

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**TİROİD KARSİNOMLARINDA  
KI-67, P 53 VE CYCLİN D1 EKSPRESYONU**

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞERMİN ÇOBAN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR. NAGİHAN YALÇIN

DENİZLİ - 2008

## GİRİŞ

Tiroid karsinomları dünyada tüm karsinomların %1'ini oluşturmakla birlikte, endokrin sistemin en sık görülen malignitesidir (1). Tiroid karsinomlarının dört majör grubu vardır: Papiller karsinom, Folliküler karsinom, Medüller karsinom ve Anaplastik karsinom (1). Bunlardan en sık görülen papiller karsinomdur (1,2). EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) tiroid karsinomlarını skorlarken hastanın yaşı, cinsiyeti, tümör tipi, tiroid dışı yayılım ve uzak metastazı dikkate almışlardır. Bazı otörler ek olarak tümör büyüklüğünü de kullanmışlardır (1,3). Tümörün progresyonunun ve tedaviye vereceği yanıtın tahmin edilebilmesi için, histopatolojik ve klinik bulgular dışında çeşitli belirleyiciler kullanılabilir. Ki-67, p53 ve cyclin D1 bu belirleyiciler arasındadır (3-12). Ki-67, hücre proliferasyonunun G1, G2, S ve M fazlarında eksprese edilen nükleer non-histon proteinlere karşılık gelen antijen ile reaksiyona giren monoklonal antikordur. Ki-67 birçok tümörde proliferatif aktiviteyi ve agresiv gidişi göstermede yardımcıdır (4). Ki-67 ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında, karsinomlar genellikle adenomlara göre daha yüksek proliferatif indekse sahiptir (5,10). Ki-67 indeksi %1.85'in üzeri kötü prognostik faktör olarak belirtilirken (4), metastaz yapmış tiroid karsinomlarında yüksek bulunmuştur (7). Tümör supressör gen olan p53 kaybı farklı tümörlerin karsinogenezinde önemli rol oynar. Tiroid karsinomlarında mutant p53 ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalarda, iyi differansiye karsinomlarda boyanma saptanmazken, az differansiye karsinomlarda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (8,9). Cyclin D1, hücre siklusunda G1/ S geçişinde gerekli olan bir proteindir (10). Tümör boyutu arttığında ve lenf nodu metastazı varlığında cyclin D1 ekspresyonu yüksek bulunmuştur (7,11). Yine başka bir çalışmada cyclin D1 kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (12).

Bu çalışmada amacımız, tiroid karsinomlarında histopatolojik ve klinik verilerle (yaş, cinsiyet, tümör tipi, tümör boyutu, tiroid dışı yayılım, rekürrens, lenf nodu ve uzak metastaz) Ki-67, p53 ve cyclin D1 ekspresyonu arasındaki ilişkileri değerlendirmek ve bu belirleyicilerin tiroid karsinomlarının prognozunu tahmin etmedeki önemini saptamaktır.

## GENEL BİLGİLER

Tiroid bezi, farinks tabanında daha sonra foramen çekumla belli olan bir noktada, bir epitel çoğalması olarak görülür. Bunu takiben faringeal bağırsağın önünden iki loblu bir divertikül halinde aşağı iner. Bu göç sırasında, tiroid bezi dille dar bir kanal olan tiroglossal duktusla bağlantısını devam ettirir. Bu kanal daha sonra kaybolur. Gelişimin daha ileri evrelerinde, tiroid bezi hyoid kemiğin ve larinks kıkırdaklarının önünden aşağı iner ve 7. haftada trakeanın önündeki son konumuna ulaşır (13).

Tiroid bezi, istmusa bağlı iki lobdan oluşur. İnce bir kapsülle çevrilidir ve zengin bir damar ağına sahiptir. Normal bir tiroid bezi 10-20 gram ağırlığındadır. Fibröz septalarla çevrili lobüllerde 20-40 follikül yapısı bulunur. Folliküller kübik ya da küboidal epitel ile döşeli olup, lümenlerinde kolloid içerir. C hücreleri follikül epitel hücreleri komşuluğunda yer alır. C hücreleri iğsi ya da poligonal şekillidir (14).

Tiroid karsinomları, dünyada insanlarda görülen tüm kanserlerin %1'ini oluşturmakla birlikte, endokrin sistemin en sık görülen ve en sık ölüm sebebi olan malignitesidir. Tiroidde karsinom dışındaki diğer maligniteler oldukça nadirdir (1,14). Tiroid karsinomları, en sık genç ve orta yaşlı adultlarda görülür. Kadınlarda erkeklere göre 2-4 kat daha sıktır. Tiroid karsinomları pediatrik yaş grubunda seyrek görülür. Çocuk ve adölesan malignitelerinin %3'ünden azını oluşturur (15).

### ETİYOLOJİ:

Çevresel, hormonal ve genetik faktörler etiyojisinde suçlanmaktadır. Radyoaktif iyot maruziyetine bağlı DNA hasarı sonucu gelişebilir. Geriye dönük yapılan çalışmalarda, yüksek doz (>10 Gy) radyoaktif iyot maruziyetinde (genellikle kanser terapilerinde kullanılır), tiroid kanseri gelişme riskinde artış saptanmıştır (1). Tiroid karsinomları kadınlarda erkeklere göre çok daha sık görülmesi sebebiyle, hormonal faktörler üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Geçirilen gebelik sayısında artış, ilk

gebeliğin geç olması, abortus öyküsü, fertilité problemleri ve oral kontraseptif kullanımı suçlanan nedenler arasındadır (14). İyot eksikliğine bağlı TSH stimölasyonu diğer bir sebeptir. Özellikle Folliküler karsinom gelişiminde suçlanmaktadır (1). Papiller karsinom ile lenfositik tiroidit birlikteliği sıktır. Karsinoma otoimmün yanıt olarak ortaya çıktığı kabul edilmektedir (1).

## **TİROİD TÜMÖRLERİ**

Tiroidde görölen neoplazilerin büyük bölümü primer ve epitelyal kökenli tümörlerdir (Tablo 1). Epitelyal tümörler köken aldığı hücre tipine göre üç ana guruba ayrılır:

- Folliküler hücre kökenli tümörler
- C hücre kökenli tümörler
- Folliküler ve C hücre kökenli tümörler.

Olguların %95'inden fazlası folliküler hücre kökenlidir. Tiroid tümörlerinin dört temel tipi Papiller Karsinom, Folliküler Karsinom, Medüller Karsinom ve Anaplastik (Andifferansiye) Karsinom`dur (1).

## **PAPİLLER KARSİNOM**

Tiroidin folliküler hücrelerinden köken alan, nükleer özellikleri ile karakterize malign epitelyal tümördür. En sık görölen tiroid malignitesidir (1,2).

Her yaş gurubunda görölmekle birlikte, en sık 20-50 yaşlarda rastlanır. Çocuklarda görölen tiroid malignitelerinin %90'nından fazlasını oluşturur (1,2). Kadınlarda belirgin olarak daha fazla görölür (K/E=4/1). Hastaların %5-10'unun öyküsünde, boyuna radyasyon maruziyeti bulunmaktadır (1,2).

Tablo 1. **WHO 2004 SINIFLAMASI**

**BENİGN:**

- Folliküler Adenom
- Hyalinize Trabeküler Tümör

**MALİGN:**

- Papiller Karsinom
- Folliküler Karsinom
- Kötü Diferansiye Karsinom
- Anaplastik (Andiferansiye) Karsinom
- Medüller Karsinom
- Miks Medüller ve Folliküler Hücreli Karsinom
- Skuamöz Hücreli Karsinom
- Mukoepidermoid Karsinom
- Sklerozing Mukoepidermoid Karsinom (eosinofili ile birlikte)
- Müsinöz Karsinom
- Timus Benzeri Diferansiyasyon Gösteren İğsi Hücreli Tümör
- Timus Benzeri Diferansiyasyon Gösteren Karsinom

**DİĞER:**

- Teratom
- Primer Lenfoma ve Plazmositom
- Ektopik Timoma
- Anjiosarkom
- Düz Kas Hücreli Tümör
- Periferel Sinir Kılıfı Tümörü
- Paraganglioma
- Soliter Fibröz Tümör
- Folliküler Dendritik Hücreli Tümör
- Langerhans Hücreli Histiositoz
- Metastatik Tümörler

Papiller karsinom, normal yerleşimli tiroid bezinde veya struma overi gibi ektopik tiroid dokusunda gelişebilir. Soliter nodül olarak palpe edilir. Nonpalpabl nodüller, USG, BT, MR ile görüntülenebilir. Radyoaktif iyot görüntüleme yönteminde, soğuk nodül olarak saptanır. Tiroid fonksiyon testleri kanser tanısı koymada yardımcı değildir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB), papiller karsinom tanısında en etkili yöntemdir. İİAB sonucu 'Benign sitoloji' tanısı alan soliter nodüllü olguların %75'inde, başka bir işleme ya da cerrahiye gerek kalmaz (2).

### **Makroskopi:**

Tümör boyutu mikroskopik boyuttan birkaç cm.'ye kadar değişiklik gösterir. Multisentrik olabilir. Çoğu lezyon, gri-beyaz renkli, düzensiz sınırlı bir kitle şeklindedir. Ancak, %10'dan az lezyon kapsüllü olabilir. Kalsifikasyon ya da kistik değişiklikler görülebilir. Bazen, primer tümör solid paternde iken, metastazı kistik paternde izlenebilir. Tiroid çevresi yumuşak dokuya, özefagusa ya da trakeaya invazyon görülebilir (1,2).

### **Histopatoloji ve Sitopatoloji:**

Sellülerite artmıştır. Papiller oluşumlar, üç boyutlu kompleks yapılar ya da kolloidden fakir tek tabakalı gruplar ve folliküler yapılar izlenir. Kalsifiye psammom cisimcikleri görülebilir. Hücreler genellikle kuboidal şekillidir, ancak kolumnar, poligonal, iğsi ya da skuamöz hücre morfolojisinde de olabilir. Nükleuslar iri ve berrak görünümündedir. Santralde küçük nukleol, periferde ise kromatin içerir. İlk kez 1973 yılında Söderström ve Biorckland tarafından rapor edilen intranükleer sitoplazmik inklüzyonlar karakteristiktir. Üçten fazla gerçek intranükleer sitoplazmik inklüzyon görülürse, papiller karsinom için patognomoniktir. Ayrıca intranükleer groove yapıları da tanıda oldukça önemlidir (1,2,16).

### **İmmunohistokimya:**

Tiroidin papiller karsinomlarında pansitokeratin pozitifdir. Keratin profili genellikle sitokeratin 7, sitokeratin 19 ve yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratin (34BE12) pozitifliği ve sitokeratin 20 negatifliği şeklindedir. Ayrıca tiroglobülin ve tiroid transkripsiyon

faktör-1 (TTF-1) ve S100 pozitif iken, kromogranin ve sinaptofizin negatiftir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda HBME-1 ve galektin-3 pozitifliği gösterilmiştir (17,18).

### **Histopatolojik Varyantlar:**

Papiller karsinomların, büyüme paternlerine, hücre tiplerine ve stromal özelliklerine göre çeşitli varyantları tanımlanmıştır. Baskın olan özelliklerine göre varyant belirlenmelidir (1,2).

- **Papiller Mikrokarsinom:** 10 mm ve altındaki tümörler için kullanılır. Papiller karsinomun en sık görülen varyantıdır. Genellikle insidental olarak, %24'ü farklı nedenlerle çıkarılmış cerrahi spesmenlerinde ve %30'u otopsilerde rastlanır. Seyrek olarak lenf nodu metastazı yapabilir. Papiller tiroid karsinomu için prekürsör olabilir (11,19). Çocuklarda adultlara göre daha agresiv seyreder. Genellikle kapsül içermez. 1 mm.'den küçük tümörler sıklıkla folliküler paternde olup stromada skleroz görülmez. Tümör çapı büyüdükçe papiller arşitektür belirir (1).
- **Foliküler Varyant:** Papiller arşitektür içermez, düzensiz dağılmış küçük ve orta boyutlu folliküllerden oluşur. Değişen miktarda eosinofilik kolloid görülür Bu görünümü ile kapsüllü folliküler neoplazilere benzer. Follikülleri döşeyen hücrelerde yaygın olarak papiller karsinomun klasik nükleer özellikleri görülür. Olguların üçte birinde tümör kapsülle çevrilidir (Enkapsüle Folliküler Varyant). Bu olgularda lenf nodu metastazı seyrekdir ancak hematojen metastaz görülebilir. Bazen tek lob ya da her iki lob diffüz olarak tümör hücreleri ile infiltre izlenir ve 'Diffüz ya da Multinodüler Varyant' olarak adlandırılır. Bu tip daha agresiv seyreder (1,2).
- **Makrofolliküler Varyant:** Nadir bir formudur. Tümörün %50'sinden fazlasında makrofolliküller izlenir. Bazı alanlarda kolloidal nodül, hiperplastik nodül ya da folliküler adenom görünümü mevcuttur. Ancak diğer alanlarda follikülleri döşeyen epitel papiller karsinomun özelliklerini taşır. Lenf nodu metastazı görülme sıklığı düşüktür (1,2).

- **Onkositik (Oksifilik) Varyant:** Nükleer özellikleri papiller karsinomun özelliklerini taşır, sitoplazma ise geniş granüler oksifilik görünümündedir. Papiller ya da folliküler arşitektürde; kapsüllü ya da invaziv karakterde olabilir. Stromada lenfositik infiltrasyon eşlik ettiğinde, tükrük bezinin Warthin Tümörüne benzer (1,2).
- **Berrak Hücreli (clear cell) Varyant:** Genellikle papiller olmak üzere folliküler arşitektürde de olabilir. Nükleer özellikleri klasik olarak papiller karsinom görünümünde olup, sitoplazmaları berrak ya da onkositik görünümde olabilir. Metastaz alanlarında tanı zorluğuna neden olabilir. Bu durumda tiroide spesifik olan tiroglobülin ve TTF-1 ile tanının desteklenmesi gerekir (1,2).
- **Diffüz Sklerotik Varyant:** Genellikle genç hastalarda görülür. Belirgin bir kitle oluşturmadan, diffüz tek lopta ya da bilateral tutulum izlenir. Yaygın psammom cisimcikleri ile stromada fibrozis ve lenfositik infiltrasyon belirgindir. Skuamöz metaplazi görülebilir. Tümör içermeyen tiroid alanlarında sıklıkla lenfositik tiroidit bulguları izlenir ve klinik olarak serolojiye otoimmün tiroidit olarak yansır. %25 olguda bölgesel lenf nodu veya akciğer metastazı görülür. Diffüz sklerozing varyant konvansiyonel tipe göre daha sık akciğer metastazı ile ilişkilidir (1,2,20).
- **Uzun Hücreli (Tall Cell) Varyant:** Seyrek görülen bir tiptir. Genellikle yaşlı hastalarda ve sıklıkla erkeklerde görülür. Kombine olarak papiller, trabeküler ve kordonlardan oluşan bir tümör izlenir. Folliküler arşitektür nadirdir. Hücrelerin boyu, eninin 3 katıdır ve nükleuslar papiller karsinomun özelliklerini taşır. Klasik papiller karsinoma göre agresiv seyreder (20). Nekroz, mitotik aktivite artışı, tiroid dışı yayılım görülebilir (1).
- **Kolumnar Hücreli Varyant:** Seyrek görülen bir tiptir. Papiller, folliküler, trabeküler, solid paternde olabilir. Erken sekresyon fazındaki endometriumu andıran, subnükleer ve supranükleer sitoplazmik vakuolizasyon gösteren stratifiye kolumnar epitel



izlenir. Mitotik aktivite artışı, tiroid dışı yayılım görülebilir. Klasik papiller karsinoma göre agresiv seyreder (20). Kapsülle çevrili olanlarda ise prognoz daha iyidir (1,2).

- **Solid Varyant:** Solid varyant Papiller tiroid karsinomlarının %8'inin oluşturur. Ancak çocuklarda radyasyon maruziyeti sonrasında rölatif olarak daha sık görülür. Bu tip uzak metastazla ilişkilidir ve konvansiyonel tipe göre daha kötü prognozludur (21,22). Olguların üçte birinde vasküler invazyon ve tiroid dışı yayılım görülür. Papiller karsinomun nükleer özelliklerini taşıyan hücrelerle döşeli solid tabakalardan oluşur (1,2).

- **Kribriiform Varyant:** Genellikle genç kadınlarda FAP (Familyal Adenomatöz Polipozis) ya da Gardner Sendromu ile birlikte görülür. Sıklıkla multifokaldir. Sporadik ve soliter nadirdir. Fokal papiller yapılar içeren kribriiform arşitektür izlenir (1,2).

## FOLLİKÜLER KARSİNOM

Tiroidin folliküler hücrelerinden gelişen, papiller karsinomun nükleer özelliklerini taşımayan malign tümördür. Rölatif olarak Papiller karsinoma göre daha az sıklıkla görülür. Tüm tiroid karsinomlarının %10-15'ini oluşturur. Kadınlarda daha fazla görülmekle birlikte, en sık 5. dekatta rastlanır. Papiller karsinoma göre çocuklarda nadirdir (1). İyot eksikliği folliküler karsinom gelişimini tetikler. Papiller karsinom gibi normal tiroid dokusunda ya da struma overi gibi ektopik tiroid dokusunda gelişebilir. Folliküler karsinomlar, folliküler adenomdan gelişebilir. Sintigrafide soğuk nodül olarak izlenir. Kitlenin lokalizasyonu ve büyüklüğüne göre dispne, disfaji oluşturabilir. Olguların %20'sinden fazlasında, akciğer ve kemik başta olmak üzere uzak metastaz izlenir (1).

### **Makroskopi:**

Genellikle 1cm.'den büyük, yuvarlak oval, kapsülle çevrili, kirlibeyaz-kahverenkli solid kitle olarak izlenir. Minimal invaziv folliküler karsinomlarda kapsül kalın ya da

düzensizdir. Yaygın invazyon gösteren folliküler karsinomlarda ise makroskopik olarak kapsülü aştığı görülür ya da belirgin bir kapsül yapısı izlenmez (1,2).

### **Histopatoloji:**

Kolloid içeren iyi düzenlenmiş folliküler yapılardan solid ve trabeküler büyüme paternine kadar değişen morfolojilerde olabilir. Genellikle kapsüllü olup fokal bir alanda kapsül ve/veya vasküler invazyon gösterenler için '**Minimal İnvaziv Folliküler Karsinom**', geniş alanlarda vasküler ve/veya tiroid parankimine invazyon gösterenler için ise '**Yaygın İnvaziv Folliküler Karsinom**' terimi kullanılır. Minimal İnvaziv folliküler karsinomda, folliküler adenom ve nodüler guatr ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Tek kanıt invazyondur. Vasküler invazyon açısından tanı güçlüğü çekildiğinde, damar endotel markırlarından (CD 31, Faktör VIII gibi) yararlanılabilir. Kapsül invazyonu ile İİAB'ye bağlı kapsül rüptürü ayırt edilmelidir. Folliküler karsinom ile Folliküler varyant Papiller karsinom ayırıcı tanısında, Papiller karsinomun nükleer özellikleri bize yol göstericidir (1,2).

### **Sitopatoloji:**

Folliküler karsinom aspirasyonları oldukça sellülerdir. Yaymalarda mikrofolliküler yapılar oluşturan hücreler ve az miktarda kolloid izlenir. Nükleer atipi malignite ile korole değildir. Çünkü bazı folliküler karsinomlarda nükleer atipi izlenmezken, bazı adenomlarda atipi belirgindir. Malignite tanısı, histopatolojik incelemede kapsül ya da vasküler invazyon varlığının gösterilmesi ile konulur (1,2).

### **İmmunhistokimya:**

Tiroglobülin, TTF-1, düşük moleküler ağırlıklı sitokeratin, Epitelyal membran antijen (EMA) ve laminin, tip IV kollogen gibi basal membran markırları pozitifdir. Galektin-3, HBME-1 ve CD 15 pozitifliği bildirilmiştir (1,2).

### **Histopatolojik Varyantlar:**

- **Onkositik Varyant:** Malign hücrelerin %75'inden fazlası onkositik hücredir. Tiroid malignitelerinin %3-4'ünü oluşturur. Ortalama 61 yaşında görülür. Kadınlarda 2 kat daha fazladır. Klasik tipte olduğu gibi ağrısız kitle oluşturur. Kesit yüzü mahogany kahverenkli. Kistik ve hemorajik değişiklikler izlenir. Hücreler eosinofilik nükleol içeren hiperkromatik ve pleomorfik nükleuslu, eosinofilik granüler ya da berrak sitoplazmalıdır. Aspirasyonda bol onkositik hücre izlenir. Hashimoto tiroiditi ve onkositik karsinomdan lenfoplazmositik infiltrasyon olmaması ile ayrılır. Yapılan çalışmalarda, klasik tipe göre uzak metastaz yapma sıklığı daha fazla bulunmuştur (1,2).
- **Berrak hücreli (Clear cell) Varyant:** Baskın olarak glikojen, münin ya da lipid içeren berrak hücreler izlenir. Folliküler karsinomda taşlı yüzük hücreleri minör ya da majör komponent olarak bulunabilir (1,2).

## MEDÜLLER KARSİNOM

Tiroidin C hücrelerinden gelişen malign tümördür. Solid karsinom, Hyalin karsinom, C hücreli karsinom olarak da bilinir (1,2). Tüm tiroid malignitelerinin %5-10'unu oluşturur. %80'i sporadik görülür. %20'si ise ailesel Multipl Endokrin Neoplazi (MEN) IIA veya IIB'nin komponentidir. Sporadik olanlar, ortalama 45 yaşında görülür ve soliter nodül olarak izlenir. Ailesel olanlar ise, ortalama 35 yaş civarında görülür. Bilateral ve multipl nodüller yanısıra, sağlam tiroid dokusunda da C hücre hiperplazisi izlenir. Tiroidde ağrısız solid, sintigrafik olarak soğuk nodül oluşturur. Tanı sırasında %50 olguda lenf nodu, %15 olguda uzak metastaz (karaciğer, akciğer, kemik, beyin, yumuşak doku, kemik iliği) saptanır. Kalsitonin salgımına bağlı olarak, serum kalsitonin seviyesi yükselir. Serum kalsitonin seviyesi tanı ve hastaların takibinde önemlidir (23,24). Son yıllarda, insidental olarak ya da serum kalsitonin seviyesindeki yükselmenin uyarıcı olmasıyla medüller mikrokarsinom (1 cm.den küçük çaplı) görülme sıklığı artmıştır. Olguların %35'inde lokal rekürrens görülebilir. Tanı sonrası 5 yıllık yaşam şansı %70-80'dir. Tiroid medüller karsinomun, C hücre hiperplazisinden geliştiği düşünülmektedir. Neoplastik ve reaktif olmak üzere iki tip C hücre hiperplazisi vardır.

Neoplastik C hücre hiperplazisi H&E boyalı kesitlerde görülebilirken, reaktif C hücre hiperplazisi immunhistokimyasal olarak gösterilebilir. C hücre hiperplazisi yaşlanma, hiperparatiroidi, hipergastrinomi, lenfositik tiroidit gibi patofizyolojik olaylarda görülebildiği gibi follikül hücrelerinden köken alan tümörlere eşlik edebilir (1,2).

### **Makroskopi:**

Değişken boyutlarda, kapsülsüz ancak iyi sınırlı, gri-beyaz-ten renkli kitle izlenir (1,2).

### **Histopatoloji ve Sitopatoloji:**

Histopatolojik kesitlerde, kapsül içermeyen çevre parankime infiltratif görünümde fibrovasküler stroma ile çevrili adalar, yuvalanmalar, tabakalar izlenir. Hücreler yuvarlak-oval, kaba kromatinli nükleusa sahiptir. Nükleol belirgin değildir. Sitoplazma, granüler, eosinofilik ya da amfofilik olabilir. Nekroz ve hemoraji sık olmamakla birlikte büyük tümörlerde görülebilir. Sınırlı alanlarda müsin izlenebilir. Stroma değişiklidir. Çoğu olguda oldukça vaskülerdir ve hyalinize kollojen içerir. %80 olguda amiloid birikimi saptanır (1,2).

Yaymalar hipersellülerdir. Yaygın olarak kohezyon kaybı görülmekle birlikte, gevşek gruplar da izlenebilir. Hücreler orta derecede pleomorfik, değişken şekillidir. Nükleuslar hiperkromatik ve kaba kromatinlidir. Nükleol belirgin değildir. Nükleus sıklıkla ekzantrik yerleşir ve hücreye plazmositoid görünüm kazandırır. Multinükleer tümör dev hücreleri görülebilir. Papanicolaou boyalı yaymalarda koyu yeşil renkli, Kongo Red boyalı yaymalarda ise polarize ışık ile ışığı çift kıran elma yeşili röfle veren amiloid birikimi saptanabilir (1,2,17).

Hücre şekillerine ve oluşturdukları arşitektüre göre birçok tipi tanımlanmıştır: papiller ya da psödopapiller, glandüler (tübüler ya da folliküler), dev hücreli, küçük hücreli ya da nöroblastoma benzeri, paraganglioma benzeri, onkositik hücreli, anjiosarkom benzeri, skuamöz hücreli, melanin salgılayan ve amfikrin tipi (1).

### **İmmunhistokimya:**

Olguların çoğunda tipik olarak kalsitonin pozitifdir. Ayrıca, Karsino embriyojenik antijen (CEA), nöroendokrin markırlar (kromogranin, sinaptofizin), TTF-1 ve düşük molekül ağırlıklı sitokeratin çoğu olguda pozitif saptanır. Diğer nöroendokrin tümörlerle ayırıcı tanısında kalsitonin, CEA ve düşük molekül ağırlıklı sitokeratin yardımcıdır (1,2).

## **KÖTÜ DİFFERANSİYE KARSİNOM**

Tiroidin folliküler hücrelerinden köken alan, sınırlı alanlarda folliküler hücre diferansiyasyonu izlenebilen malign tümördür. ‘**İnsular Karsinom**’ da denir. Genellikle 50 yaşından büyük hastalarda ve kadınlarda görülür. Coğrafi bölgelere göre görülme sıklığı değişir. De novo olarak ya da iyi differansiye tiroid karsinomlarından (özellikle papiller karsinom) gelişebilir (1). Tiroidde büyük, solid, sintigrafide soğuk nodül olarak izlenen kitle oluşturur. Hastalarda genellikle uninodüler ya da multinodüler guatr öyküsü mevcuttur. Tanı sırasında sıklıkla lenf nodu, akciğer ve kemik metastazı saptanır. Birçok seride tanı sonrası 5 yıllık yaşam şansı ortalama %50 saptanmıştır (1,2).

### **Makroskopi:**

Ortalama 3 cm çapında, fokal nekroz odakları içeren gri-beyaz renkli solid kitle oluşturur. Nadiren kalın bir kapsül içerir. Parankim içinde satellit nodüller izlenebilir. Andiferansiye karsinoma göre tiroid dışı yayılım az görülür (1,2).

### **Histopatoloji ve Sitopatoloji:**

Histopatolojik kesitlerde insuler, trabeküler ve solid olmak üzere farklı paternlerde izlenebilir. Tüm bu paternlere, infiltratif büyüme, nekroz ve vasküler invazyon eşlik eder. Bazen berrak hücre ya da onkositik hücre değişikliği görülebilir. İnsular paternde, ince fibrovasküler septalar ile çevrili yuvalanmalar izlenir ve hücreler uniform karakterdedir. Medüller karsinom ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır: tiroglobülin pozifliği, kalsitonin negatifliği kötü differansiye karsinom (insular karsinom) lehinedir. Trabeküler patern kordonlardan, solid patern ise geniş tabakalardan oluşur. Küçük odaklarda papiller ya da

folliküler karsinom görülebilir. Papiller karsinom özellikle solid patern içeriyorsa, kötü differansiye tiroid karsinomu ile tanı güçlüğü yaratır. Papiller karsinom daha genç yaşta görülür ve nükleer özellikleri tipiktir (1,2).

Sitoloji yaymaları oldukça selülerdir. Kohezyon kaybı gösteren küçük-orta boyutlu pleomorfik hücreler izlenir. Az da olsa mikrofolliküler yapılar ve az miktarda kolloid görülebilir. Hücreler ince kromatinli olup, küçük nükleol içerir (1,2,17).

### **İmmunhistokimya:**

İyi differansiye tiroid karsinomları gibi TTF-1 ve Tiroglobülin pozitifdir. Ancak, iyi differansiye tiroid karsinomlarından farklı olarak E-cadherin kaybı görülür. Kalsitonin negatifliği ile medüller karsinomdan ayrılır. Ancak seyrek olarak, kalsitonin ve diğer nöroendokrin belirleyicilerin pozitifliği saptanmıştır (1,2).

## **ANAPLASTİK (ANDİFERANSİYE) KARSİNOM**

İmmunhistokimyasal ya da ultrastrüktürel çalışmalarla epitelyal diferansiyasyonu gösterilebilen oldukça malign tümörlerdir. Genellikle yaşlı hastalarda saptanır. Olguların sadece %25'i 60 yaş altıdır. Kadınlarda daha fazla görülür. Endemik guatr bölgelerinde daha siktir. Hastalarda hızlı büyüyen, fikse-sert, genellikle tek bir kitle şeklinde izlenir. Tümör çevre dokularda kas, özefagus, laringeal sinirler ve larinks invazyonu oluşturur. En sık görülen semptomlar, ses kısıklığı ve yutma güçlüğüdür. Ayrıca vokal kord paralizisi, boyun ağrısı ve dispne görülebilir. Lenf nodu, akciğer, kemik ve beyin metastazı izlenebilir. Ortalama yaşam süresi, tanı aldıktan sonra 6 aydır. Tüm andifferansiye karsinomlar T4 kabul edilir (1,2)

### **Makroskopi:**

Tiroid parankimine ve çevre dokulara invaze, açık renkli, nekroz ve hemoraji alanları içeren büyük bir kitle izlenir (1,2).

### **Histopatoloji ve Sitopatoloji:**

Histopatolojik kesitlerde ise, tümör dev hücreleri, epitelioid hücreler ve iğsi hücrelerle karakterize yaygın invazyon gösteren tümör izlenir. Mitotik aktivite artmıştır. Koagülatif nekroz odakları görülür. Tümörde iğsi hücreler hâkimse sarkomu andırır ve leiomyosarkom, fibrosarkom, malign fibröz histiyositomu taklit edebilir. Bazı tümörlerde ise yaygın damar ağı ve tümör hücrelerinin hemanjioperisitik dizilimi ile anjiosarkom benzeri bir görünüm olabilir (1,2).

Yaymalar oldukça selülerdir. Tek tek düşmüş ya da üç boyutlu gruplar oluşturmuş nükleol belirginliği gösteren oldukça pleomorfik nükleuslu hücreler izlenir. İğsi, dev hücre ve skuamoid karakterde hücreler görülür. Zeminde nekrotik debriler izlenir (1,2,17).

Andifferansiye karsinomun çeşitli varyantları tanımlanmıştır: osteoklast tipi non-neoplastik multinükleer dev hücrelerle karakterize olan **osteoklastik varyant**; neoplastik kemik ve kartilaj içeren **karsinosarkom varyantı**, Riedel tiroidite benzeyen fibröz bir stromaya gömülmüş atipik iğsi hücrelerle karakterize **paucicellüler varyant** ve lenfoepitelyoma **benzeri varyant**. Lenfoepitelyoma benzeri varyant, nasofaringeal karsinoma benzer ancak EBV ile ilişkili değildir (1).

### **İmmunhistokimya:**

Sitokeratin yüksek oranda, epitelyal membran antijen (EMA) %30-50 oranında pozitifdir. Tiroglobülin negatif, TTF-1 seyrek olarak pozitifdir. Tipik olarak p53 güçlü pozitif saptanır. Desmin, myogenin, myo D1 negatifliği ile rabdomyosarkomdan; düz-kas aktin, desmin negatifliği ile leiomyosarkomdan; faktör VIII ilişkili antijen, CD34, CD31 negatifliği ile anjiosarkomdan; S100, HMB-45, melan A negatifliği ile malign melanomdan ve CD45 negatifliği ile büyük hücreli lenfomadan ayrılır (1).

## **EVRELEME VE PROGNOSTİK FAKTÖRLER:**

Son iki dekatta, tiroid karsinomlarında prognostik faktörler ve risk faktörleri birçok enstitü tarafından tanımlanmıştır. **EORTC** (European Organization), **AGES** (Age, Grade, Extent, Size) ve **MACIS** (Distant Metastasis, Age, Completeness of Resection, Local Invasion, Size) gibi birçok skorlama sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemlerde, yaş, tümör evresi, ekstrasitroidal yayılım, tümör boyutu ve uzak metastaz önemli prognostik faktörler olarak alınmıştır. Cinsiyet, multiparite ve lenf nodu metastazı önemsiz kabul edilmiştir (1,25-28). Ancak, tiroid karsinomlarının prognostik skorlamasında halen en yaygın olarak kullanılan **TNM** sınıflamasıdır (Tablo 2).

Evreleme sistemlerinde klinik değerlendirme ve tümörün yayılımı esas alınır. Tümörü değerlendirmede, görüntüleme yöntemlerinden BT ve MR ultrasonografiye göre daha yararlıdır. PET scan, malign tümörlerin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır ancak, günümüzde henüz standardize edilmemiştir (29).



Tablo 2. **TİROİD KARSİNOMLARINDA TNM SINIFLAMASI**

**Primer Tümör**

**TX** Primer tümör değerlendirilemiyor

**T0** Primer tümör kanıtı yok

**T1** Tümör tiroide sınırlı, 2 cm çaplı yada daha küçük

**T2** Tümör tiroide sınırlı, 2 cm.den büyük 4 cm.den küçük çaplı

**T3** Tümör tiroide sınırlı, 4 cm.'den büyük çaplı yada

Herhangi boyutta olan tümör ve minimal tiroid dışı yayılım (sternohyoid kası ya da tiroid çevresi yumuşak doku)

**T4a** Tümör herhangi boyutta ve kapsül boyunca dışarı yayılım ve subkutanöz yumuşak doku, larinks, trakea, özefagus yada rekürrent laringeal sinir invazyonu

**T4b** Prevertebral fasya yada karotis arteri yada mediastinal damar invazyonu

*\*Tüm Anaplastik (undifferansiye) tümörler T4 kabul edilir.*

**T4a** İntratiroid Anaplastik karsinom (rezektabl)

**T4b** Ekstratiroid Anaplastik karsinom (unrezektabl)

**Rejyonel Lenf Nodları**

**NX** Rejyonel lenf nodları değerlendirilemiyor

**N0** Rejyonel lenf nodu metastazı yok

**N1** Rejyonel lenf nodu metastazı var

**N1a** Level VI metastazı (pretrakeal, paratrakeal ve prelaringeal/Delphian)

**N1b** Unilateral, bilateral, kontralateral servikal yada süperior mediastinal lenf nodu metastazı

**Uzak Metastaz**

**MX** Uzak metastaz değerlendirilemiyor

**M0** Uzak metastaz yok

**M1** Uzak metastaz var

## **Ki-67**

Ki-67, hücre proliferasyonunu ölçmede kullanılan önemli bir belirleyicidir. Hücre siklusunda G0 fazı dışında G1, G2, S ve M fazlarında eksprese edilen, nükleer non-histon proteinlere karşılık gelen antijen ile reaksiyona giren monoklonal antikordur. Ki-67 birçok tümörde proliferatif aktiviteyi ve ağırsiv gidiş göstermede yardımcıdır (4). Histopatolojik olarak birbirine benzeyen birçok malign ve benign lezyonun ayırıcı tanısında kullanılır (30-36). Ki-67 ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında, tiroid karsinomları genellikle adenomlara göre daha yüksek proliferatif indekse sahiptir (5, 10). Bununla birlikte, onkositik adenomların proliferatif indeksi onkositik olmayanlara göre daha yüksektir. Ki-67 ekspresyonu yaşla birlikte belirgin şekilde artarken, yaşlı olgularda tümör büyümesi daha hızlıdır (6). Ki-67 indeksi %1.85'in üzeri kötü prognostik faktör olarak belirtilirken (4), metastaz yapmış tiroid karsinomlarında yüksek bulunmuştur (7).

## **P53**

P53 tümör supresör proteinidir. DNA hasarında görevlidir. Hücre siklusunun G1'de durdurulmasına sebep olur. Sonrasında ya DNA tamirine izin verir ya da, apoptozisi destekler (37). P53 kaybı farklı tümörlerin karsinogenezinde rol oynar (38-41). Tiroid karsinomlarında mutant p53 ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalarda, iyi differansiye karsinomlarda boyanma saptanmazken, az differansiye karsinomlarda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (8,9).

## **Cyclin D1**

Cyclin D1 hücre siklusunda, G1 fazından S fazına geçişte rol alan önemli bir regülatördür (42). Cyclin D1, 11q13 kromozomunda lokalize bcl-1 geninin ürünüdür. Bcl-1 geninde ya da 11q13 lokusunda translokasyon ya da amplifikasyon olduğunda cyclin D1'in overekspresyonu ile sonuçlanır. Cyclin D1'in overekspresyonu, meme karsinomu, mesane karsinomu, baş-boyunun skuamöz hücreli karsinomu ve Mantle

hücreli lenfoma gibi birçok neoplazide gösterilmiştir (42-46). Tiroid tümörlerinde yapılan çalışmalara bakıldığında, tümör boyutu arttığında ve lenf nodu metastazı varlığında cyclin D1 ekspresyonu yüksek bulunmuştur (7,11). Yine başka bir çalışmada cyclin D1 kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (12).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Nisan 1996 – Aralık 2007 tarihleri arasında Tiroid Karsinomu tanısı almış 60 olgu ( 48 adet Papiller Karsinom, 8 adet Foliküler Karsinom, 2 adet Medüller Karsinom ve 2 adet Anaplastik Karsinom ) ile Denizli Devlet Hastanesi Patoloji Birimine ait 1 adet Folliküler Karsinom ve 1 adet Medüller Karsinom olgusu tespit edildi. Olgulara ait Hemotoksilen – Eosin boyalı arşiv preparatları yeniden değerlendirilmek üzere çıkarıldı. 10 Papiller Karsinom olgusu tekrarlanan immunhistokimyasal boyamalarda tümör dokusu döküldüğü veya kaybolduğu için çalışma dışı bırakıldı. Toplam 52 olgu çalışmaya dahil edildi. Hastalar ile ilgili klinik bilgiler hastalara telefonla ulaşılarak; tümör çapı, kapsül dışı yayılım, multifokal/bilateral olup olmaması, lenf nodu metastazı gibi bilgiler ise hastalara ait patoloji raporlarından temin edildi.

Tüm olgulara ait Hematosilen – Eosin boyalı preparatlar WHO 2004 sınıflamasına göre tekrar değerlendirildi. Papiller Karsinom olgularının varyantları belirlendi. Olgulardan tümör dokusunu en iyi yansıtan birer örnek belirlendi ve seçilen parafin bloklardan poly-L-lizin kaplı lamlara immunhistokimyasal boyama yapmak üzere 4-5 mikron kalınlığında yeni kesitler alındı.

P53 ve Cyclin D1 boyanacak poly-L-lizinli lamlara alınan doku örnekleri deparafinizasyon için 50 C'de bir gece etüvde bekletildi. Daha sonra 3 kez 10'ar dakika ksilolde bekletildi. Sonrasında ise sırasıyla 2 dakika absölu alkolde, 2 dakika %95'lik alkolde ve 2 dakika %80'lik alkolde, 2 dakika %70'lik alkolde ve 2 dakika %60'lık alkolde tutularak rehidratasyon yapıldı. Kesitler alkolden çıkarılarak distile suda yıkandı. Antijen retrieval için ph=6, sitrat tampon solüsyonu içinde mikrodalga fırında (700 Watt), 10'ar dakika 2 kez tutuldu. Mikrodalgadan çıkarılan kesitler soğutuldu ve distile suda yıkandı. Bu aşamadan sonra p53 ve cyclin D1 otomatik yöntemle (VENTANA, Nexes IHC) boyandı. Ki-67 boyanacak poly-L-lizinli lamlara alınan doku örnekleri deparafinizasyon için bir gece etüvde bekletildikten sonra otomatik yöntemle

(VENTANA, Benchmark LT) boyandı. Otomatik boyama yapılan kesitlere, primer antikor aşamasında p53 için 1/300 oranında dilue edilmiş konsantre DO-7 monoklonal antibody p53 (Neomarker), cyclin D1 için 1/100 oranında dilue edilmiş konsantre SP4 monoklonal antibody cyclin D1 (Neomarker) ve Ki-67 için 1/300 oranında dilue edilmiş konsantre SP6 monoklonal antibody Ki-67 (Neomarker) uygulandı ve kesitler primer antikor ile 30 dakika inkübe edildi. Kesitler zemin boyaması için asitsiz Harris Hematoksilende 5 saniye tutulup çeşme suyunda yıkandı. Sonra sırasıyla %70'lik alkolde 2 dakika, %80'lik alkolde 2 dakika, % 95'lik alkolde ve 2 dakika absölü alkolde tutuldu. Havada kurutulduktan sonra ksilolde 15 dakika tutulan kesitler entellan ile kapatıldı.

Ki-67 ve cyclin D1 için tonsil, p53 için kolon adenokarsinomu kesitleri pozitif kontrol olarak eş zamanlı boyandı.

Ki-67, p53 ve cyclin D1 immunhistokimya boyalı preparatlar değerlendirilirken mikroskopun (NİKON Eclipse E600) x40'lık büyütmesinde, tümör dokusunda 1000 hücre sayılarak nükleer pozitif boyanan hücrelerin oranı hesaplandı.

Elde edilen verilerin istatikselsel analizi SPSS 10.0 istatistikselsel package'de (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) Tukey alpha, T-test, ROC curve ve ki-kare testleri kullanılarak yapıldı.

## BULGULAR

Toplam 52 olgunun 43'ü kadın, 9'u erkek olup, yaş dağılımları 9 ile 75 arasında değişmekteydi (Tablo 3-4).

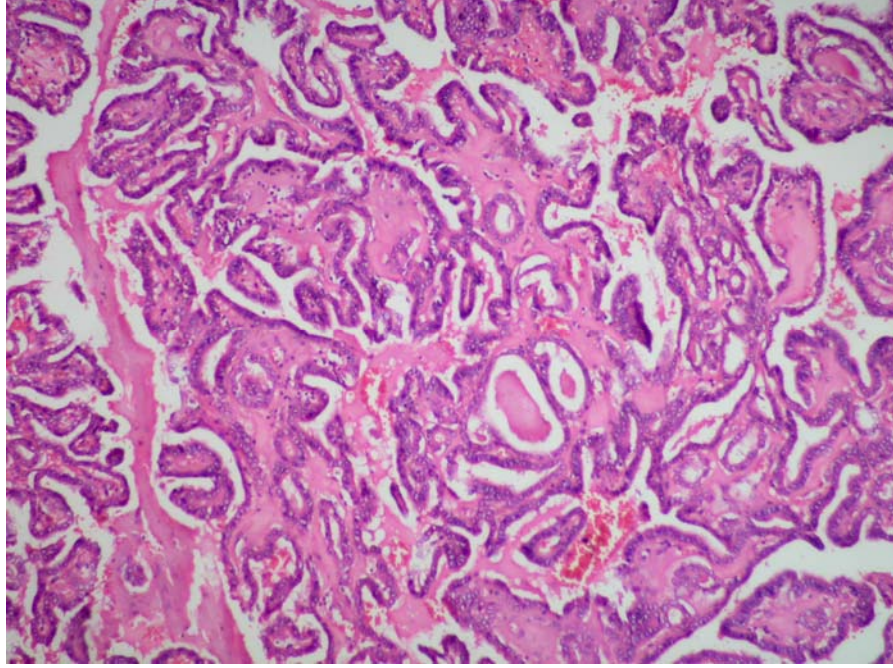
**Tablo 3:** Olguların dağılımı.

<b>Tanı</b>	<b>n</b>
Papiller Karsinom *	30
-Konvansiyonel varyant	18
-Foliküler varyant	4
-Onkositik varyant	4
-Tall cell varyant	2
-Kolumnar hücreli varyant	2
Mikropapiller Karsinom	8
Foliküler Karsinom	9
Medüller Karsinom	3
Anaplastik Karsinom	2
<b>Toplam</b>	<b>52</b>

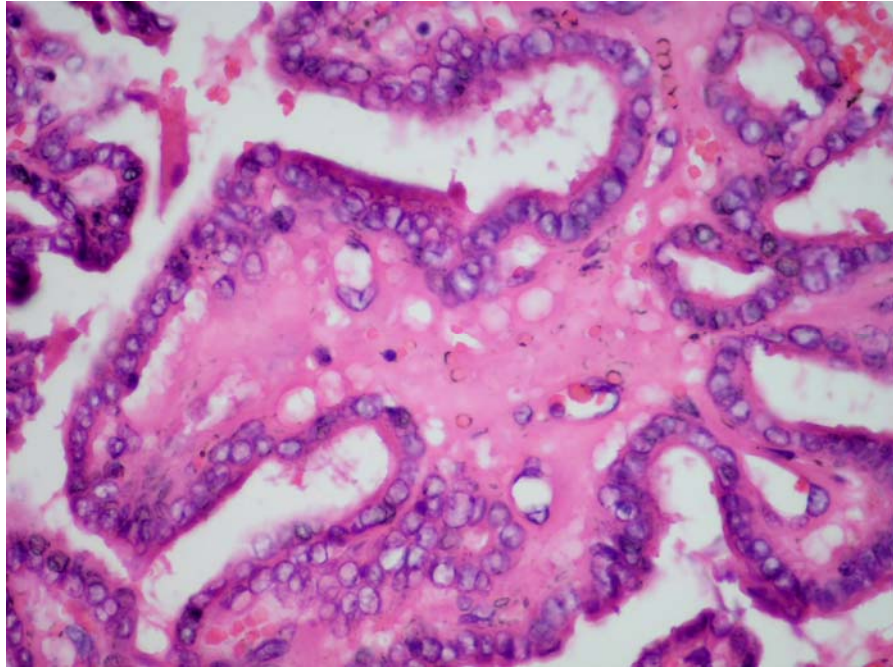
\*Mikropapiller dışı Papiller karsinom odluları.

**Tablo 4:** Olguların cinsiyet, yaş, tümör çapı ve evreleri.

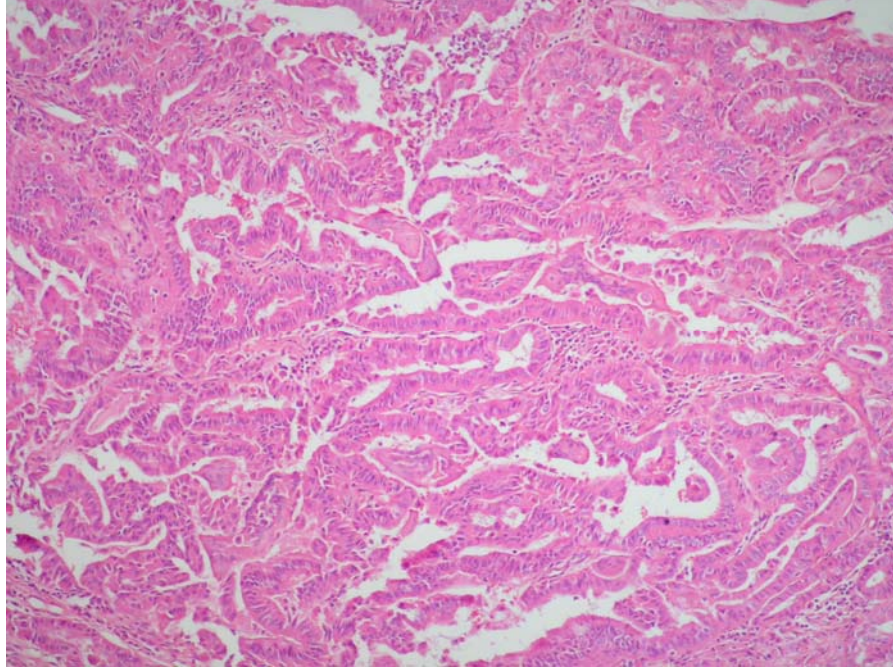
Olgu sayısı	52
Yaş dağılımı (min / max)	9 / 75
Cinsiyet (K / E)	43 / 9
Tümör çapı (min / max cm.)	0.3 / 9



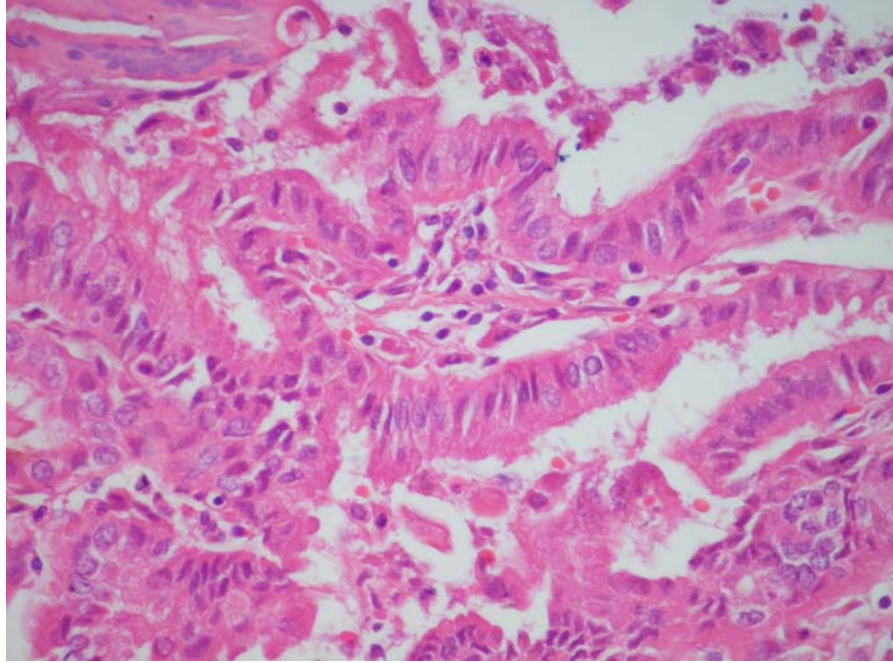
**Şekil 1.** Papiller Karsinom Konvansiyonel Varyant (Hematoksilen-Eosin x100)



**Şekil 2.** Papiller Karsinom Konvansiyonel Varyant (Hematoksilen-Eosin x400)

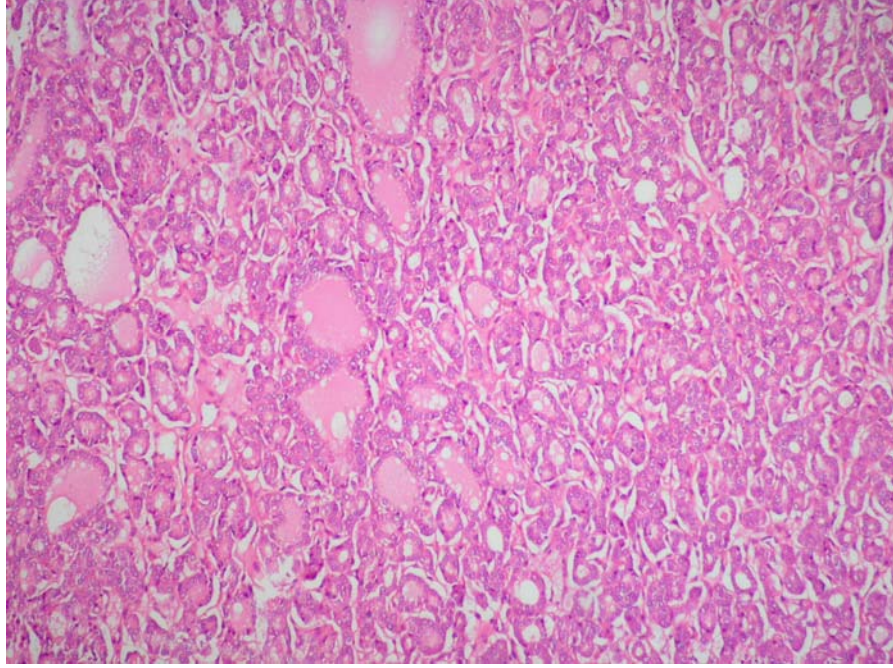


**Şekil 3.** Papiller Karsinom Tall Cell Varyant (Hematoksilen-Eosin x100)

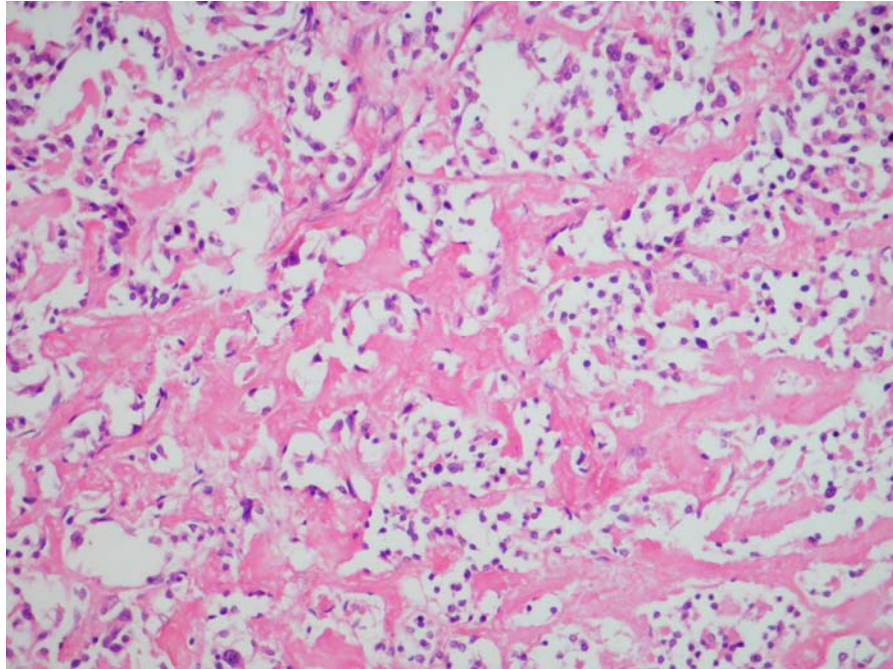


**Şekil 4.** Papiller Karsinom Tall Cell Varyant (Hematoksilen-Eosin x400)

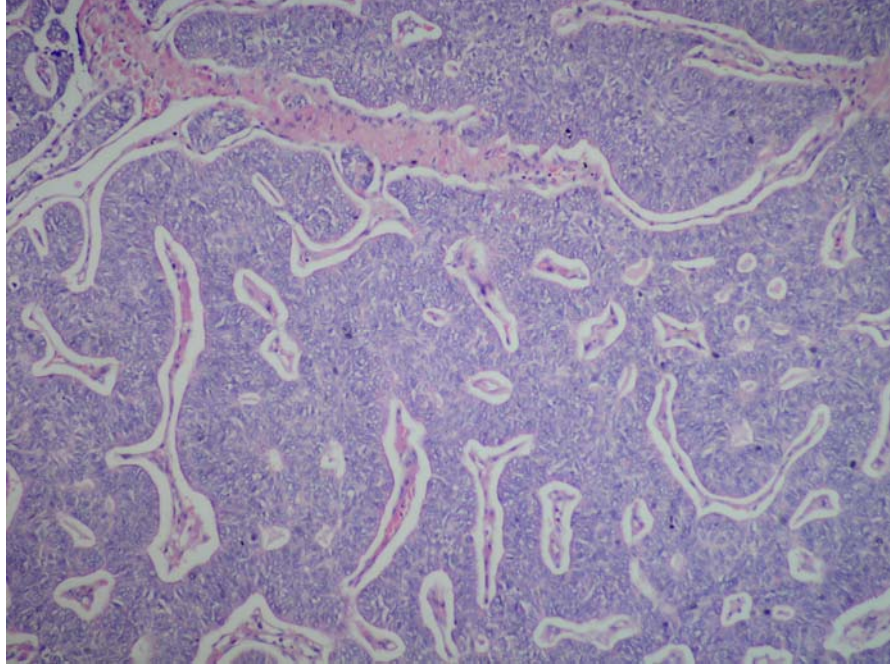




**Şekil 5.** Folliküler Karsinom (Hematoksilen-Eosin x100)



**Şekil 6.** Medüller Karsinom (Hematoksilen-Eosin x200)



**Şekil 7.** Anaplastik Karsinom (Hematoksilen-Eosin x100)

Nükleer Ki-67 ekspresyonu saptanan tümör hücrelerinin oranı tümör gruplarına göre incelendiğinde, ortalama değerler Papiller karsinom grubunda 0.06, Mikropapiller karsinom grubunda 0.01, Folliküler karsinom grubunda 0.03, Medüller karsinom grubunda 0.02 ve Anaplastik karsinom grubunda 0.15 olarak bulundu (Tablo 5, Şekil 8-14). Bu grupların istatistiksel analizi yapıldığında tümör grupları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu tespit edildi ( $p=0.05$ ). Anaplastik karsinom olgularında Ki-67 ekspresyonu diğer tümör tiplerine göre daha yüksek bulundu (Şekil 13,14). Papiller karsinom, Mikropapiller karsinom, Folliküler karsinom ve Medüller karsinom olguları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı.

**Tablo 5:** Tümör tiplerine göre tümör hücrelerinde Ki-67 pozitif hücre dağılımı.

<b>Gruplar</b>	<b>N</b>	<b>ort±SS(%)</b>	<b>minimum(%)</b>	<b>Maksimum(%)</b>
<b>Papiller</b>	30	0.06±0.05	0.00	0.25
<b>Mikropapiller</b>	8	0.01±0.01	0.00	0.06
<b>Foliküler</b>	9	0.03±0.04	0.02	0.14
<b>Medüller</b>	3	0.02±0.03	0.00	0.06
<b>Anaplastik</b>	2	0.15±0.06	0.11	0.20

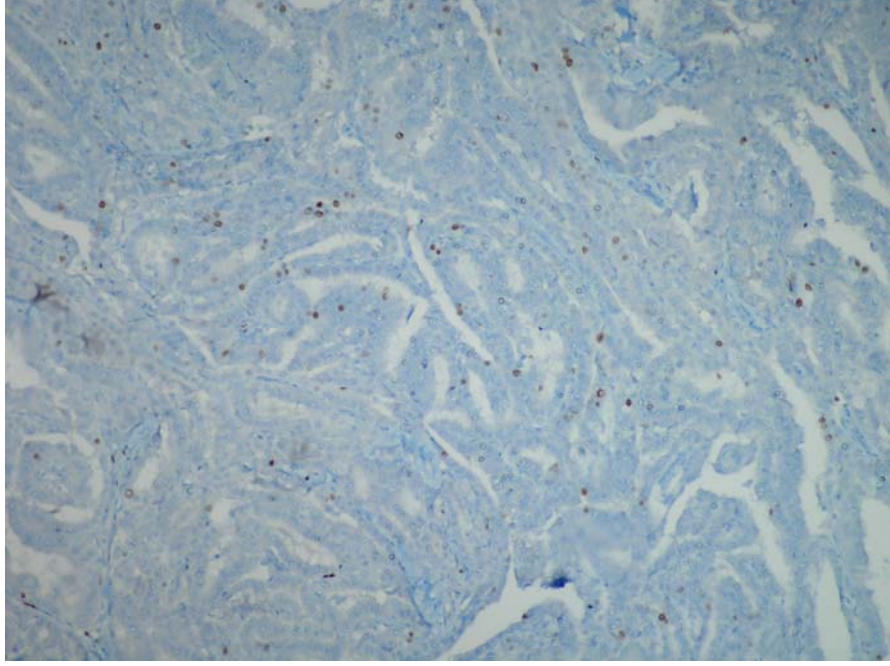
P=0.05

Lenfovasküler tümör invazyonu ile Ki-67 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ( $p<0.05$ ). Lenfovasküler tümör invazyonu gösteren olgularda Ki-67 ekspresyonunun arttığı görüldü (Tablo 6). %75 duyarlılık ve %70 özgüllük ile lenfovasküler invazyon açısından Ki-67 eşik değeri **0.05** olarak saptandı.

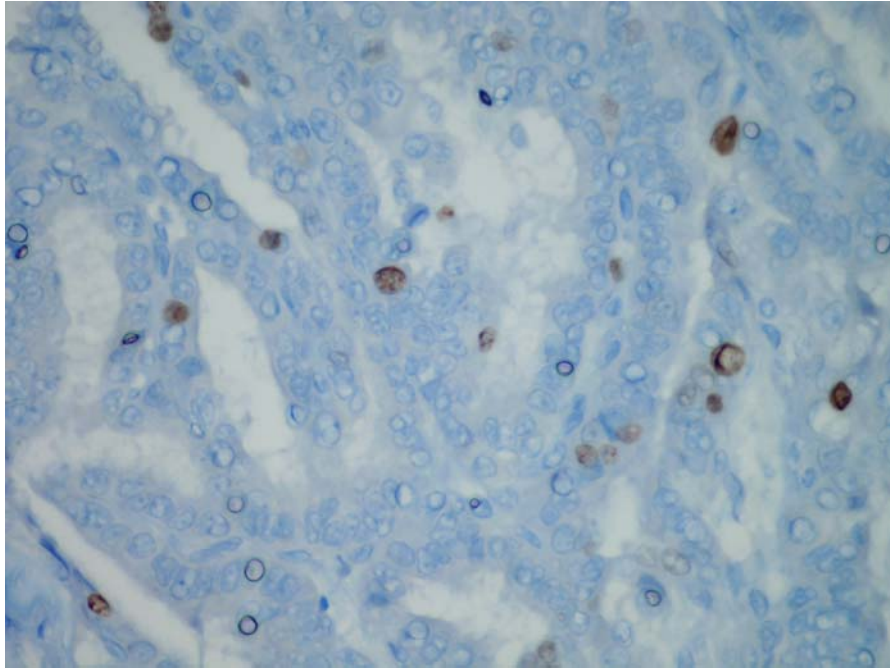
**Tablo 6:** Lenfovasküler invazyon varlığına göre tümör hücrelerinde Ki 67 pozitif hücre dağılımı.

	<b>N</b>	<b>ort±SS(%)</b>
<b>LV yok</b>	36	0.04±0.04
<b>LV var</b>	16	0.09±0.06

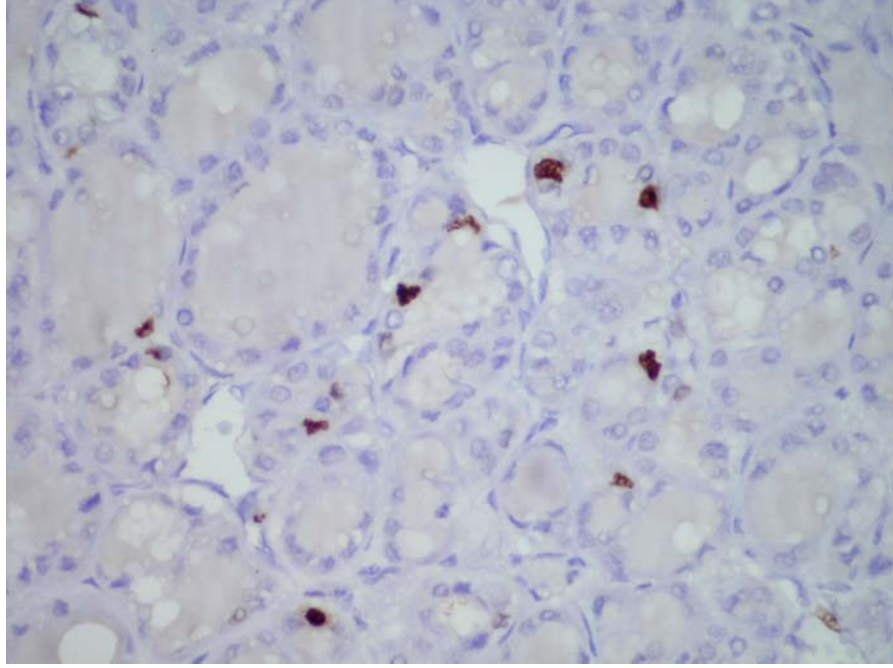
P=0.02



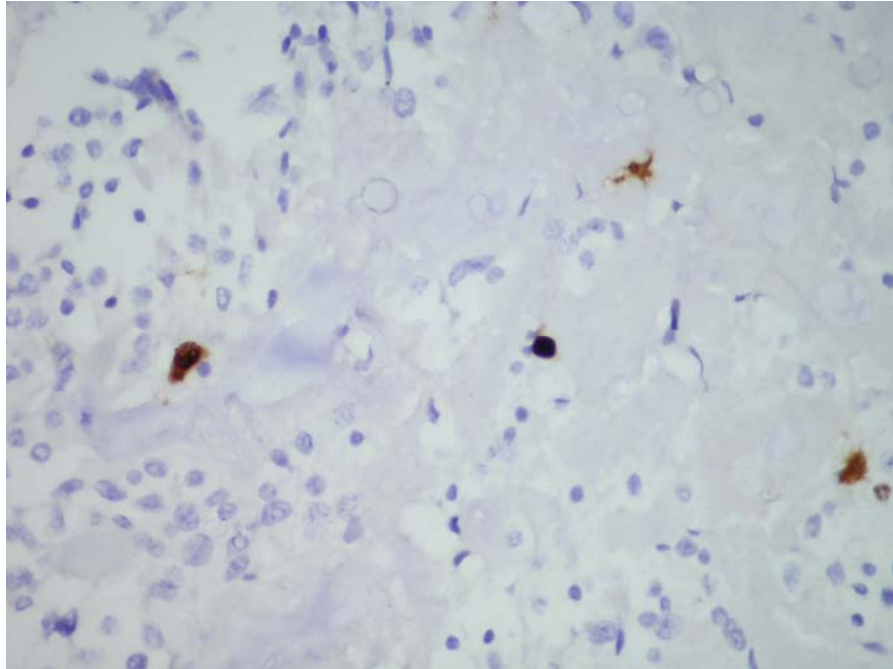
**Şekil 8.** Papiller Karsinom Tall Cell Varyantta nükleer Ki-67 ekspresyonu (x100)



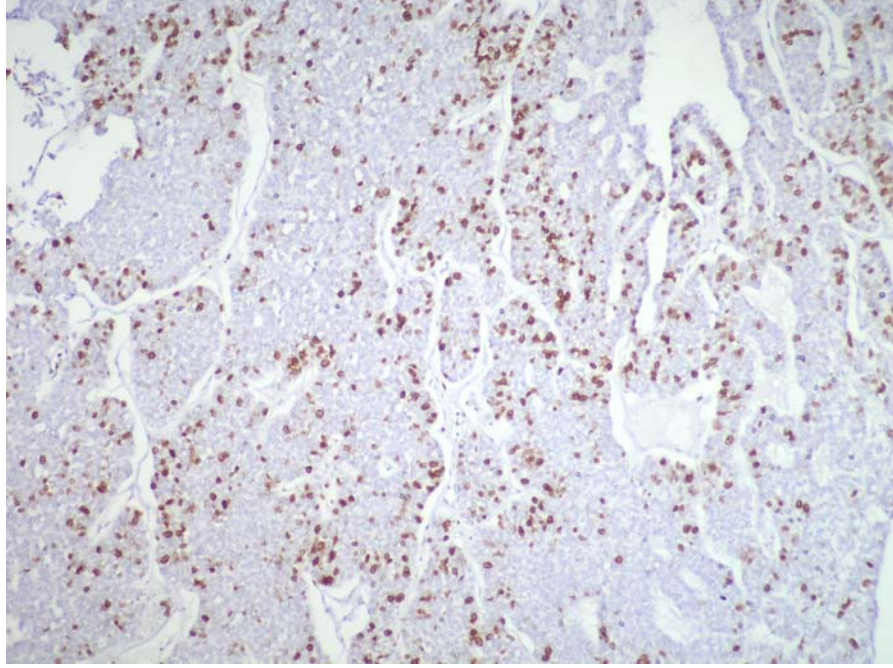
**Şekil 9.** Papiller Karsinom Tall Cell Varyantta nükleer Ki-67 ekspresyonu (x400)



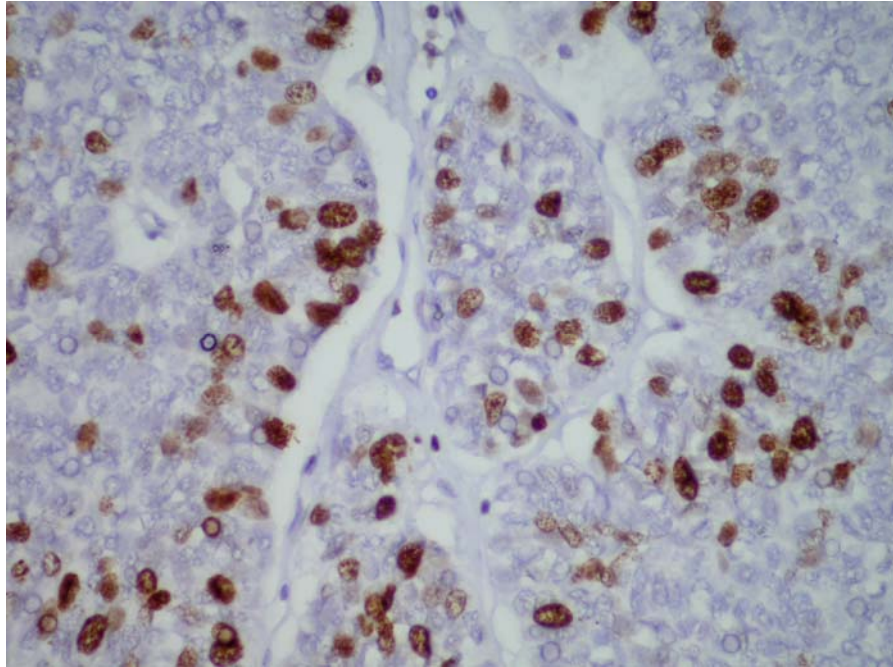
**Şekil 10.** Folliküler Karsinomda nükleer Ki-67 ekspresyonu (x400)



**Şekil 11.** Medüller Karsinomda nükleer Ki-67 ekspresyonu (x400)



**Şekil 12.** Anaplastik Karsinomda nükleer Ki-67 ekspresyonu (x100)



**Şekil 13.** Anaplastik Karsinomda nükleer Ki-67 ekspresyonu (x400)

Hastanın cinsiyeti, yaşı, tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenf nodu metastazı, nüks, mitoz, eşlik eden tiroidit ve skuamöz metaplazi ile Ki-67 ekspresyonu arasında bir ilişki saptanmadı (Tablo 7). Ancak, lenfovasküler invazyon, kapsül dışı yayılım, lenf nodu metastazı ve mitotik aktivite artışı bulguları birleştirildiğinde, bu değişkenlerinden herhangi birinin pozitif olması ile Ki-67 ekspresyonunun arttığı görüldü ( $p=0.03$ ).

**Tablo 7:** Ki-67 indeksinin parametreler ile ilişkisi.

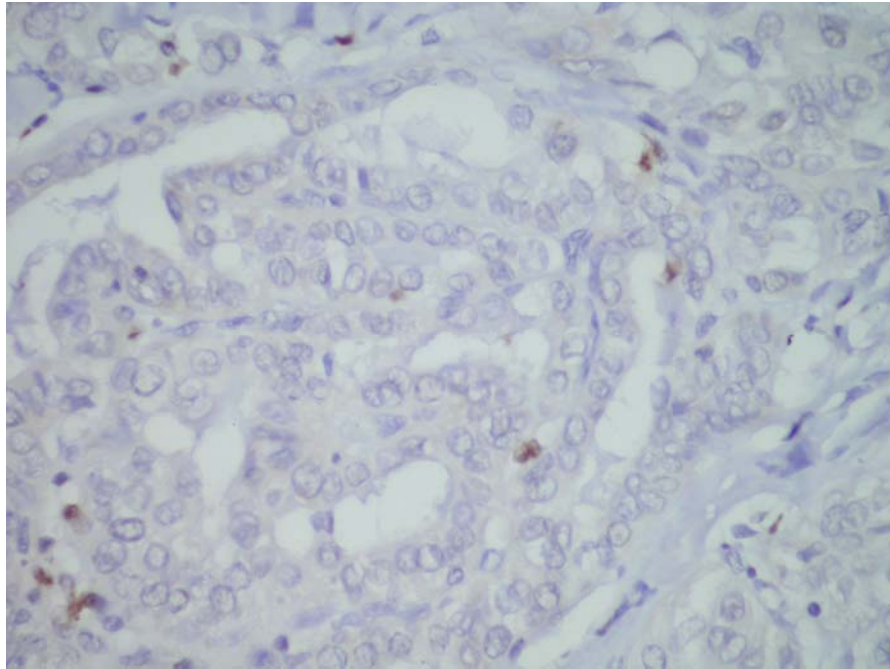
<b>Parametreler</b>	<b>Ki 67 indeksi</b>
Tümör tipi	P=0.05
Yaş	Anlamsız ( $p>0.05$ )
Cinsiyet	Anlamsız ( $p>0.05$ )
Tümör çapı	Anlamsız ( $p>0.05$ )
Kapsül invazyonu	Anlamsız ( $p>0.05$ )
Lenfovasküler invazyon	P=0.02
Lenf nodu metastazı	Anlamsız ( $p>0.05$ )
Nüks	Anlamsız ( $p>0.05$ )
Tiroidit	Anlamsız ( $p>0.05$ )

Benzer şekilde nükleer p53 ekspresyonu saptanan tümör hücrelerinin oranı tümör gruplarına göre incelendiğinde, ortalama değerler Papiller Karsinom grubunda 0.02, Mikropapiller Karsinom grubunda 0.01, Folliküler Karsinom grubunda 0.07, Medüller Karsinom grubunda 0.03 ve Anaplastik Karsinom grubunda 0.01 olarak bulundu (Tablo 8, Şekil 14-16). Gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $P=0.43$ ).

**Tablo 8:** Tümör tiplerine göre tümör hücrelerinde p53 pozitif hücre dağılımı.

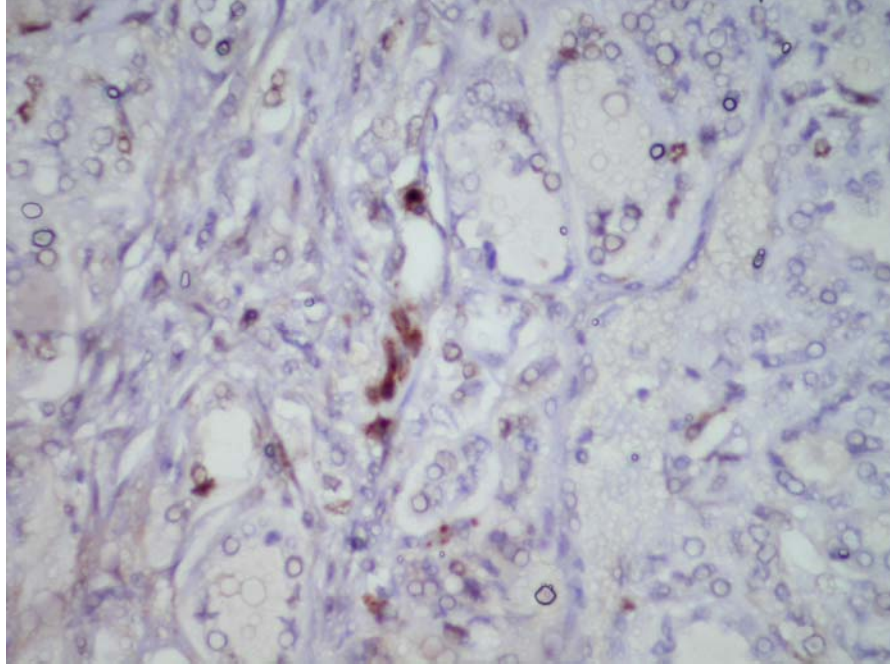
Gruplar	N	ort±SS(%)	minimum(%)	maksimum(%)
Papiller	30	0.02±0.03	0.00	0.10
Mikropapiller	8	0.01±0.01	0.00	0.06
Foliküler	9	0.07±0.16	0.00	0.50
Medüller	3	0.02±0.04	0.00	0.08
Anaplastik	2	0.01±0.01	0.00	0.03

P=0.43

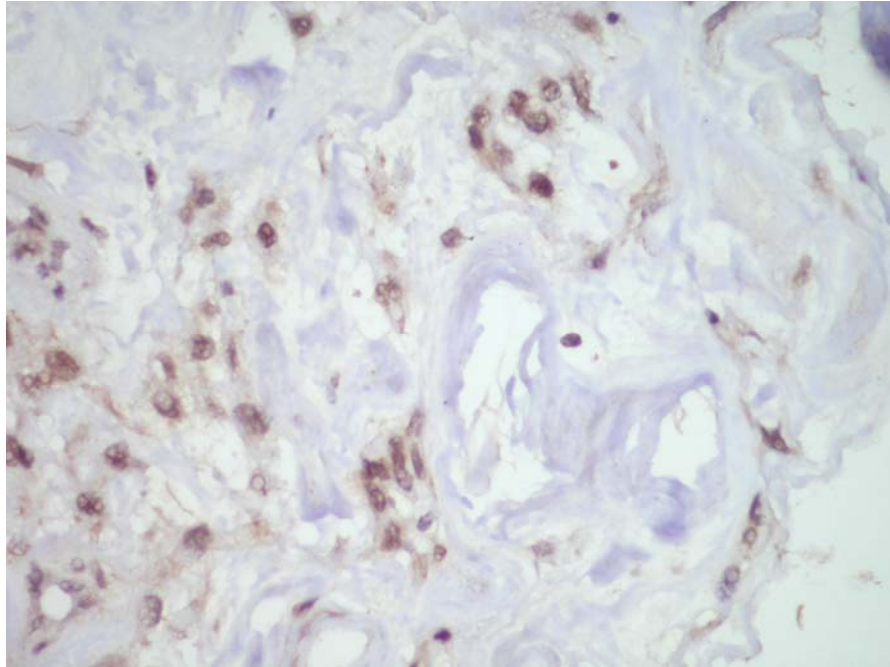


**Şekil 14.** Papiller Karsinom Tall Cell Varyantta nükleer p 53 ekspresyonu (x400)





**Şekil 15.** Papiller Karsinom Konvansiyonel Varyantta nükleer p53 ekspresyonu (x400)



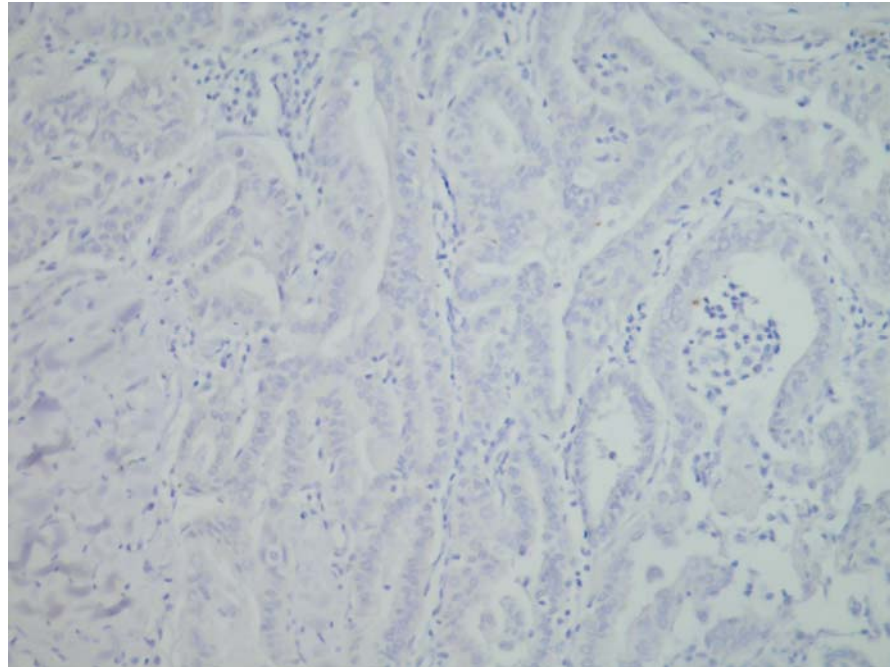
**Şekil 16.** Medüller Karsinomda nükleer p53 ekspresyonu (x400)

Nükleer Cyclin D1 ekspresyonu saptanan tümör hücrelerinin oranı tümör gruplarına göre incelendiğinde ise, ortalama değerler Papiller Karsinom grubunda 0.02, Mikropapiller Karsinom grubunda 0.01, Folliküler Karsinom grubunda 0.01, Medüller Karsinom grubunda 0.03 ve Anaplastik Karsinom grubunda 0.00 olarak bulundu (Tablo 9, Şekil 17-18). İstatistiksel analizde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü (p=60).

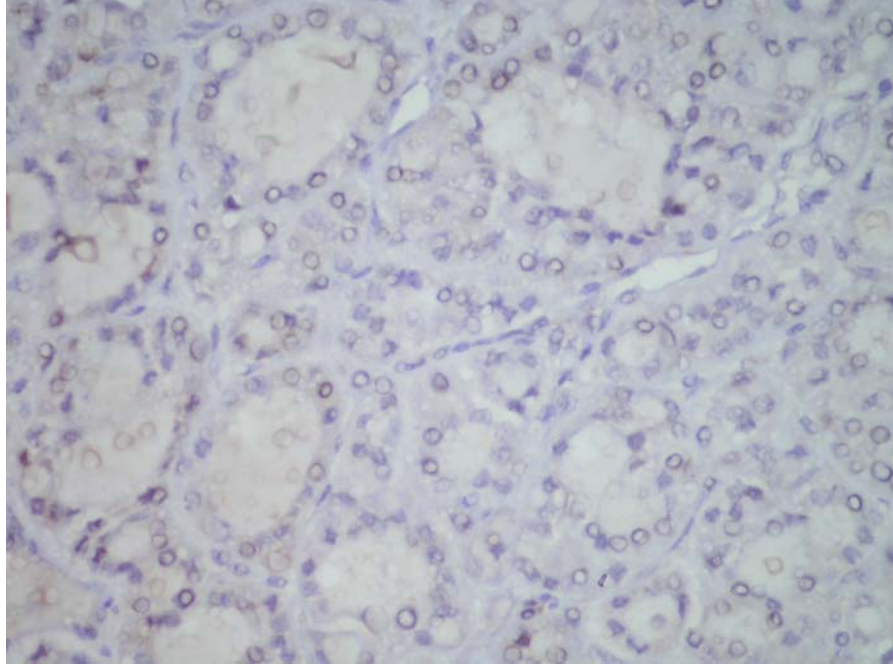
**Tablo 9:** Tümör tiplerine göre tümör hücrelerinde cyclin D1 pozitif hücre dağılımı.

Gruplar	N	ort±SS(%)	minimum(%)	maksimum(%)
<b>Papiller</b>	30	0.01±0.02	0.00	0.08
<b>Mikropapiller</b>	8	0.01±0.02	0.00	0.06
<b>Folliküler</b>	9	0.01±0.02	0.00	0.06
<b>Medüller</b>	3	0.03±0.05	0.00	0.09
<b>Anaplastik</b>	2	0.00±0.00	0.00	0.00

p=60



**Şekil 17.** Papiller Karsinom Tall Cell Varyantta cyclin D1 ekspresyonu (x10)



**Şekil 18.** Folliküler Karsinomda cyclin D1 ekspresyonu (x400)

Hastanın cinsiyeti, yaşı, tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon, nüks, mitotik aktivite artışı, eşlik eden tiroidit ve skuamöz metaplazi ile p53 ve Cyclin D1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

## TARTIŞMA

Tiroid karsinomları, dünyada görülen tüm kanserlerin %1'ini oluşturmakla birlikte, endokrin sistemin en sık görülen ve en sık ölüm sebebi olan malignitesidir. Dünya üzerinde her yıl 122.000 yeni tiroid karsinom olgusu eklenmektedir (1,14).

Tiroidde görülen neoplazilerin büyük bölümü primer ve epitelyal kökenli tümörlerdir. Epitelyal tümörler köken aldığı hücre tipine göre folliküler hücre kökenli tümörler, C hücre kökenli tümörler ile folliküler ve C hücre kökenli tümörler olmak üzere üç ana guruba ayrılır. Olguların %95'inden fazlası folliküler hücre kökenlidir. Tiroidin folliküler hücrelerinden köken alan Papiller Karsinom, en sık görülen malignitesidir (1,2). Papiller Karsinom ve Folliküler Karsinom “Differansiye Tiroid Karsinomları” olarak bilinir.

Son yıllarda tiroid karsinomları ile ilgili birçok çalışma yapılmış, klinikopatolojik prognostik parametreler tanımlanmış ve skorlama sistemleri geliştirilmiştir. **EORTC** (European Organization), **AGES** (Age, Grade, Extent, Size) ve **MACIS** (Distant Metastasis, Age, Completeness of Resection, Local Invasion, Size) bunlardan bazılarıdır (1,26-29,47-50). Çalışmadan çalışmaya geçişle birlikte, hastanın yaşı, cinsiyeti, tümör tipi, tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenfovasküler invazyon, lenf nodu ve uzak metastaz klinik ve histopatolojik olarak kullanılan prognostik parametrelerdir.

Tiroid karsinomlarının tanısını destekleyen çeşitli immunhistokimyasal belirleyiciler vardır. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, immunhistokimyasal belirleyiciler tiroid lezyonlarında tanı aşamasına katkıda bulunmaktadır (51).

Biz de bu çalışmada, “proliferasyon belirleyicisi olan **Ki-67**, tümör supresör geni olan **P53** ve hücre siklusu düzenleyicisi olan **Cyclin D1**'i klinik ve histopatolojik verilerle karşılaştırarak, tiroid karsinomlarında bu üç immunhistokimya belirleyicisinin prognozu tahmin etmede önemi var mıdır?” sorusuna yanıt aradık.

Ki-67, hücre proliferasyonunu ölçmede kullanılan önemli bir belirleyicidir. Hücre siklusunda G0 fazı dışında G1, G2, S ve M fazlarında eksprese edilen monoclonal bir antikordur. Ki-67 birçok tümörde proliferatif aktiviteyi ve agresif gidişi göstermede yardımcıdır (4). Tümörlerde differansiyasyon azaldıkça, Anaplastik (andifferansiye) karsinomlarda olduğu gibi proliferatif aktivite dolayısı ile Ki-67 oranının artması beklenir.

Bizim çalışmamızda da, literatürdeki birçok çalışmaya benzer şekilde (4,52-59), iyi differansiye tiroid karsinomlarına göre anaplastik (andifferansiye) tiroid karsinomlu olgularda Ki-67 proliferasyon oranı yüksek bulundu. Papiller karsinom, Folliküler karsinom ve Medüller karsinom olguları arasında Ki-67 proliferasyon oranı anlamlı farklılık göstermedi. Ayrıca Papiller karsinomun varyantları arasında da fark saptanmadı. Çalışmamızda Ki-67 oranı Mikropapiller karsinomda ortalama 0.01 ve Papiller karsinomda ise 0.06 idi ancak istatistiksel olarak fark anlamlı değildi. Anaplastik karsinom dışında diğer tiroid karsinomlarında, immunhistokimyasal olarak Ki-67 ekspresyonu anlamlı fark göstermediği için iyi differansiye tiroid karsinomlarında ayırıcı tanıda yardımcı olmadığını düşündük.

Pulcrano ve arkadaşlarının 40 kötü differansiye Folliküler karsinom olgusu ile yaptıkları Ki-67 belirleyicisini de içeren immunhistokimyasal çalışmada, differansiyasyonun prognozda etkili olduğu, ancak Ki-67 ekspresyonunun klinikopatolojik prognostik parametreler üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur (60).

Çalışmamızda, hastaların yaş dağılımı 9 ile 75 arasında değişmekte olup, 18 yaşın altında 6 hasta, 45 yaşın üstünde 22 hasta mevcuttu. Yaş ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. Kjelman ve arkadaşları da 2003 yılında yaptıkları çalışmada benzer şekilde bir sonuç bulmuşlardır (4). Buna karşılık, Siironen yaş ile birlikte özellikle 45 yaş üzeri hastalarda Ki-67 proliferasyon indeksinin arttığını, yaşlı hastalarda tümörün hızlı büyüdüğünü söylemektedir (6).

Çalışmamızda Ki-67 proliferasyon indeksi ile tümör çapı, kapsül dışı yayılım, nüks, lenf nodu metastazı ya da uzak metastaz arasında bir ilişki saptamadık. Kjelman ve arkadaşları, Papiller tiroid karsinomlarında yaptıkları çalışma sonucunda Ki-67 proliferasyon oranı  $>1.85$  ve tümör çapı 4 cm.'nin üzerinde olan olguların agresiv seyredeceğini söylemişlerdir. Ancak aynı çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde kapsül dışı tümör yayılımı, nüks, lenf nodu ve uzak metastaz ile Ki-67 ekspresyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır (4).

Lantsov, Papiller mikrokarsinom ve Papiller karsinom olguları üzerinde yaptığı çalışmada, Papiller karsinom ile 1-7 mm çaplı Papiller mikrokarsinom olgularının Ki-67 oranları arasında fark saptarken; 8-10 mm çaplı mikrokarsinomlar ile daha büyük çaplı Papiller karsinom olgularının Ki-67 oranları arasında anlamlı fark bulmamıştır (61). Çalışmamızda papiller mikrokarsinom olgularında Ki-67 oranları 0.00 ile 0.06 arasında; Papiller karsinomda ise 0.00 ile 0.25 arasında değişmekteydi. Papiller karsinomda, Papiller mikrokarsinoma göre Ki-67 ekspresyonu artmakla birlikte, tümör çapı ile Ki-67 oranı arasında bir ilişki saptamadık.

Yine Lantsov'un çalışmasında, kapsül dışı tümör yayılımı ve metastaz ile Ki-67 oranı arasında ilişki saptanmamıştır (61). Buna karşılık, Ito ve arkadaşlarının çalışmasında metastaz yapan tiroid karsinomlarında Ki-67 oranı yüksek bulunmuştur (7).

Çevre normal dokuda ya da tümör kapsülünde lenfovasküler invazyon varlığı kötü prognostik faktörlerdendir. Akslen, 173 Papiller karsinomlu olgudan oluşan serisinde, vasküler invazyon olan hastalarda 10 yıllık yaşam şansını %66,6 olarak belirtmiştir (62). Bilindiği gibi, Folliküler adenom ile Folliküler karsinom ayırıcı tanısı histopatolojik olarak kapsül ve/veya kapsülde lenfovasküler invazyon araştırılarak yapılır. Ancak büyük nodüllerde ayırıcı tanıya gitmek zor olabilir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada Ki-67 proliferasyon oranının Folliküler adenom ile minimal invaziv Folliküler karsinom ayırımında yardımcı olmadığı görülmüştür (63). Çalışmamızda Ki-67 oranı ile tiroid karsinomlarında lenfovasküler invazyon arasında anlamlı ilişki saptadık. Buna göre,

lenfovasküler invazyon görülen tiroid karsinomlarında Ki-67 proliferasyon oranının arttığını gördük. Ki-67 proliferasyon oranı % 5'ten büyük olan olgularda lenfovasküler invazyon görülme riskinin arttığı sonucuna vardık

Ivanova ve arkadaşları, Folliküler varyant papiller tiroid karsinomlu olgularda yaptıkları çalışmada, tümörün tek nodülden oluşması ya da multifokal olması ile Ki-67 oranı arasında bir ilişki saptamamışlardır (64). Buna karşılık Guo ve arkadaşlarının çalışmasında, multifokal (diffüz) folliküler varyant papiller karsinom olgularında fokal olanlara göre Ki-67 oranı yüksek bulunmuştur (65). Bizim çalışmamızda, 2 adet Folliküler karsinom, 4 adet Papiller karsinom folliküler varyant, 4 adet Papiller karsinom konvansiyonel varyant, 1 adet Papiller karsinom kolumnar hücreli varyant ve 1 adet Papiller karsinom onkositik varyant olmak üzere toplam 12 olguda tümör multifokal/bilateral yerleşimliydi. Çalışmamızda Ivanova ve arkadaşlarının bulgularına benzer şekilde tümörün multifokal/bilateral olması ile Ki-67 oranı arasında bir ilişki saptamadık.

Tallini ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, iyi differansiye Papiller karsinom ya da Folliküler karsinom (grup 1), kötü differansiye karsinomlar ve Tall cell varyant Papiller karsinom (grup 2) ve Andifferansiye karsinom (grup 3) olarak üçe ayırdıkları tiroid karsinom olgularında, differansiyasyon azaldıkça Ki-67 oranının arttığını göstermişlerdir. Ancak, klinikopatolojik parametreler (yaş, cinsiyet, tümör çapı, tiroid dışı yayılım, vasküler invazyon, lenf nodu ve uzak metastaz, tümör evresi ve sağkalım) ile Ki-67 oranı arasında ilişki saptamamışlardır (58).

Yoshida ve arkadaşlarının çalışmasında ise, 61 tiroid tümörü (14 adenom, 35 Papiller karsinom, 4 Folliküler karsinom ve 8 Andifferansiye karsinom) olgusunda Ki-67 proliferasyon oranına bakılmış, differansiyasyon azaldıkça oranın yükseldiği görülmüştür. Klinikopatolojik parametreler (yaş, cinsiyet, tümör çapı ve lenf nodu metastazı) ile Ki-67 proliferasyon oranı arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (55).

Biz de çalışmamızda Yoshida ve Talini'nin çalışmalarına benzer şekilde damar invazyonu dışında diğer klinikopatolojik parametreler ile Ki-67 proliferasyon oranı arasında ilişki saptamadık.

2005 yılında Siironen ve arkadaşlarının yaptıkları retrospektif çalışmada, 601 tiroid Papiller karsinom olgusu TNM sınıflamasına göre evrenmiş ve Ki-67'yi de içeren bir immunhistokimya paneli ( COX-2, MMP-2, VEGF-C, Bcl-2, Ki 67 ve p 21 ) uygulanmış ve bu belirleyicilerin prognostik önemine bakılmıştır. Çalışma sonucunda, hiçbir immunhistokimya markırının prognostik açıdan TNM sınıflamasına üstün olmadığı görülmüştür. Buna göre, 45 yaş üstü, tümör çapının 4 cm.'nin üzerinde olması, tiroid dışı yayılım, lenf nodu yada uzak metastaz varlığı ve evre IV kötü prognostik faktörlerdir (3).

P53, tümör supressör gen proteindir. Hücre siklusunda, DNA tamir ve programlı hücre ölümünde görevlidir. Kanserlerin %50'sinde p53 mutasyonu saptanmıştır (66). Tiroid karsinomlarında ise bu oran %15'tir (67). P53 mutasyonunun, tiroid karsinogenezinin geç döneminde gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu nedenle kötü differansiye ve anaplastik (andifferansiye) tiroid karsinomlarında görülmesi beklenir (68-72).

Literatürde tiroid karsinomlarında p53 ekspresyonu ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında farklı sonuçlar dikkati çekmektedir. Bazı çalışmalarda, p53 ekspresyonu Papiller karsinomda %0, Folliküler karsinomda %0-9, kötü differansiye karsinomda %25 ve Anaplastik karsinomda %22-86 oranında saptanmıştır (69,70,73,74). Buna karşılık başka çalışmalarda bu oranlar Papiller karsinomda %0-11, Folliküler karsinomda %14-20, kötü differansiye karsinomda %16-40.9 ve Anaplastik karsinomda %18-83.3'tür (68,75,76). Letsas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, benign tiroid nodülleri ile iyi differansiye Papiller karsinom ve Folliküler karsinomlarda p53 negatif saptanmıştır (8). Fakat Omar ve arkadaşları p53'ü benign tiroid nodüllerinde negatif bulurken, Papiller karsinom olgularında ise pozitif tespit etmişlerdir (9). Bir çalışmada, anaplastik komponent içeren dört Papiller karsinom olgusunda p53 ekspresyonu oranlarına



bakıldığında olguların ikisinde anaplastik komponentte p53 %20 ve %80 oranlarında pozitif saptanmıştır, Papiller karsinomun differansiye alanlarında ise negatif izlenmiştir (77). Szybinski ve arkadaşlarının çalışmasında, p53 ekspresyonunun tümörün differansiyasyonu ile ilişkili olduğu ancak, bunun tümörün evresi ile korele olmadığı belirtilmiştir (78). Yine başka bir çalışmada tiroid karsinomlarında p53 ekspresyonunu skorlamışlar, <%5: 0 , %5-33: + , %33-66: ++ , >%66: +++ olarak kabul etmişler ve differansiyasyon azaldıkça p53 ekspresyonunun arttığını görmüşlerdir (79). Zafon ve arkadaşları ise p53 ekspresyonunu farklı bir skorlama sistemi geliştirerek değerlendirmişlerdir. Buna göre, <%10: negatif, %10-25: +, %25-50: ++, >%50: +++ kabul edilmiş, olguların %33ünde p53 ekspresyonu negatif saptanırken, %67 olguda farklı derecelerde pozitiflik izlenmiştir (80). Görüldüğü gibi p53 ekspresyonu literatürde farklı metodlarla değerlendirilmiştir. Bazı araştırmacılar skorlama sistemleri geliştirirken, bazıları ise oran vermeyi tercih etmiştir. Literatürde farklı sonuçların bulunmasının sebebi farklı metodların kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bizim çalışmamızda ise, tiroid karsinomlarında p 53 ekspresyonu oldukça düşük düzeyde (Papiller karsinom grubunda 0.02, Mikropapiller karsinom grubunda 0.01, Folliküler karsinom grubunda 0.07, Medüller karsinom grubunda 0.03 ve Anaplastik karsinom grubunda 0.01) olması sebebiyle oran vermeyi tercih ettik. Çalışmamızda tümör grupları arasında p53 ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmadı. İstatistiksel olarak anlamı olmasa da Folliküler karsinomda daha yüksek oranda p53 pozitifliği izlendi. Benzer şekilde, Papiller karsinomun varyantları arasında da fark yoktu. P53 mutasyonunun, tiroid karsinogenezinin geç döneminde, özellikle anaplastik karsinoma progresyon sırasında gerçekleştiği düşünülmektedir. Olgularımızın genellikle erken evre oldukları göz önüne alınırsa saptanan düşük düzeydeki p53 ekspresyonu normal yorumlanabilir. Ayrıca çalışmalar göstermektedir ki, immunhistokimyasal olarak p53 ekspresyonu her zaman p53 mutasyonunu yansıtmayabilir (81). Serimizde 2 adet Anaplastik karsinom yer almaktaydı. Bu sayı istatistiksel çalışma yapmak için uygun değildi. Bu sebeple, daha geniş serilerde ve ileri evre olgularda p53 ekspresyonuna bakılarak daha güvenilir sonuçlar elde edilebilir.

P53 ekspresyonunun tiroid karsinomlarındaki prognostik önemi tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar, p53 ekspresyonu ile tümör çapı ve tiroid dışı yayılım arasında ilişki saptamışlardır (71,82,83). Ancak tam tersini savunan araştırmacılar da vardır (80,84-85). Yine başka bir çalışmada, lenf nodu metastazı ve kapsül invazyonu p53 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiş ve p53'ün tiroid karsinomlarında önemli bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (9). Biz ise çalışmamızda, p53 ekspresyonu ile; hastanın yaşı, cinsiyeti, tümör çapı, vasküler invazyon, kapsül dışı yayılım ve uzak metastaz arasında bir ilişki saptamadık.

Cyclin D1 hücre siklusunda, G1 fazından S fazına geçişte rol alan önemli bir regülatördür (42). Cyclin D1, 11q13 kromozomunda lokalize bcl-1 geninin ürünüdür. Bcl-1 geninde ya da 11q13 lokusunda translokasyon ya da amplifikasyon olduğunda cyclin D1'in overekspresyonu ile sonuçlanır. Normal tiroid dokusunda cyclin D1 ekspresyonu beklenmez (86). Bir çalışmada, tiroid karsinogenezinin erken döneminde cyclin D1 ekspresyonu ile tümörün büyümesinin ve metastatik potansiyel kazanmasının tetiklendiği belirtilmektedir (11). Ancak literatürde farklı sonuçlar da dikkati çekmektedir. P 53 ile ilgili yapılan çalışmalara benzer şekilde cyclin D1 ekspresyonu farklı metodlarla değerlendirilmiştir. Bazı çalışmacılar oran verirken bazıları da skorlama yoluna gitmişlerdir. Bu sebeple sonuçlar literatüre farklı şekilde yansımış olabilir.

Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, normal tiroid dokusunda cyclin D1 ekspresyonu izlenmezken, Folliküler adenom ve Folliküler varyant papiller karsinom olgularında cyclin D1 ekspresyonu görülmüş ancak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışma sonucunda, cyclin D1 ekspresyonunun normal tiroid dokusundan adenoma transformasyon aşamasında gerçekleştiği düşünülmüştür (86). Pickett tümörün histolojisi ile cyclin D1 ekspresyonu arasında bir ilişki saptamazken, Wang agresiv histoloji ile cyclin D1 ekspresyonunun korele olduğunu göstermiştir (87,88). Saltman ve arkadaşlarının çalışmasında 41 adet iyi differansiye, 43 adet kötü differansiye ve 22 adet anaplastik tiroid karsinomu olgusunda differansiyasyon azaldıkça Ki-67 ve p53

ekspresyonu artarken, cyclin D1 ekspresyonunun olmadığı görülmüştür (52). Bizim çalışmamızda, 28 olguda cyclin D1 negatif saptandı. Diğer olgularda ise cyclin D1 ekspresyonu oldukça düşük düzeyde (Papiller karsinom grubunda 0.02, Mikropapiller karsinom grubunda 0.01, Folliküler karsinom grubunda 0.01, Medüller karsinom grubunda 0.03 ve Anaplastik karsinom grubunda 0.00) idi ve tümör grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Saltman gibi, tiroid karsinogenezinde, cyclin D1 ekspresyonunun önemsiz sayılabilecek bir etkisinin olduğunu düşünüyoruz. Ancak daha geniş olgu serilerinde bu sonucun desteklenmesi uygun olur.

Varkondi ve arkadaşlarının çalışmasında, tiroid papiller karsinomlarında cyclin D1 ekspresyonu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (12). Başka çalışmalarda ise, tiroid Papiller mikrokarsinomlarında tümör çapı arttıkça ve lenf nodu metastazı yapan olgularda cyclin D1 ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığı görülmüştür (7,11). Bizim çalışmamızda, cyclin D1 ekspresyonu ile tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenf nodu ve uzak metastaz arasında anlamlı ilişki saptamadık.

Pulcrano ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 40 kötü differansiye Folliküler karsinom olgusuna içerisinde Ki-67, p53 ve Cyclin D1'in de bulunduğu bir immunhistokimya paneli ( cyclin A, cyclin B1, cyclin D1, cyclin E, Ki-67, thyroperxidase, galectin 3, dual oxidase [Duox], vasculer endothelial growth faktör, epidermal growth factor ve p53 ) uygulanmış ve bu belirleyicilerin prognostik önemine bakılmıştır. Çalışma sonucunda, hiçbir immunhistokimya belirleyicisinin prognostik öneminin olmadığı vurgulanmıştır. Pulcrano`ya göre, hastanın yaşlı olması ve tümör çapının büyük olması metastaz ve ölüm riskini arttırmaktadır (60).

Sonuç olarak, tiroid karsinomlarında differansiyasyon azaldıkça Ki-67 proliferasyon oranının arttığı, buna karşılık differansiye tümörlerde ise Ki-67 proliferasyon oranının anlamlı fark göstermediği görüldü. Ki-67 oranı %5'in üzerinde olduğunda, vasküler invazyon açısından uyarıcı olabileceği düşünüldü. P53 ve cyclin D1'in tiroid karsinomlarında ayırıcı tanı ve klinikopatolojik prognostik parametreler

üzerinde etkisi olmadığı sonucuna varıldı. Tiroid karsinomlarında, prognozu öngörmeye klinikopatolojik parametrelerin (yaş, cinsiyet, tümör çapı, vasküler invazyon, kapsül dışı yayılım, lenf nodu - uzak metastaz ve tümör evresi) daha önemli olduğu düşünöldü.

## SONUÇLAR

Biz bu çalışmada, 52 Tiroid karsinomu olgusunda proliferasyon belirleyicisi olan **Ki-67**, tümör supresör geni olan **P53** ve hücre siklusu düzenleyicisi olan **Cyclin D1**'i klinik ve histopatolojik verilerle birlikte değerlendirdik. Bu üç immunhistokimya belirleyicisinin “Tiroid karsinomlarında prognozu tahmin etmede önemi var mıdır?” sorusuna yanıt aradık ve bize faydalı olabilecek şu sonuçları elde ettik:

1. Nükleer Ki-67 ekspresyonu saptanan tümör hücrelerinin oranı tümör gruplarına göre incelendiğinde, ortalama değerler Papiller karsinom grubunda 0.06, Mikropapiller karsinom grubunda 0.01, Foliküler karsinom grubunda 0.03, Medüller karsinom grubunda 0.02 ve Anaplastik karsinom grubunda 0.15 olarak bulundu. Bu grupların istatistiksel analizi yapıldığında tümör grupları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu tespit edildi ( $p=0.05$ ). Anaplastik karsinom olgularında Ki-67 ekspresyonu diğer tümör tiplerine göre daha yüksek bulundu. Papiller karsinom, Mikropapiller karsinom, Foliküler karsinom ve Medüller karsinom olguları arasındaki fark anlamlı değildi.
2. Lenfovasküler tümör invazyonu ile Ki-67 arasında, T-Testi ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ( $p<0.05$ ). Lenfovasküler tümör invazyonu gösteren olgularda Ki-67 ekspresyonunun arttığı görüldü. Lenfovasküler invazyon açısından Ki-67 eşik değeri **0.05** olarak saptandı.
3. Hastanın cinsiyeti, yaşı, tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenf nodu metastazı, nüks, mitoz, eşlik eden tiroidit ve skuamöz metaplazi ile Ki-67 ekspresyonu arasında bir ilişki saptanmadı.
4. Lenfovasküler invazyon, kapsül dışı yayılım, lenf nodu metastazı ve mitotik aktivite artışı bulguları birleştirildiğinde, bu değişkenlerinden herhangi birinin pozitif olması ile Ki-67 ekspresyonunun arttığı görüldü ( $p=0.03$ ).

5. Nükleer p53 ekspresyonu saptanan tümör hücrelerinin oranı tümör gruplarına göre incelendiğinde, ortalama değerler Papiller karsinom grubunda 0.02, Mikropapiller karsinom grubunda 0.01, Folliküler karsinom grubunda 0.07, Medüller karsinom grubunda 0.03 ve Anaplastik karsinom grubunda 0.01 olarak bulundu. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (P=0.43).

6. Nükleer Cyclin D1 ekspresyonu saptanan tümör hücrelerinin oranı tümör gruplarına göre incelendiğinde ise, ortalama değerler Papiller karsinom grubunda 0.02, Mikropapiller karsinom grubunda 0.01, Folliküler karsinom grubunda 0.01, Medüller karsinom grubunda 0.03 ve Anaplastik karsinom grubunda 0.00 olarak bulundu. İstatistiksel analizde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü (p=60).

7. Hastanın cinsiyeti, yaşı, tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon, nüks, mitotik aktivite artışı, eşlik eden tiroidit ve skuamöz metaplazi ile p53 ve Cyclin D1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

**ÖZET**  
**TİROİD KARSİNOMLARINDA**  
**Kİ-67, P53 VE CYCLİN D1 EKSPRESYONU**  
**Dr. Şermin Çoban**

Tiroid karsinomları, dünyada görülen tüm kanserlerin %1'ini oluşturmakla birlikte, endokrin sistemin en sık görülen ve en sık ölüm sebebi olan malignitesidir. Tiroidin folliküler hücrelerinden köken alan Papiller Karsinom, en sık görülen malignitesidir.

Son yıllarda tiroid karsinomları ile ilgili birçok çalışma yapılmış, klinikopatolojik prognostik parametreler tanımlanmış ve skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Hastanın yaşı, cinsiyeti, tümör tipi, tümör çapı, kapsül dışı yayılım, lenfovasküler invazyon, lenf nodu ve uzak metastaz tanımlanan prognostik parametrelerdir.

Bu çalışmada, “Tiroid karsinomlarında proliferasyon belirleyicisi olan **Ki-67**, tümör supresör geni olan **P53** ve hücre siklusu düzenleyicisi olan **Cyclin D1**’i klinik ve histopatolojik verilerle karşılaştırarak, bu üç immunhistokimya belirleyicisinin prognozu tahmin etmede önemi var mıdır?” sorusuna yanıt aradık.

52 tiroid karsinomu olgusunda Ki-67, p53 ve cyclin D1 ekspresyonu klinik ve histopatolojik verilerle birlikte değerlendirildi.

İyi differansiye tiroid karsinomlarına göre Anaplastik (andifferansiye) tiroid karsinomlu olgularda Ki-67 proliferasyon oranı yüksek bulundu. Papiller karsinom, Folliküler karsinom ve Medüller karsinom olguları ile Papiller karsinomun varyantları arasında Ki-67 proliferasyon oranı anlamlı farklılık göstermedi. Ki-67 proliferasyon oranı % 5’ten büyük olan olgularda damar invazyonu görülme riskinin arttığı saptandı. Nükleer p53 ve Cyclin D1 ekspresyonu incelendiğinde gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

Sonuç olarak, tiroid karsinomlarında differansiyasyon azaldıkça Ki-67 proliferasyon oranının arttığı, buna karşılık differansiye tümörlerde ise Ki-67'nin ayırıcı tanıya katkısının olmadığı görüldü. Ki-67 oranı %5'in üzerinde olduğunda, vasküler invazyon açısından uyarıcı olabilir sonucuna varıldı. P53 ve cyclin D1'in tiroid karsinomlarında ve klinikopatolojik prognostik parametreler üzerinde etkisi olmadığı saptandı. Tiroid karsinomlarında, prognozu öngörmeye klinikopatolojik parametrelerin (yaş, cinsiyet, tümör çapı, vasküler invazyon, kapsül dışı yayılım, lenf nodu - uzak metastaz ve tümör evresi) daha önemli olduğu düşünüldü.



**SUMMARY**  
**THE EXPRESSION OF KI-67, P53 AND CYCLIN D1**  
**IN THYROID CARCINOMAS**  
**Dr. Sermin Coban**

Thyroid carcinomas, comprising 1 % of all the cancer cases all over the world, are the most frequently experienced malignity of endocrine system.

Recently, some considerable research has been done on Thyroid Carcinomas. Clinicopathologic prognostic parameters have been defined, and scoring systems have been developed accordingly. The defined prognostic parameters are the age and the gender of the patient, the type and the diameter of the tumor, the spread of tumor out of capsula, lymphovascular invasion, lymph node and distant metastasis.

In this study we compared the clinical and histopathological data with the expressions of **Ki-67**, a proliferative marker, **P53**, the suppressor gene of tumor and **Cyclin D1**, the regulator of cell cycle; and tried to find out the answer if these immunohistochemical markers play an important role in the estimation of the prognosis.

The cycles of Ki-67, P53 and Cyclin D1 have been evaluated together with the clinical and histopathological data in 52 cases of thyroid carcinoma.

As a result, it has been found that when the differentiation in thyroid carcinoma decreases, the proliferative rate of Ki-67 increases. It has also been observed that the sighting risk of vascular invasion has increased in the cases where the proliferative rate of Ki-67 is higher than 5%. It has been determined that P53 and Cyclin D1 do not have any effect on the clinicopathological prognostic parameters. It has also been concluded that the clinicopathological parameters are more important in thyroid carcinomas to estimate prognosis.

## KAYNAKLAR

1. DeLellis RA, Williams ED. Tumours of the thyroid and parathyroid. In: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. Editors Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs, IARC Press, Lyon, 2004: 49-133.
2. Rosai J. Thyroid gland. In: Juan Rosai Editors. Ackerman's Surgical Pathology. Vol 1 Ninth Edition. Pp:529-568, 2004.
3. Siironen P, Louhimo J, Nordling S, Ristimaki A, Maenpaa H, Haapiainen R, Haglund C. Prognostic factors in papillary thyroid cancer an evaluation of 601 consecutive patients. *Tumour Biol* 2005 Mar-Apr; 26(2): 57-64. Epub 2005.
4. Kjelman P, Wallin G, Hoog A, Auer G, Larsson C, Zedenius J. MIB-1 index in thyroid tumors: a predictor of the clinical course in papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 2003 Apr; 13(4): 371-80.
5. Ludvikova M, Holubec L, Ryska A, Topolcan O. Proliferative markers in diagnosis of thyroid tumors: a comparative study of MIB-1 and topoisomerase II-a immunostaining. *Anticancer Res* 2005 May-Jun; 25(3A):1835-40.
6. Siironen P, Nordling S, Louhimo J, Haapiainen R, Haglund C. Immunohistochemical expression of Bcl-2, ki-67 and p 21 in patients with papillary thyroid cancer. *Tumor Biol* 2005 Jan-Feb; 26(1):50-6. Epub 2005 Mar 8.
7. Ito Y, Uruno T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Kuma K, Miyauchi A. Papillary microcarcinomas of the thyroid with preoperatively detectable lymph node metastasis show significantly higher aggressive characteristics on immunohistochemical examination. *Oncology* 2005; 68(2-3):87-96. Epub 2005 May 9.

- 8.** Letsas KP, Frangou-Lazaridis M, Skyras A, Tsatsoulis A, Malamou-Miysi V. Transcription factor-mediated proliferation and apoptosis in benign and malignant thyroid lesions. *Pathol Int* 2005 Nov; 55(11):694-702.
- 9.** Omar E, Madhavan M, Othman NH. Immunohistochemical localization of RET and p 53 mutant protein of thyroid lesions in a North-Eastern Malaysian population and its prognostic implications. *Pathology* 2004 Apr; 36(2):152-9.
- 10.** Saiz AD, Olvera M, Rezk S, Florentine BA, McCourty A, Brynes RK. Immunohistochemical expression cyclin D1, E2F-1 and Ki-67 in benign and malignant thyroid lesions. *J Pathol* 2002 Oct; 198(2):157-62.
- 11.** Lantsov D, Meirmanov S, Nakashima M, Kondo H, Saenko V, Naruke Y, Namba H, Ito M, Abrosimov A, Lushnikov E, Sekine I, Ymashita S. Cyclin D1 overexpression in thyroid papillary microcarcinoma: its association With tumour size and aberrant beta-catenin expression. *Histopathology*. 2005 Sep; 47(3):248-56.
- 12.** Varkondi E, Gyory F, Nagy A, Kiss I, Ember I, Kozma L: Oncogene amplification and overexpression of oncoproteins in thyroid papillary cancer. *In Vivo* 2005 Mar-Apr; 19(2):465-70.
- 13.** Sadler TW. Baş boyunç Editör: Başaklar C. *Medikal Embryoloji*. Ankara: Palme Yayıncılık. 1990; 282-312.
- 14.** Zubair W. Baloch, Virginia A. LiVolsi. The thyroid gland. In: Steven G. Silverberg. *Silverberg's Surgical Pathology and Cytopathology*, 4th ed., 2006; 2119-2149.
- 15.** Alessandri AJ, Goddard KJ, Blair GK et al. Age is the major determinant of recurrence in pediatric thyroid carcinoma. *Med Pediatr Oncol* 2000; 35:41-46.

16. Rosai J, Carcangiu ML, DeLellis RA, eds Tumours of the Thyroid Gland (Atlas of Tumour Pathology), 3rd series, fascicle 5. Washington, DC: AFIP; 1992.
17. Sanchez MA, Stahl RE. The thyroid, parathyroid and neck masses other than lymph nodes. In: Leopold G Koss. Editors. Koss' Diagnostic Cytology. Philadelphia. Vol II., 5th ed. 2006; 1148-1185.
18. Cvejic D, Savin S, Petrovic I et al. Galectin-3 expression in papillary microcarcinoma of the thyroid. *Histopathology* 2005; 47:209-214.
19. PS de Matos, AP Ferreira, f de Oliveira et al. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology* 2005; 47:391-401.
20. Fink A, Tomlinson G, Freeman JL, et al. Occult micropapillary carcinoma associated with benign follicular thyroid disease and unrelated thyroid neoplasms. *Mod Pathol* 1996; 9:816-820.
21. Akslen LA, LiVolsi VA. Prognostic significance of histological grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. *Cancer* 2000 ;88:1902-1908.
22. Nikiforov Y, Gnepp DR. Peditric thyroid carcer following the Chernobly disaster. Pathomorphologic study of 84 cases (1991-1992) from the Republic of Belarus. *Cancer* 1994; 74:748-766.

23. Nikiforov YE, Erickson LA, Nikiforova MN, et al. Solid variant of papillary thyroid carcinoma: Incidence, clinical-pathological characteristics, molecular analysis and biological behavior. *Am J Surg Pathol* 2001; 25:1478-1484.
24. Wells Jr SA, Baylin SB, Linehan WM, Farell RE et al. Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* 1978; 188:139-141.
25. Tisell LE, Dille WG, Wells SA Jr. Progression of postoperative residual medullary thyroid carcinoma as monitored by plasma calcitonin levels. *Surgery* 1996;119: 34-39.
26. Hay ID, Grant CS, Taylor WF, et al. Ipsilateral lobectomy versus bilateral lobar resection in papillary thyroid carcinoma: a retrospective analysis of surgical outcome using a novel prognostic scoring system. *Surgery* 1987; 102:1088-1095.
27. Hay ID, Bergstralh EJ, Goellner JR, et al. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779 patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. *Surgery* 1993; 114:947-953.
28. Byar DP, Green SB, Dor P, et al. A prognostic index for thyroid carcinoma: a study of the EORTC Thyroid Cancer Cooperative Group. *Eur J Cancer* 1979; 15:1033-1041.
29. Cady B Our AMES is true: how an old concept still hits the mark, or risk group assignment points the arrow to rational therapy selection in differentiated thyroid cancer. *Am J Surg* 1997; 174:462-468.
30. Ashok R. Shaha, MD, FACS. TNM Classification of Thyroid Carcinoma. *World J Surg* 2007 .

31. Yang XJ, McEntee M, Epstein JI. Distinction of basaloid carcinoma of the prostate from benign basal cell lesions by using immunohistochemistry for bcl-2 and ki-67. *Hum Pathol.* 1998; 28:1447-1450.
32. Lum CA, Binder SW. Proliferative characterization of basal cell carcinoma and trichoepithelioma in small biopsy specimens. *J Cutan Pathol.* 2004; 31:550-554.
33. Mayerhofer K, Lozanov P, Bodner K et al. Ki-67 expression in patients with uterine leiomyomas, uterine smooth muscle tumors of uncertain malign potential (STUMP) and uterine leiomyosarcomas (LMS). *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004; 83:1085-1088.
34. Oda Y, Takahira T, Kawaguchi K et al. Low grade fibromyxoid sarcoma versus low grade myxofibrosarcoma in the extremities and trunk: a comparison of clinicopathological and immunohistochemical features. *Histopathology.* 2004; 45:29-38.
35. Vargas MP, Vargas HI, Kleiner DE et al. Adrenocortical neoplasms: rol of Prognostic markers MIB-1, p53 and Rb. *Am J Surg Pathol.* 1997; 21:556-562.
36. Vollmer RT. Use of Bayes rule and MIB-1 proliferation index to discriminate Spitz nevus from malignant melanoma. *Am J Clin Pathol.* 2004; 122:499-505.
37. Vogelsitein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2000; 408: 796-801.
38. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p 53 protooncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell.* 1989; 57:1083-1093.
39. Crawford LV, Pim DC, Lamb P. The celluler protein p 53 in human tumours. *Mol Biol Med.* 1984; 2:261-272.

40. Bartek J, Iggo R, Gannon J, Lane DP. Genetic and immunochemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines. *Oncogene* 1990; 5:893-9.
41. Kupryjanczyk J, Beauchamp R, Bell D et al. p53 gene alterations and p53 protein expression in ovarian cancers. *Mod Pathol* 1993; 6:75A.
42. Zhu XL, Hartwick W, Rohan T, Kandel R. Cyclin D1 gen amplification and protein expression in benign breast disease and breast carcinoma. *Mod Pathol* 1998; 11: 1082–1088.
43. Rennstam K, Baldetorp B, Kytola S, Tanner M, Isola J. Chromosomal rearrangements and oncogene amplification precede aneuploidization in the genetic evolution of breast cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 1214–1219.
44. Smith BD, Haffty BG, Sasaki CT, et al. Molecular markers in head and neck squamous cell carcinoma: their biological function and prognostic significance. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110: 221–228.
45. Takagi Y, Takashi M, Koshikawa T, Sakata T, Ohshima S. Immunohistochemical demonstration of cyclin D1 in bladder cancers as an inverse indicator of invasiveness but not an independent prognostic factor. *Int J Urol* 2000; 7: 366–372.
46. Tut VM, Braithwaite KL, Angus B, Neal DE, Lunec J, Mellon JK. Cyclin D1 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: correlation with p53, waf1, pRb and Ki67. *Br J Cancer* 2001; 84: 270–275.
47. Brian Hung-Hin Lang, MBBS, FRACS, Chung-Yau Lo, MS, FRCS (Edin), FACS, Wai-Fan Chan, MBSS, FRCS, King-Ying Lam, MD, FRCPA and Koon-Yat Wan, MBBS, FRCR. Prognostic factors in Papillary and Follicular Thyroid Carcinoma: Their implications for cancer staging. *Annals of Surgical Oncology* 2007; 14(2):730-738.

- 48.** Jung TS, Kim TY, Kim KW, Oh YL, Park DJ, Cho BY, et al. Clinical fetures and prognostic factors for survival in patients with poorly differentiated Thyroid Carcinoma and comparison to the patients with the aggressive variants of Papillary Thyroid Carcinoma. *Endocrine Journal* 2007; 54 (2),265-274.
- 49.** Duntas L, Grab-Duntas BM. Risk and prognostic factors for differentiated thyroid cancer. *Hell J Nucl Med* 2006,Sep-Dec; 9(3):156-62.
- 50.** Gulçelik MA, Gulçelik NE, Kuru B, Camlıbel M, Alagöl H. Prognostic factors determining survival in differentiated thyroid cancer. *Journal of Surgical Oncology* 2007; 96 : 598-604.
- 51.** Öz F. Tiroid Lezyonları Atlası. İstanbul, Medikal Yayıncılık, 2005.
- 52.** Saltman B, Singh B, Cyrus V, et al. Patterns of expression of cell cyclic/apoptosis genes along the spectrum of thyroid carcinoma progression/ *Surgery* 2006; 140:899-906.
- 53.** Resnick MB, Schacter P, Finkelstein Y, Kellner Y, Cohen O. Immunohistochemical analysis of p27/kip1 expression in thyroid carcinoma. *Mod Pathol* 1998; 11:735-739.
- 54.** Erickson LA, Jin L, Wollan PC, Thompson GB, van Heerden J, Lloyd RV. Expression of p27/kip1 and Ki 67 in benign and malignant thyroid tumors. *Mod Pathol* 1998; 11:169-174.
- 55.** Yoshida A, Nakamura Y, Imada T, Asaga T, Shimizu A, Harada M. Apopitosis and proliferative activity in thyroid tumors. *Surg Tудay* 1999; 29:204-208.



- 56.** Katoh R, Bray CE, Suzuki K, Komiyama A, et al. Growth activity in hyperplastic and neoplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1. *Human Pathol* 1995; 26:139-146.
- 57.** Basola F, Caligo MA, Pinchera A, Fedeli F, et al. Cyclin D1 overexpression in thyroid carcinomas: Relation with clinicopathological parameters, retinoblastoma gene product, and Ki 67 labeling index. *Thyroid* 2000; 10:741-746.
- 58.** Tallini G, Garcia-Rostan G, Herrero A, Zelterman D, et al. Downregulation of p27KIP1 and Ki 67/Mib1 labeling index support the classification of thyroid carcinoma into prognostically relevant categories. *Am J Surg Pathol* 1999; 23:678-685.
- 59.** Tang W, Nakamura Y, Zuo H, Yasuoka H, et al. Differentiation, proliferation and retinoid receptor status of papillary carcinoma of the thyroid. *Pathology International* 2003; 53:204-213.
- 60.** Pulcrano M, Boukheris H, Talbot M, Caillou B, et al. Poorly differentiated follicular thyroid carcinoma: prognostic factors and relevance of histological classification. *Thyroid* 2007; 17(7):639-46.
- 61.** Lantsov DS. Proliferative activity of thyroid papillary microcarcinoma. *Arkh Pathol* 2006 sept-oct; 68(5):16-9.
- 62.** Akslen LA. Prognostic importance of histological grading in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Suppl* 1993; 1:2680-2685.
- 63.** Mar KC, Eimoto T, Nagaya S, Tateyama H. Cell proliferation marker MCM2, but not Ki 67 is helpful for distinguishing between minimally invasive follicular carcinoma and follicular adenoma of the thyroid. *Histopathology* 2006 Jun; 48(7):801-7.

- 64.** Ivanova R, Soares P, Castro P, Simoes M. Diffuse (or multinodular) follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of ten cases of an aggressive form of differentiated thyroid carcinoma. *Virchows Arch* 2002; 440:418-424.
- 65.** Guo X, Kleiner D, Fischette M, Merino Mj. Aggressive follicular variant of papillary carcinoma. *Lab Invest* 1999; 79:67A.
- 66.** Levine A, Momand J, Finlay CA. The p 53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991; 351:453-456.
- 67.** Farid NR. P 53 mutations in thyroid carcinoma: tidings from an old foe. *J. Endocrinol. Invest* 2001; 24:536-545.
- 68.** Dobashi Y, Sakamoto A, Sugimura H et al. Overexpression of p 53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 1993; 17:375-381.
- 69.** Fagin JA, Matsuo K, Karmakar A et al. High prevalence of mutations of the p 53 gene in poorly differentiated human thyroid carcinomas. *J. Clin. Invest.* 1993; 91:179-184.
- 70.** Donghi R, Longoni A, Pilotti S et al. Gene p 53 mutations are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. *J. Clin. Invest.* 1993; 91:1753-1760.
- 71.** Holm R, Nesland JM. Retinoblastoma and p 53 tumour suppressor gene protein expression in carcinomas of the thyroid gland. *J. Pathol.* 1994; 172:267-272.

72. Goto A, Sakamoto A, Machinami R. An immunohistochemical analysis of cyclin D1, p 53 and p21waf1/cip1 proteins tumors originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. *Pathol. Res. Pract.* 2001; 197:217-222.
73. Ito T, Seyama T, Mizuno T, et al. Unique association of p 53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer Res* 1992; 52:1369-71.
74. Nakamura T, Yana I, Kobayashi T, et al. P 53 gene mutations associated with anaplastic transformation of human thyroid carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83:1293-8.
75. Carr K, Heffes C, Jin L, Davenport R, et al. Immunohistochemical analysis of papillary and anaplastic thyroid carcinomas utilizing antibodies to p 53, PCNA and Ki 67. *Mod Pathol.* 1993; 6:37A.
76. Soares P, Cameselle-Tejeiro J, Sobrinho-Simoes M. Immunohistochemical detection of p 53 and PCNA in differentiated, poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid. *Pathol Res Pract* 1993; 189:813.
77. Matias-Guiu X, Cuatrecasas M, Musulen E, Prat J. P 53 expression in anaplastic carcinomas arising from thyroid papillary carcinomas. *J Clin Pathol* 1994; 47:337-339.
78. Szybinski P, Nowak W, Stachura J, et al. Expression of protein p 53: the marker of low neoplastic cell differentiation in thyroid carcinoma. *Wiad Lek* 2001; 54 Suppl 1:88-94.
79. Kim YW, Do IG, Park YK. Expression of the GLUT1 glucose transporter, p 63 and p 53 in thyroid carcinomas. *Pathology-Research and practice* 2006; 202:759-765.

- 80.** Zafon C, Obiols G, Castellvi J, et al. Clinical significance of RET/PTC and p 53 protein expression in sporadic papillary thyroid carcinoma. *Histopathology* 2007; 50:225-231.
- 81.** Liu MC, Gelmann EP. P 53 gene mutations: case study of a clinical marker for solid tumors. *Semin. Oncol.* 2002; 29:246-257.
- 82.** Hosal SA, Apel RL, Freeman JL, et al. Immunohistochemical localization of p 53 in human thyroid neoplasms: correlation with clinical behaviour. *Endocr. Pathol.* 1997; 8:21-28.
- 83.** Godballe C, Asschenfeldt P, Jorgensen KE et al. Prognostic factors in papillary and follicular thyroid carcinomas: p 53 expression is a significant indicator of prognosis. *Laryngoscope* 1998; 108:243-249.
- 84.** Goldenberg JD, Portugal LG, Wenig BL, Ferrer K, Wu JC, Sabnani J. Well differentiated thyroid carcinomas; p 53 mutation status and microvessels density. *Head Neck* 1998; 20:152-158.
- 85.** Zedenius J, Larsson C, Wallin G et al. Alterations of p 53 and expression of WAF1/p21 in human thyroid tumors. *Thyroid* 1996; 6:1-9.
- 86.** Wang S et al. Cell cycle regulatory proteins in thyroid cancer. *Human Pathology* 1998; 29:11.
- 87.** Vickett CA, Agoff SN et al. Altered expression of cyclins and cycle inhibitors in papillary thyroid cancer: prognostic implications. *Thyroid* 2005; 15:461-73.
- 88.** Wang S, Lloyd RV et al. The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1, in the progression of thyroid cancer. *Mod Pathol* 2000; 13:882-7.