sık mutasyona uğrayan gen yapar^{9,10}. Bu mutasyon, MAPK yolunun yapısal aktivasyonuna yol açarak, kanserin ayırt edici özellikleri olan kontrolsüz hücre çoğalmasına, hayatta kalmasına ve farklılaşmasına sebep olur¹¹. BRAF geni üzerinde evrimsel süreçte yüzde yüz korunmuş üç adet domain bulunmaktadır. Bunlar Raf-benzeri Ras-bağlama domaini (156-227), Forbol esterleri/diasilgliserol bağlanma domaini (C1 domaini) (235-280) ve protein tirozin kinaz (458-712) domainidir. p.V600E yanlış anlamalı mutasyonu protein tirozin kinaz domaini üzerinde bulunmaktadır. Klinik olarak BRAF^{V600E} mutasyonunun varlığı daha agresif tümör davranışıyla ilişkilendirilmiştir. BRAF mutasyonlu PTK'li hastalar sıklıkla daha büyük tümör boyutları, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastazı ve daha yüksek nüks oranlarıyla karşımıza çıkar^{10,12}. Ek olarak, BRAF^{V600E} mutasyonunun varlığı, tiroit kanseri hücrelerinde iyot aviditesinin kaybına yol açarak, tiroit kanseri için temel tedavi yöntemi olan radyoyot tedavisine yanıtın azalmasına yol açmaktadır^{12,13}.

BRAF mutasyonu tiroit bezinde iyot alım genlerinin ekspresyonunun azalmasına, insan sodyum iyodür taşıma proteini (NIS) gen ekspresyonunun kaybına ve NIS proteininin yapısal bozukluğuna yol açarak bazı PTK hastalarının radyoaktif iyot tedavisine dirençli olmasına ve sonuçta tedavi başarısızlığından sonra kötü prognozla sonuçlanmasına neden olmaktadır¹⁵. BRAF mutasyonlarının tiroit kanserindeki prognostik etkileri devam eden bir

araştırma konusudur. Bazı çalışmalar BRAF^{V600E} mutasyonunun varlığının daha kötü bir genel hayatta kalma oranıyla ilişkili olduğunu öne sürerken diğerleri anlamlı bir ilişki bulamamıştır^{10,16,17}. BRAF gen mutasyonu olan tiroit kanserli kohortta yüksek BRAF gen ekspresyonunun, düşük BRAF gen ekspresyonuna göre daha kötü sağ kalım ile ilişkili olduğu görülürken, hastaliksız sağ kalım süresinin BRAF gen ekspresyonu ile ilişkili olmadığı görülmüştür. Biz ise yapmış olduğumuz analizler sonucunda yüksek BRAF gen ekspresyonunun kısa sağ kalım süresi ile ilişkili olduğunu tespit ettik. Diğer çalışmalar ile benzer şekilde hastaliksız sağ kalım ile BRAF gen ekspresyon düzeyleri arasında bir ilişki gözlemlenemedi.

BRAF mutasyonlarının prevalansının, tiroit kanserinin farklı histolojik alt tiplerine göre değişebileceği dikkat çekicidir. BRAF^{V600E} ağırlıklı olarak PTK'de bulunurken, foliküler tiroit karsinomu veya az farklılaşmış tiroit karsinomu gibi diğer alt tiplerde ortaya çıkması daha az sıklıkta görülür ve farklı klinik sonuçlar ortaya çıkarabilir^{18,19}. BRAF mutasyonlarının tanımlanması, yalnızca tiroit kanserinin moleküler yapısına ilişkin değerli bilgiler sağlamakla kalmaz, aynı zamanda önemli klinik çıkarımlar da içermektedir. Potansiyel bir prognostik belirteç görevi görür ve risk sınıflandırmasına ve tedavi kararı vermeye yardımcı olur^{20,21}. İncelediğimiz BRAF mutasyonlu tiroit karsinomu kohortunda tüm vakalarda kanser alt tipi PTK olarak tespit edildi. Ayrıca BRAF^{V600E} mutasyonunun varlığı farklı klinikopatolojik özelliklerle ilişkilendirilmiştir. BRAF mutasyonlarını barındıran PTK'ler, bu mutasyonu taşımayanlara kıyasla daha agresif davranışlar sergileme eğilimindedir. Bu tümörler sıklıkla daha büyük boyut, tiroit dışı yayılım ve lenf nodu metastazı için daha yüksek eğilim gibi özelliklerle ortaya çıkar^{10,12}. Agresif özelliklerle olan bu ilişki, tiroit kanseri hastalarında BRAF mutasyonlarını tanımlamanın klinik önemini vurgulamaktadır. Çalışmalar, BRAF mutasyonlarının varlığı ile bölgesel lenf nodu tutulumu olasılığının artması arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir^{10,12,17}. Bu bulgu, BRAF mutasyon durumunun lenf nodu metastazı için prognostik bir belirteç olarak potansiyel faydasına atıfta bulunmaktadır. BRAF mutasyonlu tiroit kanserlerinin çevre

dokulara yayılım eğilimi daha yüksektir. Bu agresif davranış, uzak metastaz riskinin artmasına yol açarak daha yüksek nüks oranına katkıda bulunabilir ve potansiyel olarak genel sağkalımı etkileyebilir^{10,22}. Bu alt tiplerde BRAF mutasyonlarının varlığı, farklı klinikopatolojik özellikler ve prognostik çıkarımlar sağlayabilir. BRAF^{V600E} mutasyonu olan PTK hastalarında lenf nodu metastazı (LNM) prevalansının arttığı bulunmuştur, bu da PTK hastalarında mutasyon ve multifokalite arasında bir ilişki olduğunu gösterir¹⁵. BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit kanseri kohortumuzda palpe edilebilen lenf nodu tutulumu olmayan vaka sayısı toplam vaka sayısının %35'i kadardı. Geri kalan vakalarda lenf nodu tutulumu mevcuttu. Uzak metastaz genellikle PTK'lerin hızlı gelişiminin bir göstergesi olarak kabul edilir. BRAF^{V600E} mutasyonunun PTK hastalarında uzak metastaz da dahil olmak üzere daha kötü prognoza neden olduğu gösterilmiştir^{15,23}. Ayrıca bilinen uzak metastazı olmayan vaka sayısı toplam vaka sayısının %57.1'ini oluştururken, %35.2'sinin uzak metastazı değerlendirilememiştir. Tümör boyutu >4 cm olan hasta sayısı toplam hasta sayısının %14.9'unu oluşturmaktaydı. Yapılan metaanaliz çalışmaları BRAF^{V600E} mutasyonunun PTK'da ileri evre anlamlı korelasyonu olduğunu bildirmiştir. Özellikle evre III ve evre IV ile ilişkisinin yüksek olduğu ifade edilmektedir^{15,24}. BRAF^{V600E} mutasyonu bulunan PTK kohortumuzda vakalar en fazla evre I'de (%50.8) bulunmaktadır. Bunu sırasıyla evre III (%24.2) ve evre IV (%12.6) takip etmektedir. Her ne kadar incelediğimiz kohortun klinik durumu hakkında bu bilgiler değerli olsa da belirli bir hasta popülasyonunu yansıttığı ve tiroit dışı dokulara yayılımını değerlendirmek için gereken vaka sayısının az olması tümörün klinik önemini vurgulamak için yeterli olmayabilir.

Tiroit kanserinde BRAF gen mutasyonlarının prevalansı, farklı yaş grupları arasında dikkate değer farklılıklar göstererek, bu malignitenin moleküler yapısına ilişkin değerli bilgiler sağlayabilir. BRAF mutasyonlarındaki bu yaşa bağlı eğilimleri anlamak, terapötik stratejilerin ve prognostik değerlendirmelerin uyarlanması açısından çok önemli olabilir²⁵. Daha genç hasta popülasyonlarında, özellikle yaşamın ikinci ve üçüncü dekadında, BRAF mutasyonlarına, özellikle de V600E değişimine daha yüksek

sıklıkta rastlanmaktadır. Çalışmalar, pediatrik ve ergen tiroit kanseri vakalarında %60 ile %80 arasında değişen oranlarda BRAF mutasyonlarının daha yüksek olduğunu göstermektedir²⁵⁻²⁷. Genç bireylerde BRAF mutasyonlarının artan prevalansı, bu yaş grubundaki tiroit kanserinin farklı genetik temellerini vurgulamaktadır. Tersine, yaş ilerledikçe BRAF mutasyonlarının prevalansı azalma eğilimindedir. 40 yaş ve üzeri hastalarda, özellikle 60 yaşın üzerindeki hastalarda BRAF mutasyonlarının ortaya çıkmasında kademeli bir düşüş olduğu gösterilmiştir^{28,29}. BRAF mutasyonlarındaki yaşa bağlı bu azalma, ek genetik değişikliklerin edinilmesine veya çevresel faktörlerin uzun bir süre boyunca etkisine atfedilebilir. Ayrıca, BRAF mutasyonlarının yaş grupları arasındaki farklı prevalansı klinik yönetim açısından önemli olabilir. BRAF mutasyonlu tiroit kanseri olan daha genç hastalar, bu genetik değişikliklerle ilişkili daha yüksek prevalans ve potansiyel olarak daha agresif klinik seyir göz önüne alındığında, hedefe yönelik tedaviler de dahil olmak üzere özel terapötik stratejilerden yararlanabilir^{20,21}. Bunun tersine, yaşlı hastaların BRAF mutasyonlarını taşıma olasılığı daha düşük olabilir ve bu da tedavi kararlarını ve prognostik değerlendirmeleri etkileyebilir. BRAF mutasyonlarındaki yaşa bağlı eğilimlerin, tiroit kanserinin moleküler boyutunun daha detaylı değerlendirilmesi gerektiğini belirtmek için önemlidir^{17,26}. Bununla birlikte, 18 yaşın üzerindeki hastalarda cinsiyet ve yaşın spesifik histopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisi hala tartışılan bir konudur²⁵. On dört çalışmanın meta-analizine göre, daha ileri yaş (≥ 45 yaş), PTK olan hastalarda BRAF^{V600E} mutasyonu riskinin artmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. “Artan risk” terimi, daha yaşlı yaş grubundaki hastaların daha genç hastalara kıyasla BRAF^{V600E} mutasyonuna sahip olma olasılığının daha yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Bu durum tanı ve tedavide etkili olabilecek bir durum olabilmektedir¹⁵. Yaş grupları ile ilgili çalışmalardan elde edilen farklı sonuçlar, daha önce belirttiğimiz tiroit kanseri aşırı tanısız değerlendirilmesinin belirli yaş gruplarında toplanmasından kaynaklanabilir. Bu demografik eğilim, farklı etiyojik faktörleri ve farklı yaş gruplarındaki alta yatan genetik duyarlılık profillerini

yansıtır olabilir. İncelediğimiz BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit karsinomu kohortunda literatürle uyumlu olarak yaşa bağlı BRAF gen mutasyonu tanısında bir azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca en sık BRAF mutasyonu tanısı 30-39 yaş aralığında karşımıza çıkmaktadır. Bunun aksine en düşük BRAF gen mutasyonu tanısı 10-19 yaş aralığında görülmektedir.

Çalışmalar tiroit kanserinde BRAF mutasyonlarının cinsiyete göre değişen sıklıkta olduğunu göstermiştir. BRAF^{V600E} mutasyonunun kadınlarda erkeklere göre daha yaygın olduğu bildirilmektedir^{28,30}. Epidemiyolojik düzeyde, veri tabanlarından elde edilen veriler kadınların erkeklere göre daha yüksek bir insidansa ve daha iyi prognoza sahip olduğunu doğrulamaktadır. Tümör tipi ve üreme durumuna göre sınıflandırma yapılırken elde edilen veriler, prognozdaki genetik cinsiyet farklılığının aynı yaştaki erkeklere kıyasla yalnızca menopoz öncesi kadınlarla olduğunu göstermektedir³¹. Erkek cinsiyette mutasyon sıklığının kadınlara göre az olmasına rağmen, PTK olan hastalarda cinsiyet ile BRAF^{V600E} mutasyonu arasındaki ilişki on dokuz çalışmada analiz edilmiş ve erkek PTK hastalarında BRAF^{V600E} mutasyonunun önemli bir risk faktörü olduğu bulunmuştur¹⁵. Ayrıca erkeklerde tiroit dışı yayılımın kadınlara göre daha sık olduğu görülmüş ve erkeklerde hastalığın daha agresif seyrettiği bildirilmiştir³¹. BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit karsinomu kohortunda kadın hasta sayısı erkek hasta sayının iki katından fazlaydı. Bu cinsiyet yanlılığı hormonal etkilere veya henüz tanımlanamayan diğer faktörlere bağlanabilir. Cinsiyetler arasında mutasyon oranlarında gözlenen farklılıklar, tiroit kanseri hastalarının değerlendirilmesi ve tedavisinde demografik faktörlerin dikkate alınması gerekmektedir. Ayrıca sağlık hizmetlerinde kadın hastaların hastanelere daha fazla başvuru yapma ihtimalinin olması erkeklerin yetersiz tanı alması ile ilişkili olabilmektedir.

Tiroit kanserinde BRAF mutasyonlarının prevalansı da farklı etnik ve ırksal gruplar arasında farklılıklar göstermektedir. Örneğin, Avrupa, Asya ve Afrika kökenli popülasyonlar arasında BRAF mutasyonlarının prevalansında farklılıklar olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir^{12,13,32}. BRAF gen mutasyonu bulunan tiroit karsinomlu kohortumuzda en

fazla kanserin görülme sıklığı beyaz ırkta karşımıza çıkarken, Asyalılar beyaz ırkı takip etmektedir. En az görülme sıklığı ise Amerikan Kızılderili veya Alaskalılarda bulunmaktadır. Bu farklılıklar popülasyonlar arasında farklılık gösteren genetik, çevresel ve yaşam tarzı faktörlerine bağlanabilir. Bu demografik farklılıkları anlamak, tarama ve yönetim stratejilerini belirli popülasyonlara göre uyarlamak için çok önemlidir. Tiroit kanserinde BRAF mutasyonlarının prevalansında coğrafi farklılıklar gözlemlenmiştir. İyot alımındaki değişiklikler veya radyasyona maruz kalma gibi farklı çevresel maruziyetlere sahip bölgeler, BRAF mutasyonlarının prevalansında farklılıklar gösterebilir¹².

BRAF mutasyonlarındaki bu demografik bağımlı eğilimler, tiroit kanseri etiyolojisinin çok yönlü doğasının altını çizmektedir. Genetik, hormonal, çevresel ve yaşam tarzı faktörleri toplu olarak, farklı demografik gruplarda BRAF mutasyonu prevalansında gözlemlenen farklılıklara katkıda bulunur. Bu demografik farklılıkları anlamak, tarama, teşhis ve tedavi yaklaşımlarının belirli popülasyonlara göre uyarlanması açısından çok önemlidir. Bu demografik bağımlı eğilimleri yönlendiren altta yatan mekanizmaları ve bunların tiroit kanseri hastalarının kişiselleştirilmiş yönetimine etkilerini açıklamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak, BRAF gen mutasyonlarının, özellikle de V600E yer değişikliğinin varlığı, tiroit kanserinin patogeneğinde, özellikle de PTK'de, kritik bir moleküler olayı temsil etmektedir. BRAF mutasyonlarının fonksiyonel ve klinik etkilerini anlamak, tiroit kanserinin biyolojisine dair değerli bilgiler sunmuş ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesinin yolunu açmıştır. BRAF mutasyonlu tiroit kanseri olan hastalar için prognostik sınıflandırmayı iyileştirmek ve tedavi yaklaşımlarını optimize etmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Tiroit kanserinde BRAF gen mutasyonlarının varlığı spesifik klinikopatolojik özelliklerle yakından bağlantılıdır ve bu tümörlerin davranışlarına ilişkin değerli bilgiler sağlar. Bu ilişkileri anlamak, risk sınıflandırması, tedavi planlaması ve prognostik değerlendirmeler için çok

önemlidir. Tiroit kanserinde BRAF gen mutasyonlarının prevalansı yaşa bağlı olarak belirgin eğilimler göstermektedir. Bu farklılıkları anlamak, terapötik yaklaşımları ve prognostik değerlendirmeleri yaşa göre uyarlamak için çok önemlidir. Yaşa bağlı bu eğilimleri yönlendiren altta yatan mekanizmaları ve bunların tiroit kanseri hastalarının kişiselleştirilmiş yönetimine etkilerini açıklamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. BRAF mutasyonlarının tiroit kanserindeki klinik etkilerine ilişkin anlayışımızı geliştirmek için özellikle farklı toplumlarda ve homojen dağılmış yaş gruplarına yapılacak daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Etik Onay: Çalışmamızda kullanılan veriler TCGA kamu veri tabanından elde edildiğinden etik onaya gerek bulunmamaktadır.

Çıkar Çatışması: Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Bu çalışma için herhangi bir kurum ya da firmadan maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Ethical Approval: Since the data used in our study was obtained from the TCGA public database, ethical approval was not needed.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest regarding this study.

Financial Support: No financial and/or moral support was received from any institution or company for this study.

KAYNAKLAR

1. Moon S, Song YS, Jung KY, Lee EK, Park YJ. Lower Thyroid Cancer Mortality in Patients Detected by Screening: A Meta-Analysis. *Endocrinol Metab* 2023;38:93–103. <https://doi.org/10.3803/EnM.2023.166>.
2. Pizzato M, Li M, Vignat J, Laversanne M, Singh D, Vecchia CL, et al. The epidemiological landscape of thyroid cancer worldwide: GLOBOCAN estimates for incidence and mortality rates in 2020. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2022;10:264–272. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00035-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00035-3).
3. Huang J, Ngai CH, Deng Y, Pun CN, Lok V, Zhang L, et al. Incidence and mortality of thyroid cancer in 50 countries: a joinpoint regression analysis of global trends. *Endocrine* 2023;80:355–365. <https://doi.org/10.1007/s12020-022-03274-7>.
4. Houten P van, Netea-Maier RT, Smit JW. Differentiated thyroid carcinoma: An update. *Best Practice & Research Clinica Endocrinology*

- & Metabolism 2023; 37:101687. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2022.101687>.
5. Chen D, Su X, Zhu L, Jia H, Han B, Chen H, et al. Papillary thyroid cancer organoids harboring BRAFV600E mutation reveal potentially beneficial effects of BRAF inhibitor-based combination therapies. *J Transl Med* 2023; 21:9. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03848-z>.
 6. Podolski A, Castellucci E, Halmos B. Precision medicine: BRAF mutations in thyroid cancer. *Precision Cancer Med* 2019; 2:29. <https://doi.org/10.21037/pcm.2019.09.04>.
 7. Ayan D, Cagatay A. Bioinformatic analysis of genetic changes CLOCK, BMAL1, CRY1, CRY2, PER1, PER2, PER3, and NPAS2 proteins in HCC patients. *Hepatol Forum* 2023;4:108–117. <https://doi.org/10.14744/hf.2023.2023.0009>
 8. Tang Z, Kang B, Li C, Chen T, Zhang Z. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic Acids Res* 2019;47:W556–W560. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz430>.
 9. Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev* 2007;28:742–762. <https://doi.org/10.1210/er.2007-0007>
 10. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, Shong YK, Kim TY, Viola D, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer. *J Clin Oncol* 2015;33:42–50. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.8253>
 11. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell* 2014;159:676–690. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.050>
 12. Kim TH, Park YJ, Lim JA, Ahn HY, Lee EK, Lee YJ, et al. The association of the BRAF(V600E) mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *Cancer* 2012;118:1764–1773. <https://doi.org/10.1002/cncr.26500>.
 13. Durante C, Puxeddu E, Ferretti E, Morisi R, Moretti S, Bruno R, et al. BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2840–2843. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-2707>.
 14. Kim TY, Kim WB, Rhee YS, Song JY, Kim JM, Gong G, et al. The BRAF mutation is useful for prediction of clinical recurrence in low-risk patients with conventional papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65:364–368. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2006.02605.x>.
 15. Wei X, Wang X, Xiong J, Li C, Liao Y, Zhu Y, et al. Risk and Prognostic Factors for BRAFV600E Mutations in Papillary Thyroid Carcinoma. *Biomed Res Int* 2022;2022:9959649. <https://doi.org/10.1155/2022/9959649>.
 16. Zhao L, Wang L, Jia X, Hu X, Pang P, Zhao S, et al. The Coexistence of Genetic Mutations in Thyroid Carcinoma Predicts Histopathological Factors Associated With a Poor Prognosis: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Front Oncol* 2020;10:540238. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.540238>.
 17. Attia AS, Hussein M, Issa PP, Elnahla A, Farhoud A, Magazine BM, et al. Association of BRAFV600E Mutation with the Aggressive Behavior of Papillary Thyroid Microcarcinoma: A Meta-Analysis of 33 Studies. *Int J Mol Sci* 2022;23:15626. <https://doi.org/10.3390/ijms232415626>.
 18. Landa I, Ganly I, Chan TA, Mitsutake N, Matsuse M, Ibrahimovic T, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:E1562-1566. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2383>.
 19. Gild ML, Bullock M, Robinson BG, Clifton-Bligh R. Multikinase inhibitors: a new option for the treatment of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7:617–624. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.141>.
 20. Subbiah V, Kreitman RJ, Wainberg ZA, Cho JY, Schellens JHM, Soria JC, et al. Dabrafenib and Trametinib Treatment in Patients With Locally Advanced or Metastatic BRAF V600-Mutant Anaplastic Thyroid Cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36(1):7-13. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.6785>.
 21. Cabanillas ME, Ferrarotto R, Garden AS, Ahmed S, Busaidy NL, Dadu R, et al. Neoadjuvant BRAF- and Immune-Directed Therapy for Anaplastic Thyroid Carcinoma. *Thyroid* 2018;28:945–951. <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0060>.
 22. Czarniecka A, Oczko-Wojciechowska M, Barczyński M. BRAF V600E mutation in prognostication of papillary thyroid cancer (PTC) recurrence. *Gland Surg* 2016;5:495–505. <https://doi.org/10.21037/gs.2016.09.09>.
 23. Lee J, Ha EJ, Roh J, Kim HK. Presence of TERT ± BRAF V600E mutation is not a risk factor for the clinical management of patients with papillary thyroid microcarcinoma. *Surgery* 2021;170:743–747. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2021.03.056>.
 24. Murugan AK, Qasem E, Al-Hindi H, Shi Y, Alzahrani AS. Classical V600E and other non-hotspot BRAF mutations in adult differentiated thyroid cancer. *J Transl Med* 2016;14:204. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-0958-x>.
 25. Martínez JRW, Vargas-Salas S, Gamboa SU, Muñoz E, Domínguez JM, León A, et al. The Combination of RET, BRAF and Demographic

- Data Identifies Subsets of Patients with Aggressive Papillary Thyroid Cancer. *Horm Cancer* 2019;10:97–106. <https://doi.org/10.1007/s12672-019-0359-8>.
26. Gupta O, Gautam U, Chandrasekhar M, Rajwanshi A, Radotra BD, Verma R, et al. Molecular Testing for BRAFV600E and RAS Mutations from Cytoscrapes of Thyroid Fine Needle Aspirates: A Single-Center Pilot Study. *J Cytol* 2020;37:174–181. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_45_20.
 27. Fugazzola L, Puxeddu E, Avenia N, Romei C, Cirello V, Cavaliere A, et al. Correlation between B-RAFV600E mutation and clinicopathologic parameters in papillary thyroid carcinoma: data from a multicentric Italian study and review of the literature. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:455–464. <https://doi.org/10.1677/erc.1.01086>.
 28. Lima J, Trovisco V, Soares P, Máximo V, Magalhães J, Salvatore G, et al. BRAF mutations are not a major event in post-Chernobyl childhood thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4267–4271. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-032224>.
 29. Soares P, Trovisco V, Rocha AS, Lima J, Castro P, Preto A, et al. BRAF mutations and RET/PTC rearrangements are alternative events in the etiopathogenesis of PTC. *Oncogene* 2003;22:4578–4580. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206706>.
 30. Tufano RP, Teixeira GV, Bishop J, Carson KA, Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer and its value in tailoring initial treatment: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2012;91:274–286. <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e31826a9c71>.
 31. Morand GB, Tessler I, Krasner J, Pusztaszeri MP, Yamin T, Gecel NA, et al. Investigation of genetic sex-specific molecular profile in well-differentiated thyroid cancer: Is there a difference between females and males? *Clin Otolaryngol* 2023;48:748–755. <https://doi.org/10.1111/coa.14075>.
 32. Liu C, Chen T, Liu Z. Associations between BRAF(V600E) and prognostic factors and poor outcomes in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *World J Surg Oncol* 2016;14:241. <https://doi.org/10.1186/s12957-016-0979-1>.