

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ BÖLÜMÜ
Klinik Şefi:Doç. Dr.Gülnur GÜLER

**TİROİDEKTOMİ MATERYALLERİNDE, KOLLOİDAL NODÜL İÇİNDE
GELİŞEN PAPİLLER KARSİNOMLARDA ,TÜMÖRAL VE NONTÜMÖRAL
ALANLARIN MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

*COMPARISON OF MOLECULAR CHARACTERISTICS OF PTC AND COLLOIDAL AREAS
WITHIN PTC ARISING IN COLLOIDAL NODULE IN THYROIDECTOMY SPECIMENS*

UZMANLIK TEZİ

Dr.Güven Güney

ANKARA-2011

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince değerli bilgi ve tecrübeleri ile manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen , tezim dahil her konuda ve koşulda bana destek olan , her sıkıştığımda kapısını rahatlıkla çalabildiğim , değerli büyüğüm, hocam Doç.Dr. Gülnur GÜLER' e, yine dört yılı aşkın asistanlık sürem boyunca her türlü desteğini benden esirgemeyen, asistanlık eğitimimde çok büyük katkıları olan saygıdeğer hocam Prof.Dr. Olcay KANDEMİR 'e ve asistanlığımın ilk yıllarında klinik şefim ve hocam olan , patolojiyi sevmemde büyük katkısı bulunan Prof.Dr.Nevzat Serdar UĞRAŞ' a , tezim konusunda bana çok yardımcı olan , Doç. Dr. Gaye Güler TEZEL' e ve Prof. Dr. Engin YILMAZ 'a çok teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince başta bana ağabeylik yapan Uzm. Dr.AYKUT ONURSEVER olmak üzere uzmanlarımız Dr. Dinç SÜREN, Dr. Aylin YAZGAN, Dr. Sibel ORHON, Dr. Nuran SÜNGÜ, Dr. Aydan KILIÇARSLAN, Dr. Kemal KÖSEMEHMETOĞLU na sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince ve asistanlığım boyunca bir çok şey paylaştığımız değerli asistan arkadaşlarım Ömer ERONAT, Fuat BARAN, Egemen AKINCIOĞLU, Cemile YEŞİL, İlke SEÇİNTİ, Sinem GÜMÜŞTAŞ, Bilge SAKA ya benden desteklerini esirgemedikleri için çok teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca birlikte çok vakit geçirdiğimiz laboratuvar personeline, Hacettepe Üniv. Moleküler Patoloji laboratuvarı teknisyenlerine sonsuz teşekkür ederim.

Bütün hayatım boyunca hep yanımda olan aileme ve hayatımın en güzel yıllarını geçirdiğim eşim ÖZLEM e hep yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.

Yine hayatımda çok önemli bir yere sahip , gönül verdiğim renklerin takımına bu tez süresince sürekli kazanarak bana moral verdiği için çok teşekkür ederim.İyiki varsın ve ben iyiki senin şehrinde doğdum TRABZONSPOR.

İÇİNDEKİLER**Sayfa no:**

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	vi
TABLO DİZİNİ.....	vii
ŞEKİL DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1.GENEL BİLGİLER.....	1
1.1.Tarihçesi.....	1
1.2.Embriyolojisi ve histolojisi.....	1
1.3.Anatomisi.....	2
1.3.1.Komşulukları.....	2
1.3.2.Arterleri.....	2
1.3.3.Venleri.....	2
1.3.4.Sinirleri.....	2
1.4.Fizyolojisi.....	3
1.5.Tiroidin Neoplastik Lezyonları.....	4
1.5.1.Genel Bilgiler.....	4
1.5.2.Tanısal Yöntemler.....	4
1.5.2.1.Fizik Muayne.....	4
1.5.2.2.Ultrasonografi.....	4
1.5.2.3.Sintigrafi.....	4
1.5.2.4.Manyetik rezonans.....	5
1.5.2.5.İnce İğne Aspirasyonu.....	5
1.5.3.Tiroid Neoplazilerinin Sınıflaması.....	5
1.5.4.Tiroid Karsinomları.....	7
1.5.4.1.Papiller Tiroid Karsinomu.....	7

1.5.4.1.1.Epidemiyolojisi.....	7
1.5.4.1.2.Makroskopik Özellikleri.....	7
1.5.4.1.3.Histopatolojik Özellikleri.....	7
1.5.4.1.4.Histopatolojik Varyantları.....	8
1.5.4.1.4.1.Foliküler Varyant.....	8
1.5.4.1.4.2.Onkositik Varyant.....	9
1.5.4.1.4.3.Berrak hücreli varyant.....	10
1.5.4.1.4.4.Diffüz Skelrozan Varyant.....	10
1.5.4.1.4.5.Tall Cell Varyant.....	10
1.5.4.1.4.6.Kolumnar Hüc. Varyant.....	10
1.5.4.1.4.6.Solid Varyant.....	11
1.5.4.1.4.7.Kribriform Varyant.....	11
1.5.4.1.4.8.Fasiitis Benzeri Stroma içeren PK.....	11
1.5.4.1.4.9.Papiller Mikrokarsinom.....	11
1.5.4.1.5.Gradeleme.....	11
1.5.4.1.6.İmmünohistokimyasal Belirteçler.....	11
1.5.4.1.6.1.CK 19.....	12
1.5.4.1.6.2.HBME 1.....	12
1.5.4.1.6.3.Galaktin 3.....	12
1.5.4.1.6.4.RET.....	12
1.5.4.1.7.Moleküler Belirteçler.....	13
1.5.4.1.7.1.BRAF.....	13
1.5.4.1.7.2.RET/PTK.....	14
1.5.4.1.7.3.RAS.....	14
1.5.4.1.7.4.PAX8 –PPR gama.....	15
1.5.4.2.Foliküler Karsinoma.....	15
1.5.4.2.1.Terminoloji.....	15
1.5.4.2.1.1.Minimal İnvaziv Foliküler Karsinom.....	15
1.5.4.2.1.1.Yaygın İnvaziv Foliküler Karsinom.....	16
1.5.4.2.2.Mikroskopik Varyantları.....	16
1.5.4.2.2.1.Onkositik Varyant.....	16
1.5.4.2.2.2.Berrak Hücreli Varyant.....	17

1.5.4.2.3.Prognoz.....	17
1.5.4.3.Medüller Karsinom.....	17
1.5.4.4.Az Diferansiye Tiroid Karsinomu.....	19
1.5.4.5.Anaplastik Karsinom.....	20
1.5.4.6.Epidermoid Karsinom.....	21
1.5.4.7.Mukoepidermoid Karsinom.....	21
1.5.4.8.Sklerozing Mukoepidermoid Karsinom.....	22
1.5.4.9.Müsinöz Karsinom.....	22
1.5.4.10.SETTLE.....	22
1.5.5.Foliküler Adenom Ve İlişkili Tümörler.....	22
1.5.5.1.Foliküler Adenoma.....	22
1.5.5.2.Hyalinize Trabeküler Adenom.....	23
1.5.6.Diğer Tiroid Tümörleri.....	24
1.5.6.1.Teratom.....	24
1.5.6.2.Primer Lenfoma Ve Plazmositom.....	24
1.5.6.3.Ektopik Timoma.....	25
1.5.6.4.Anjiosarkoma.....	25
1.5.6.5.Düz Kas Tümörleri.....	25
1.5.6.6.Periferik Sinir Kılıfı Tümörleri.....	25
1.5.6.7.Paraganglioma.....	25
1.5.6.8.Soliter Fibröz Tümör.....	26
1.5.6.9.Foliküler Dentritik Hücreli Tümör.....	26
1.5.6.10.Tiroidin Sekonder Tümörleri.....	26
2.MATERYAL METOD.....	27
2.1.Olgu Seçimi.....	27
2.2.DNA Ekstraksiyonu.....	27
2.2.1.HRAS ve NRAS kodon 61 nokta mutasyonu.....	28
2.2.1.1.PCR.....	28
2.2.1.2.DİREK SEKANSLAMA.....	28
2.3.RNA Ekstraksiyonu.....	29
2.3.1. RET/PTK 1-3 ve PAX 8- PPR gama gen rearanj.....	29

3.BULGULAR.....	31
3.1.Genel Bulgular.....	31
3.2.RET/ PTK ile ilgili Bulgular.....	32
3.3.PAX8-PPR gama ile ilgili Bulgular.....	33
3.4.NRAS ve HRAS nokta mutasyonu ile ilgili bulgular.....	34
4.TARTIŞMA.....	40
5.KAYNAKLAR.....	45

KISALTMALAR

DSÖ:Dünya Sağlık örgütü

TİİAS:Tiroid İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi

PTK: Papiller Tiroid Karsinomu

FVPTK:Foliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinomu

MRG:Manyetik Rezonans Görüntüleme

USG:Ultrasonografi

BE:Benign

TM:Tümör

HxE:Hematoksilen Eozin

FK:Foliküler Karsinoma

CEA:Karsino Embriyonik Antijen

TTF 1:Tiroid Transkription Faktör

LMWCK:Düşük Molekül ağırlıklı Sitokeratin

MK:Medüller Karsinoma

CK 19:Sitokeratin 19

TABLO DİZİNİ**Sayfa No**

Tablo 1.1.Tiroid Tümörleri Sınıflaması (DSÖ-2004).....	6
Tablo 2.1. Spesifik primerlar.....	30
Tablo3..1: Tümörün tiplere göre dağılımı.....	31
Tablo :3..2 Hasta yaş, cinsiyet, nodül çap, tümör çapı ve aspirasyon sonuçları.....	32
Tablo3.3:Mutasyon saptanan vakaların sayısı ve yüzdesi.....	38
Tablo 3.4:Mutasyonların dağılımı.....	38
Tablo 3.5:Mutasyon tipleri ve frekansları.....	38
Tablo 3.5:Bütün vakalarda BRAF, RET, PAX 8 sonuçları.....	39

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1:Tiroidin histolojisi H&E

X100.....1

Şekil 1.2:Tiroidin komşulukları ve anatomisi.....3

Şekil 1.3:Tiroid fizyolojisi.....3

Şekil 1.4: Papiller karsinom makroskopisi.....7

Şekil 1.5b: PTK da Üst üste binme H&E X200.....8

Şekil 1.5a: PTK da papiller yapı H&E X40.....8

Şekil 1.6: Kapsüllü folliküler varyant papiller karsinom H&E X40.....9

Şekil 1.7: Onkositik varyant papiller karsinom H&E X100.....9

Şekil 1.8: Kolumnar hücreli varyant papiller karsinom H&E X100.....10

Şekil 1.9a: PTK CK 19 mem. boyanması X 10012

Şekil 1.9b: PTK HBME 1 mem. , stop. Boy. X40.....12

Şekil 1.10a: FK damar invazyonu H&E X10016

Şekil 1.10b: FK kapsül invazyonu H&E X40.....16

Şekil 1.11: Folliküler karsinom, onkositik varyant H&E

X200.....	17							
Şekil	1.12a:	Medüller	karsinom	H&E	X40			
.....	18							
Resim	1.12	b:	Medüller	karsinom	H&E			
X100.....	18							
Şekil	1.13	a:	M.K.	amilodi	birikimi	H&E	X40	
.....	19							
Resim	1.13b:	M.K.	Kongo	boyas.	amiloid			
X40.....	19							
Şekil	1.14a:	M.K	Synaptofizin	pozitifliği	X100			
.....	19							
Şekil	1.14b:	M.K	kromogranin	pozitifliği				
X40.....	19							
Şekil	1.15:	Az	diferansiye	tiroid	karsinomu			
makroskopisi.....	20							
Şekil	1.16a:	ADTK	kap. İnv	ve solid	büyüme	paterni	H&E	
X40.....	20							
Şekil	1.16b:ADTK		nekroz	H&E	X40			
.....	20							
Şekil 1.17: Mikro ve makrofolliküler büyüme paterni gösteren Folliküler Ad. H&E	X40.....	23						
Şekil	3.2.1.	İlk	6	vakada	RET/PTK	1-3	negatifliği...	
.....	32							
Şekil3.3.1.A:olgu2:Tümör	ve	koll	alan	H.EX	40			
.....	33							
Şekil3.3.1B:Tümöral	alan							
H.EX100.....	33							
Şekil3.3.1C.Kolloi.alan								
H.EX100.....	33							
Şekil	3.3.2.	A:2	Num.	olguda	lazer	mikrodiseksiyon	öncesi	tümöral
alan.....	34							

Şekil 3.3.2B: 2 Num .olg. lazer mikrodiseksiyon sonrası.....	34
Şekil 3.3.3.İki numaralı olguda hem tüm. alanda hem koll. alanda PAX8-PPR gama poz.....	34
Şekil:3.4.1. H RAS (üstte) ve NRAS (altta) jel görüntüleri.....	35
Şekil:3.4.2.A:3 num. Olguda hem tümöral hem kolloidal alan H.E X40.....	35
Şekil 3.4.2 :B:Tümöral alan H.EX 100	35
Şekil 3.4.2.C:Tümöral alan H.EX100.....	35
Şekil 3.4.3.A:3 num. Olguda lazer mikr. Elde edilen tümöral alan.....	36
Şekil 3.4.3.B:3 num olguda lazer mikrodisekyion ile elde edilen kol. Alan.....	36
Şekil 3.4.3.C:Tümöral alanda CAA-CGA nokta mutasyonu.....	36
Şekil 3.4.3.D.Kolloidal alanda CAA-CGA nokta mutasyonu.....	36
Şekil:3.4.3.14 num. Olguda A:Tüm. Ve kolloidal alan H.EX40	37
Şekil 3.4.3B:Tümöral ve kolloidal alanda CK 19 boyanma paterni.....	37
Şekil 3.4.4: 14 num. Olguda A:Tüm. Alan.	37
Şekil 3.4.4.B:Kolloidal alan.....	37
Şekil3.4.4.C:Tüm. Alanda CAA-AAA nokta mut.....	37
Şekil3.4.4.D:Kolloid alanda normal sekans	37

ÖZET

Tiroid kanserleri gelişmiş ülkelerde tüm kanserlerin yaklaşık % 1 ini oluşturur .Tiroidin malign lezyonları benign lezyonlara göre daha nadirdir ancak yine de endokrin sistemin en sık görülen malignensileridir. Tiroid kanserlerinin en sık görülenleri folliküler hücre kökenli olanlardır ve yaklaşık % 85 ini oluşturular, parafoliküler C hücrelerinden köken alan Medüller karsinom ise yaklaşık % 3 ünü oluşturur.En sık görülen tiroid malignensisi ise PAPİLLER KARSİNOM dur.Papiller karsinomun iyi tanımlanmış morfolojik özellikleri mevcuttur.Ancak bazen tiroidektomi materyallerinde , özellikle foliküler paterndeki lezyonlarda bu tariflenen morfolojik özellikler tam olarak oturmamış olduğundan tanıda sıkıntı yaşanmaktadır.Bu durumda immünohistokimyasal yöntemler PAX-PPARgamma, CK19, HBME-1, Galektin-3, Ret, Cited-1, fibronectin gibi) ve giderek artan miktarda da moleküler teknikler kullanılmaktadır.Moleküler olarak RET PTK gen rearanjmanı , BRAF ve RAS nokta mutasyonları en sık araştırılan somatik mutasyonlardır.Yapılan çalışmalar göstermiştir ki Papiller karsinomların yaklaşık % 40-50 sinde bu genetik değişikliklerden biri mevcuttur.

PTK bazen koloidal bir nodülün içerisinde gelişebilmektedir.Bu durum bu lezyonun İİAS tanınmasında sıkıntıya yol açmaktadır.Yapılan aspirasyon genelde koloidal alana denk gelmekte ve USG olarak bu nodüller şüpheli olsa bile aspirasyon sonucu BENİGN olarak rapor edilmektedir.Ayrıca tiroidektomi materyalinde tümör çapının; nodülün tamamının çapı mı yoksa sadece PAPİLLER KARSİNOMUN nükleer özelliklerini içeren odağın çapının mı verilmesi konusunda tartışmaya yol açmaktadır.

Bu çalışmanın amacı 16 adet koloidal nodül içerisinde gelişen PTK un genetik alt yapısı (PAX8-PPAR GAMA, RET PTK gen rearanjmanı, , NRAS ve HRAS kodon 61 nokta mutasyonları) ile koloidal nodülün diğer alanlarının moleküler özelliklerinin karşılaştırılmasıdır.

ABSTRACT

Thyroid carcinomas comprise 1% of all human carcinomas in developed countries. Although malignant tumors of thyroid are less common than benign lesions, they are known as most frequently encountered malignant tumors of endocrine origin. Tumors of follicular cell origin are the most frequently seen and form 85% of thyroid carcinomas, whereas tumors of parafollicular C cell origin, namely medullary carcinoma represent approximately 3% of all thyroid carcinomas. The most common thyroid malignancy is papillary thyroid carcinoma (PTC). PTC has well defined characteristic morphological features. However, some diagnostic difficulties emerge in the thyroidectomy specimens due to insufficiency of the criteria especially regarding to carcinomas with follicular pattern. Therefore, in order to overcome this diagnostic pitfall, use of immunohistochemical (PAX-PPAR γ , CK19, HBME-1, Galektin-3, Ret, Cited-1, fibronectin, etc) and ever-expanding molecular techniques become routine. Nowadays, PAX8-PPAR GAMA RET/PTC gene rearrangements and point mutations in BRAF and RAS oncogenes are the most famous and studied somatic mutations. Studies have shown that 40-50% of PTCs bear one of these genetic changes.

PTC rarely develops in a benign colloidal nodule, resulting in diagnostic pitfall in the fine needle aspiration cytology specimens. In other words, aspirations generally hit the colloidal part of nodule and miss the malignant area; consequently nodules are diagnosed as benign in spite of suspicious findings on ultrasound. Furthermore, controversies arise in determination of the correct diameter of tumor (total size of nodule or size of PTC area in nodule) in thyroidectomy specimens.

In this study, we aimed to compare genetic background (PAX8-PPAR GAMA and RET PTK 1-3 GEN REARRANGEMENT , , NRAS and HRAS kodon 61 point mutations) in the PTC and colloidal areas within 16 PTC arising in colloidal nodule.

1.GENEL BİLGİLER

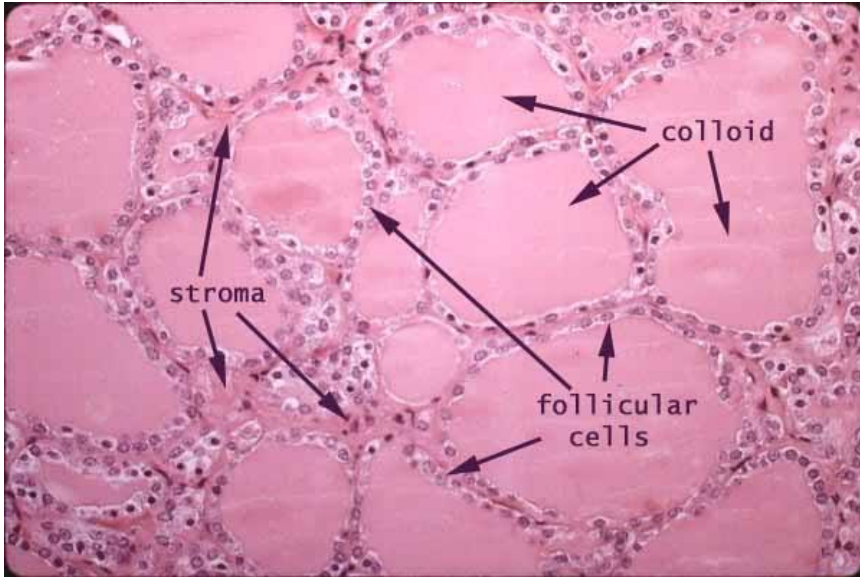
1.1.TARİHÇE

Tiroid; yunanca kalkan anlamına gelen “thyroes “ kelimesinden gelmektedir.İlk kez 1956 yılında Wharton tarafından kullanılmıştır.

1.2.EMBRYOLOJİSİ ve HİSTOLOJİSİ

Fertilizasyondan sonra ilk beliren organdır (24.hafta). Median ve lateral tiroid olmak üzere iki alandan gelişir. İlk oluştuğunda ilkel farinkste lokalizedir. 7. haftanın sonunda trakeanın önündeki yerine inip normal yerine ulaşır. Bu iniş sırasında bazı kişilerde duktus tiroglossusun distal parçasının atrofiye olmaması sonucu yüzde elli vakada “ piramidal lob ” oluşur ve piramidal lob; genellikle isthmusun solunda lokalizedir .

Histolojik olarak epitelyal hücrelerle döşeli içinde koloidal materyal bulunan follikül yapılarından oluşur. (Şekil 1.1) Tiroidin periferinde kapsülü ve onun dışında da vasküler yapıları ve sinirleri bulunur.



Şekil 1.1:Tiroidin histolojisi H&E X100

1.3. ANATOMİSİ

Tiroid bezi C5-T1 vertebralar seviyesinde,m.sternohyoideus ve m.sternothyroideus un derininde yer alır. Yaklaşık 20-25 gr. ağırlığında, kapsüllü endokrin bir organdır.

1.3.1. KOMŞULUKLARI

Tiroid bezi yüzeyden derine doğru, deri, m. platysmayıda içeren faysa süperfisyalis, derin boyun fasyasının yüzeyel tabakası ve bu tabakanın örttüğü m. Sternocleidomastoideus ,m. omohyoideus, sternothyroid ve sternohyoid kasları tarafından örtülüdür.Lobların posteriorunda karotis kılıfı ile v. Jugularis interna ve n. Vagus bulunur. Lobların mediallyerinde larynks, trakhea , pharynx ve özofagus bulunur. Özofagus ve trakea arasındaki boşlukta ise n.laringeus rekürrens bulunur . (Şekil 1.2)

1.3.2. ARTERLERİ

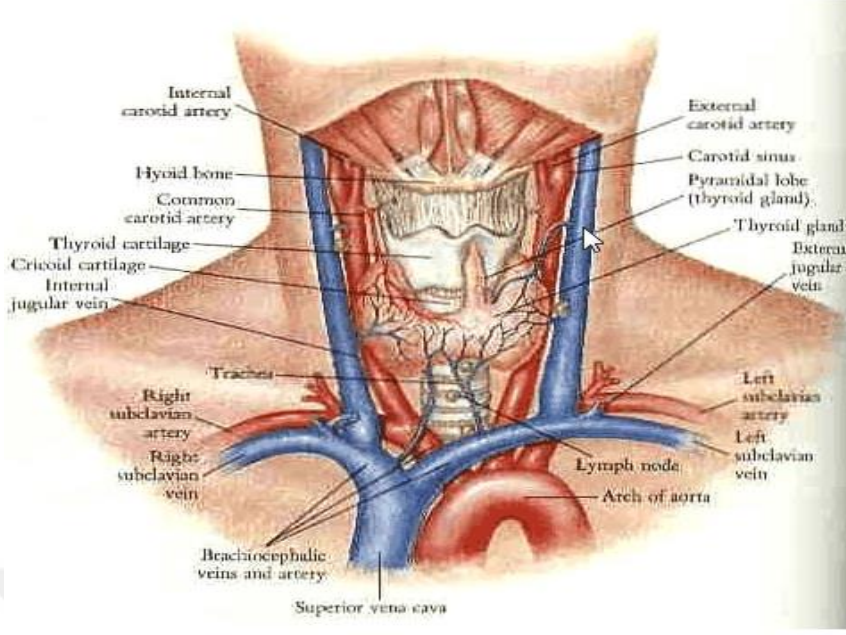
Ana arteri A. Karotis eksternanın dalı olan a. Tiroidea superiorudur. Diğer arteri A.subclaviadan trunkus tiroservikalisin dalı olan A. Tiroidea inferior' dur. % 10 olguda A.tiroidea ima bulunur.(Şekil 1.2)

1.3.3. VENLERİ

Ana venleri v. tiroidea superior ve v.tiroidea media v.jugularis internaya; v. tiroidea inferior ise v. brankiosefalikaya dökülür . (Şekil 1.2)

1.3.4. SİNİRLERİ

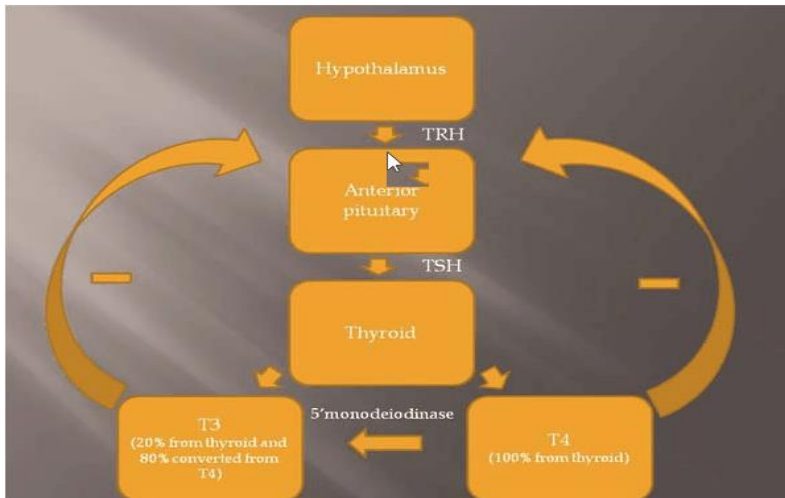
Tiroid bezinin sinirleri ganglion servikale superior , mediale ve inferiordan gelir. Bu sinirler arterlere eşlik eder ve periarterial pleksuslar ile tiroid bezine ulaşır. (Şekil 1.2)



Şekil 1.2:Tiroidin komşulukları ve anatomisi

1.4. FİZYOLOJİSİ

Hipotalamustan salgılanan Tiroid releasing hormon (TRH), hipofiz bezinin ön lobundan Tiroid stimulating Hormonun (TSH) salgılanmasını sağlar. TSH etkisiyle tiroid folikül epitellerinden T4 ve T3 salgılanır. T3 ün % 20 si, T4 ün ise tamamı tiroidden salgılanır. T4 ise periferde 5' monodeiodinaze ile T3 e dönüşür. Tiroid hormonlarının aktif hali T3 tür ve etkisini T3 üzerinden gösterir. (Şekil 1.3)



Şekil 1.3:Tiroid fizyolojisi

1.5. TİROİDİN NEOPLASTİK LEZYONLARI

1.5.1. GENEL BİLGİLER

Tiroid kanserleri tüm kanserlerin % 1 ini oluşturmasına rağmen endokrin sistemin en sık görülen malignensileridir (1). Tiroid tümörlerinin çoğu benignidir ve büyük çoğunluğunu Foliküler Adenom oluşturmaktadır. Tiroid kanserlerinin % 95 ten fazlası follikül epitelyum hücrelerinden köken almaktadır. Parafoliküler hücrelerinden köken alan Medüller Karsinom ise % 3 ünü oluşturmaktadır (3). Papiller tiroid karsinomu (PTK) tiroidin en sık görülen malignensisidir. 15 yaşından önce nadir görülmesine rağmen pediatrik dönemin en sık tiroid malignensisidir. Daha çok kadınlarda ve orta yaşlarda görülür. Papiller karsinom için ortalama tanı yaşı 40-50 iken Folliküler Karsinom ve Medüller Karsinom için bu 50 yaş civarındadır. Az diferansiye ve Anaplastik Karsinom ise ortalama 60 yaşında görülür (4).

1.5.2. TANISAL YÖNTEMLER

1.5.2.1. FİZİK MUAYNE

Tiroidin neoplastik nodülleri genellikle asemptomatiktir. Nodülün büyük olması durumunda bası bulguları ve buna bağlı şikayetler ortaya çıkabilir. Fizik muaynede nodülün el ile palpasyonu yardımcı bir yöntem olarak kullanılabilir. Ancak palpasyon genellikle 1 cm den büyük nodüllerde faydalıdır , daha küçük nodüllerin tespit edilmesinde yardımcı değildir. Genellikle daha ileri yöntemler kullanmak gerekir.

1.5.2.2. ULTRASONOGRAFİ (USG)

Tanısall amaçlı kullanılan primer görüntüleme yöntemi Ultrasonografidir .USG yüksek çözünürlük sağlar, ucuz ve kolay bir yöntemdir. Ultrasonografi ile nodülün boyutu, kistik-solid komponenti, kalsifikasyon paterni, nodülün ekojenitesi ve periferel vaskülaritesi değerlendirilir. USG de nodülün solid olması, periferel vaskülaritenin artmış olması, mikrokalsifikasyonların olması ve boyutunun 1 cm den büyük olması durumunda hastaya İnce iğne aspirasyonu (İİA) yapılması önerilir.

1.5.2.3. SİNTİGRAFI

Tanıda kullanılan bir diğer yöntem sintigrafidir. Nodüller verilen radyoaktif bir maddele değerlendirilir. Neoplastik nodüller genellikle soğuk nodüllerdir, ancak bazen

hiperplastik neoplastik nodüller sintigrafide sıcak nodül olarak saptanabilir.

1.5.2.4. MANYETİK REZONANS (MR)

Çok sık kullanılan bir yöntem değildir. Ancak rekürren tiroid kanserlerinde çevre anatomik yapıların değerlendirilmesinde kullanılabilir. Ayrıca Tiroid karsinomalarının çevre organlara invazyonunun değerlendirilmesinde kullanılabilir .(5)

1.5.2.5. İNCE İĞNE ASPİRASYONU

İİA palpasyonla ya da görüntüleme yöntemleri ile saptanan tiroid nodüllerinin tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Güvenilirliği ve yararlılığı ispatlanmış bu yöntemin ana görevi neoplastik nodülleri nonneoplastik nodüllerden ayırmaktır .(6)

İİA nun yaygın olarak kullanılması ile tiroidektomi sıklığında % 50 oranında azalma olmuştur ve tiroidektomi spesmenlerinde saptanan karsinom oranlarında 2-3 kat artış gözlenmiştir (6).Geniş serilerde ince iğne aspirasyon sitolojisinin (İİAS) güvenilirliği % 95 olup, pozitif prediktif değeri% 89-98, negatif prediktif değeri %94-99 arasında değişmektedir. Ancak yöntemin başarısı uygulayan ve değerlendiren kişiye göre değişmektedir (6,7). Yöntem oldukça güvenilirdir ve minimal invazivdir. En sık komplikasyonu hematomdur ancak bu hematomlar oldukça küçüktür ve genellikle absorbe olurlar (8).

1.5.3. TİROİD NEOPLAZİLERİNİN SINIFLAMASI

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasına göre ; Tiroid karisnomları , Tiroid adenomları ve ilişkili tümörler ve diğer tiroid tümörleri olmak üzere üç kategoride incelenmektedir.

Tablo 1.1.Tiroid Tümörleri Sınıflaması (DSÖ-2004)

TİROİD KARSİNOMLARI
Papiller Karsinom
Foliküler Karsinom
Az Diferansiye Karsinom
Anaplastik karsinom
Skvamöz Hücreli Karsinom
Mukoepidermoid Karsinom
Eozinofili ile giden sklerozan mukoepidermoid Karsinom
Müsinöz karsinom
Medüller karsinom
Mikst medüller-foliküller hücreli karsinom
Timus benzeri diferansiyasyon gösteren spindel hücreli tümör ve karsinom
TİROİD ADENOMU VE İLİŞKİLİ TÜMÖRLER
Foliküler adenom
Hyalinize trabeküler adenom

DİĞER TİROİD TÜMÖRLERİ
Teratom
Primer lenfoma ve plazmositom
Ektopik timoma
Anjiosarkom
Düz kas tümörleri
Periferik sinir kılıfı tümörleri
Paraganglioma
Soliter fibröz tümör
Foliküler dendritik hücreli tümör
Langerhans hücreli tümör
Sekonder tümörler

1.5.4. TİROİD KARSİNOMLARI

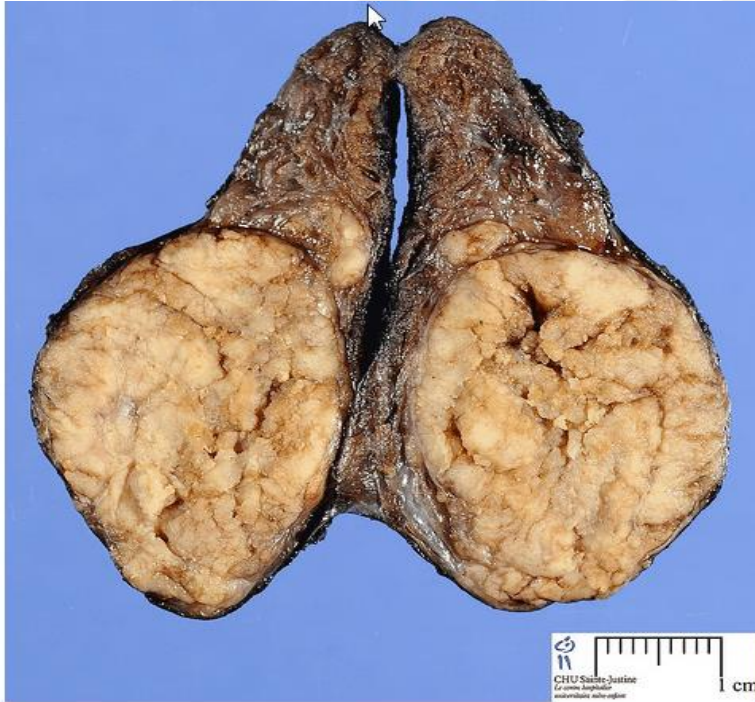
1.5.4.1. PAPİLLER TİROİD KARSİNOMU

1.5.4.1.1. EPİDEMİYOLOJİSİ

Tiroidin en sık görülen malignenssidir. Pediatrik dönemde de tiroide en sık görülen malignenssidir. Ortalama tanı yaşı 40-50 dir. Kadınlarda ve genç erişkinlerde daha sık görülür .(4)Ancak genç yaşta bu fark ortadan kalkar. Etiyolojide iyonize radyasyon, genetik yatkınlık ve tiroiditler sorumludur .(8)

1.5.4.1.2. MAKROSKOPİK ÖZELLİKLERİ

Makroskopisi çok değişkendir ancak genellikle gri-beyaz renkli düzensiz sınırlı kitle şeklindedir.(Şekil 4) Distrofik kalsifikasyon, bazen kemik oluşumu görülebilir. Bazen de kistik olabilir. Genellikle multisentriklerdir. Boyutları milimetreden birkaç santimetreye kadar değişkendir.

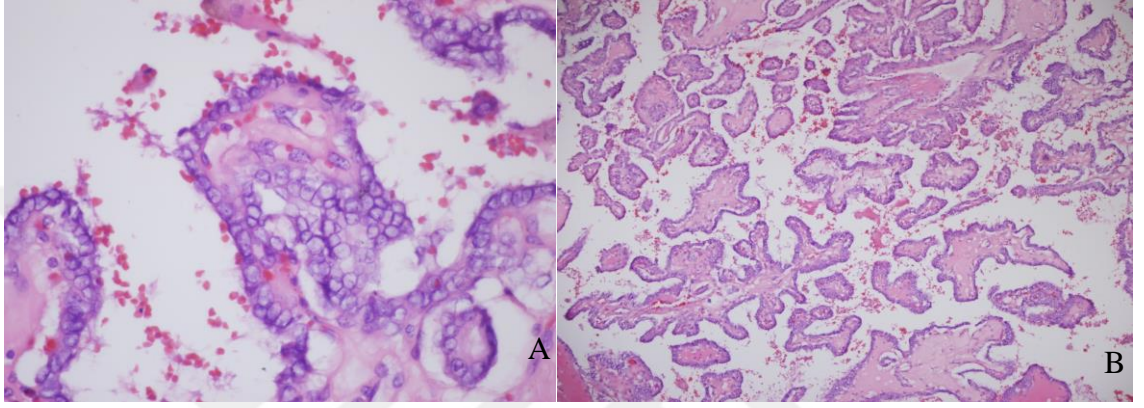


Şekil 1.4: Papiller karsinom makroskopisi

1.5.4.1.3. HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Sıklıkla parmaksı çıkıntılar yapan papiller gelişim şeklinde kendini gösterir.(Şekil1.5A)

Bazen de folliküler gelişim paternine sahiptir. Nadiren de olsa solid-trabeküler büyüme paternine sahiptirler. Hücresel özellikleri iyi tanımlanmıştır. Bunlar nükleer irileşme, elongasyon, nükleer şeffaflanma, nükleer kontur düzensizliği, çentik (Groove) ve psödoinklüzoyundur.(Şekil 1.5b). Psammom cisimciği, intratümöral skleroz ve peritümöral lenfositik infiltrasyon sıktır. Skuamöz metaplazi özellikle kistik tümörlerde sıktır. Pür papiller yapılardan oluşan papiller karsinom nadirdir.



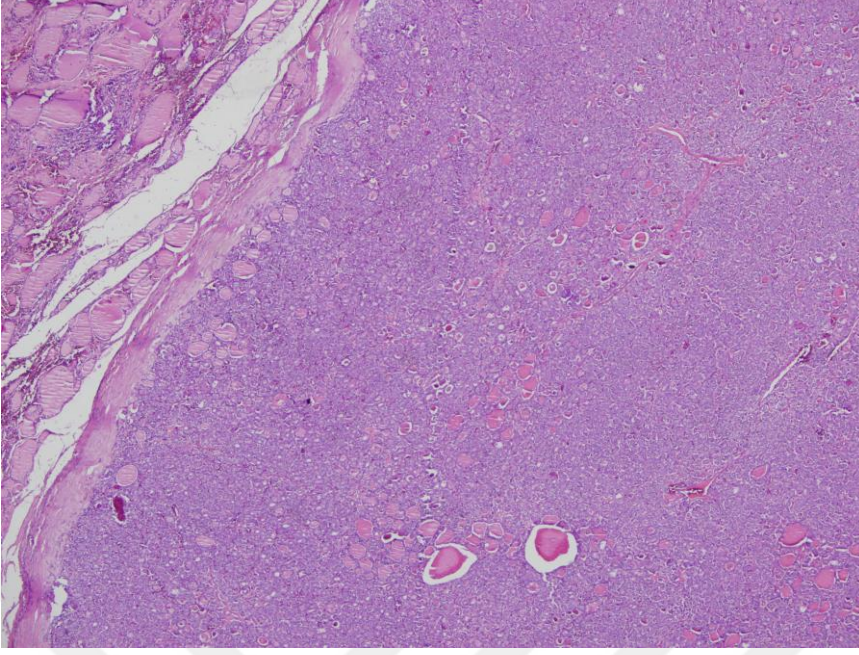
Şekil 1.5A: PTK da Üst üste binme H&E X200

Şekil 1.5B: PTK da papiller yapı H&E X40

1.5.4.1.4. HİSTOLOJİK VARYANTLAR

1.5.4.1.4.1. FOLLİKÜLER VARYANT

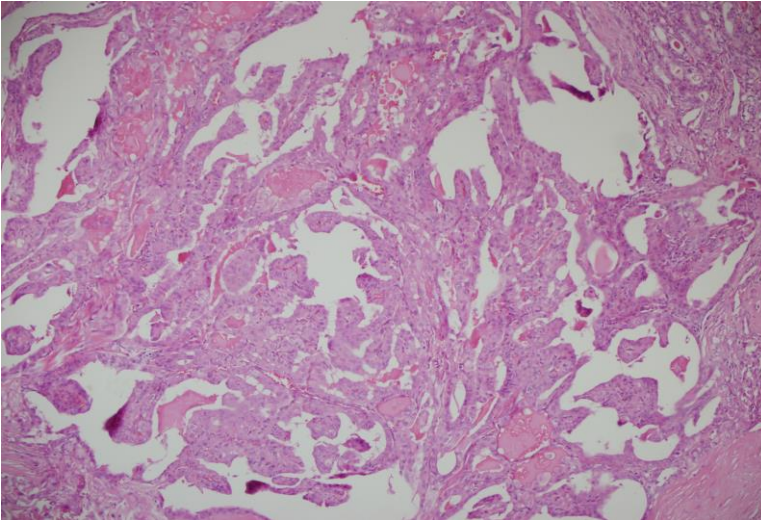
En sık izlenen alt tiptir. İlk kez Lindsay tarafından tariflenmiştir. Papiller karsinomun tipik nükleer özelliklerini gösteren , mikro-makrofollikül oluşturan follikül epitel hücrelerinden oluşur. Genellikle enkapsüle neoplazilerdir. (Şekil 1.6). Nükleer özellikleri tipik ise tanı kolaydır. Ancak Papiller karsinomun nükleer özellikleri fokal ise, damar ve/veya kapsül invazyonu yoksa “ Malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör “ terimi kullanılması öneriliyor .(10) Prognozu klasik papiller karsinom gibidir.



Şekil 1.6: Kapsüllü folliküler varyant papiller karsinom H&E X40

1.5.4.1.4.2. ONKOSİTİK VARYANT

Makroskopisi genellikle kahverenkli- krem renklidir. Papiller yapılar yada folliküler paterndedir. Tümör hücrelerinin stoplazmaları geniş ve eozinofilik görünümündedir. Nükleularda belirgin nükleol ve berraklaşma mevcuttur .(11,12,13,14,15) (Şekil 1.7) Daha agresif seyir gösterir ve çevre dokuya daha sık invazyon mevcuttur.



Şekil 1.7: Onkositik varyant papiller karsinom H&E X100

1.5.4.1.4.3. BERRAK HÜCRELİ VARYANT

Klasik papiller karsinom ya da Folliküler varyant papiller karsinoma eşlik eder. İntra veya ekstraselüler müsin içerebilir. Nadir grülen bir varyanttır.

1.5.4.1.4.4. DİFFÜZ SKLEROZAN VARYANT

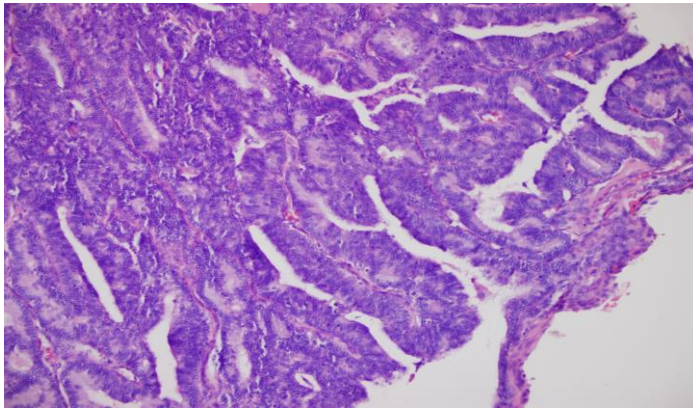
Genellikle genç yaşta görülür.(16) Her iki lobu tutan büyük krem renkli kitleler şeklinde ortaya çıkar. Dilate lenfovasküler yapılar içinde klasik papiller karsinom odakları görülür. Yaygın skuamöz metaplazi, yaygın psammom cisimciği, ağır lenfoplazmositer inflamasyon ve stromal fibrozis mevcuttur. Yaygın lenfatik ve hematojen metastaz görülür. Kötü prognoza sahiptir.

1.5.4.1.4.5. TALL CELL VARYANT

Daha ileri yaşlarda görülür. Erkeklerde daha sıktır. Hücrelerin boyu eninin en az üç katıdır. Papiller, trabeküler ve solid büyüme paterni gösterir. Çevreye daha sık infiltrasyon gösterir. Prognozu klasik varyanta göre daha kötüdür.(17)

1.5.4.1.4.6. KOLUMNAR HÜCRELİ VARYANT

Nadir görülür. Psödostratifye görünümde, hiperkromatik nükleuslu, supra ve subnükleer vakuoller gösteren hücrelerden oluşur. İntestinal bölgede görülen tubuler adenoma benzer.(Şekil 1.8) Lokal agresitirler ve daha kötü prognoza sahiptirler. (18)



Şekil 1.8: Kolumnar hücreli varyant papiller karsinom H&E X100

1.5.4.1.4.7. SOLİD VARYANT

Papiller karsinomun tipik nükleer özelliklerini gösteren , solid büyüme paternine sahip tümörlerdir. Çocuklarda ve radyasyona alanlarda daha sık görülür. Vasküler ve ekstratiroidal invazyon daha sıktır.

1.5.4.1.4.8. KRİBRİFORM VARYANT

Fokal papiller yapılar, solid ve kribriform alanlar, yaygın skuamöz moruller görülür. Tipik olarak FAB ve GARDNER sendromunda görülür. Multifokaldır ve kadınlarda daha sıktır.(19,20)

1.5.4.1.4.9. FASİİTİS BENZERİ STROMA İÇEREN PAPİLLER KARSİNOM

Tipik papiller karsinom alanları içinde fasiitis benzeri stroma görülür. Çok nadirdir. Prognozu hakkında yeterli veri yoktur.(21)

1.5.4.1.4.10. PAPİLLER MİKROKARSİNOM

1 cm veya daha küçük tümörlerdir.(22) En sık görülen papiller karsinom formudur. Tiroidektomi materyallerinde %25-40 oranında saptanır. Çocuklarda daha agresiv seyreder. Genellikle kapsül altında ,kapsülsüz ve skleroze görünümündedirler. Nadiren lenf nodu metastazı yaparlar.(23)

1.5.4.1.5. GRADELEME

Tümörlerin % 95 i iyi diferansiyedir ve gradeleme genellikle kullanılmaz. (24) Ancak bir neoplazide nekroz, mitoz, vasküler invazyon, belirgin pleomorfizm mevcutsa prognozu daha kötüdür. (25)

1.5.4.1.6. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

Çoğu tiroid neoplazilerinde tanı histopatolojik bulgular ile konulabilir. Ancak bazı durumlarda benign-malign ayrımı yapabilmek için ek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.İmmünohistokimyasal yöntemler bu amaçla kullanılan ucuz ve kolay bir yöntemdir. Ancak tek bir markerdan ziyade panel şeklinde kullanılmaktadır . Bunlardan PAX-PPAR gama, CK 19, HBME 1,GALEKTİN 3 en sık kullanılanlarıdır.

1.5.4.1.6.1. SİTOKERATİN 19 (CK 19)

Düşük molekül ağırlıklı intermedier flamen proteindir. Normal tiroid epitelinde sıklıkla negatiftir. PTK da yüksek oranda (%85) oranında, membranöz paternde eksprese edilir.(Şekil 1.9a) Ancak benign nodüllerde de % 26 oranında ve sıklıkla stoplazim olarak eksprese edilir (26). Duyarlılığı yüksek seçiciliği ise düşüktür. CK 19 un değerlendirilmesinde nodül içindeki dağılım önemlidir. Folliküler adenom ve karsinomda da fokal boyanma görülebilir (27,28).

1.5.4.1.6.2. HBME 1

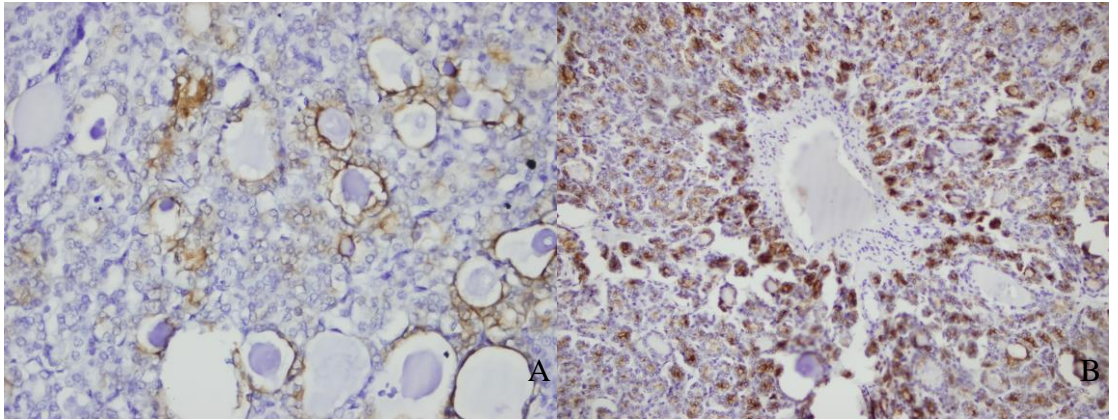
Mezotel hücrelerinde normalde eksprese edilir. Normal tiroid follikül epiteli negatiftir. Malign lezyonlarda yüksek oranda (%76) eksprese edilir, benign lezyonlarda ise %26 oranında eksprese edilir.(Şekil 1.9b) Adenomatöz nodüllerde %3-12, folliküler adenomda ise %0-27 oranında pozitif olabilir .(29)

1.5.4.1.6.3. GALEKTİN 3

Genellikle malign lezyonlarda eksprese olur (%92), benign lezyonlarda ise nadiren eksprese olur (%14) .(30)

1.5.4.1.6.4. RET

CK 19, HBME 1 ve Galaktin 3 ile birlikte kullanıldığında faydalı bulunmuştur. Papiller karsinom için tanısal olmakla birlikte diferansiasyon azaldıkça ekspresyonu azalmaktadır (27-28).



Şekil 1.9A: PTK CK 19 mem. boyanması X 100 Şekil 1.9B: PTK HBME 1 mem. , stop. Boy. X40

1.5.4.1.7. MOLEKÜLER BELİRTÇELER

Tiroid kansinomlarında bir diğer tanı yöntemi olarak da giderek artan sıklıkta moleküler teknikler kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki tiroid kansinomları monoklonal kökenlidir. (30) Tiroid kansinomları genellikle multiple olma eğilimindedirler ve bu odaklar farklı klonal orijinlere sahiptirler. (31) Ayrıca tiroid kansinomları normal DNA içeriğine sahiptir ve anöploidi %10 dan azdır.(32)

Papiller kanserlerde sıklıkla mitojen aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) yolağında yer alan proteinleri kodlayan genlerde mutasyonlar görülmektedir.(33) Büyüme faktörleri, sitokinler ve hormonlar tarafından uyarılan yolak hücre büyümesi, diferansiyasyonu ve yaşamasını düzenlemektedir. *BRAF*, *RAS* veya *RET*'de ortaya çıkan aktive edici mutasyonlar papiller kanserlerinin yaklaşık %70'inde bulunmaktadır. Mutasyonlar sonucu MAPK yolağı benzer şekilde aktive olsa da her mutasyonun farklı bir fenotip ve biyolojik davranışta papiller kanser geliştirme özelliği vardır. (34)

1.5.4.1.7.1. BRAF NOKTA MUTASYONU

BRAF genindeki mutasyon sık görülür ve PTK olgularının %45'inde tespit edilir. Mutasyonların büyük çoğunluğu nükleotid 1799'dadır ve rezüdü 600'de valinden-glutamata değişimle gerçekleşir (V600E).(34-35) *BRAF* V600E mutasyonları klasik tip ve "tall cell" tip PTK'lerinde daha siktir, folliküler tip tümörlerde ise nadiren görülür. *BRAF* mutasyonları tiroid dışı yayılım, tanı sırasında ileri evre, tümör rekürrensi , lenf nodu ve uzak metastaz yapma gibi tümörün agresif olma özellikleri ile ilişkilidir.(36) Erken evrelerdeki hastalarda bile *BRAF* mutasyon varlığı tümör rekürrensini bağımsız bir öngördürücüsü olabilmektedir. Ayrıca yine bu mutasyonlar tümörün radyoaktif iyotu yakalama kapasitesini azaltarak tedavide sorunlar yaşatabilmektedir. Tiroid tümörlerinde V600E *BRAF* mutasyonu PTK ve PTK'dan köken alan kötü diferansiye veya anaplastik kanserlere hastır. (37) Sitolojik ya da patolojik örneklerde bu mutasyonun varlığı PTK için tanı koydurucudur. *BRAF* mutasyonları progresif hastalığı olan PTK olgularının tedavisinde bir hedef olarak öne çıkmaktadır.

1.5.4.1.7.2. RET/PTK GEN REARANJMANI

RET/PTC yeniden düzenlenmesi PTK'da sık görülen başka bir genetik değişikliktir. En sık görülen iki tipi *RET/PTC1* ve *RET/PTC3*'dür. Çevresel ya da tedavi olarak iyonize radyasyona maruz kalmış bireylerde nadir başka tipleri de tanımlanmıştır. *RET/PTC* farklı çalışmalarda çok değişik oranlar bildirilse de erişkin PTK'ların yaklaşık %20'sinde bulunmaktadır. Radyasyona maruz kalan bireylerde (%50-80) ve çocukluk ya da genç erişkin dönemdeki hastalarda (%40-70) görülme sıklığı yüksektir. (38) *RET/PTC* düzenlenmeleri aspirasyon biopsisi materyallerinde de gösterilebilmekte ve tanıda yardımcı olabilmektedir. *RET/PTC* yeniden düzenlemeleri olan PTK'ler tipik olarak daha genç yaşta görülmekte, daha fazla lenf nodu metastazı oranına sahip olmakta, klasik histolojik özellikler görülmekte ve tanıda daha düşük evrede bulunmaktadır.(39) Çeşitli tirozin kinaz inhibitörleri ile aktive RET kinazın inhibisyonu tedavi amaçlı denenmektedir. İleri evre tiroid kanserli hastalarda bir multikinaz inhibitörü olan sunitimib kullanılmaktadır.

1.5.4.1.7.3. RAS NOKTA MUTASYONU

RAS genleri (*HRAS*, *KRAS* ve *NRAS*) hücre membran reseptörlerinden kalkan sinyallerin intraselüler iletilmesinde önemli rol oynayan ilişkili G-proteinlerini kodlarlar. İnaktive durumdayken *RAS* proteini GDP'ye bağlı haldedir. Aktive olduğunda GDP'yi salar ve GTP'ye bağlanır ve MAPK ve PI3K/AKT gibi diğer sinyal yollarını aktive eder. Normalde aktive *RAS*-GTP hızla inaktive edilir. *RAS* geninde ortaya çıkan nokta mutasyonlar ya GTP'ye afiniteyi artırırlar ya da otokatalitik GTPaz fonksiyonunu inaktive ederler. Bunun sonucunda protein sürekli aktive hale gelir ve sürekli uyarı gönderir. *RAS* genlerinde nokta mutasyonlar PTK'ların %10-20'sinde bulunmaktadır.. *RAS* mutasyonu bulunan PTK'lar hemen daima folliküler tiptedir . Bu mutasyon papiller kanserlerde görülen tipik çekirdek özelliklerin olmaması ile ilişkilidir,tümörler sıklıkla enkapsüledir ve daha az lenf nod metastazı gösterirler. Ancak bazı çalışmalarda *RAS* mutasyonları ile daha agresif tümör davranışı da bildirilmiştir. *RAS* gen mutasyonları diğer malign ve benign tiroid neoplazilerinde ve diğer dokulardan köken alan tümörlerde de görülebilmektedir.(40)

1.5.4.1.7.4. PAX8 /PPR gama GEN REARANJMANI

PAX8-PPAR GAMA gen rearanjmanı ; t (2;3) (q13 : p25) translokasyonu sonucu ortaya çıkmakta ve anjioinvasiv folliküler karsinomlarda gösterilmektedir. Folliküler karsinomlarda % 53-69, folliküler adenomlarda %8-27 oranında ekspresyon olur. Nodüler hiperplazilerde saptanmamıştır. (41,42,43) Yapılan bir çalışmada aspirasyon biyopsisine önemi belirlenemeyen folliküler hücre tanısı verilen olgularda çalışılmış ve tiroidektomisinde Folliküler varyant papiller karsinom olarak saptanan olgularda % 8 olarak saptanmıştır. Yine bu çalışmada Klasik varyant papiller karsinomlarda ise pozitiflik saptanmamıştır.(44).Bilinen malignansilerde PPAR GAMA up regülasyonu kötü prognoz işaretidir.(41)

1.5.4.2. FOLLİKÜLER KARSİNOM

Papiller karsinomun tipik nükleer özelliklerini göstermeyen, follikül epitelyum kökenli malign epitelyal tümördür.(44) Tiroid malignansilerin yaklaşık %10-15 ini oluşturur. Kadınlarda daha sık görülür ve 5. dekatta genellikle pik yapar.İyot eksikliği etyolojisinde suçlanmıştır. Çocuklarda nadir görülür.

Genellikle asemptomatik kitleler ile prezente olur. Tanı anında papiller karsinomdan daha büyük boyutlardadır. Sintigrafide soğuk nodül olarak görülür. Lenf nodu metastazı nadirdir.% 20 vakada uzak metastaz görülür. En sık metastaz yeri kemik ve akciğerlerdir.

Makroskopik olarak krem renklidirler. Ancak onkositik varyant daha kahverenkli görülebilir. Kalın bir kapsüle sahiptir.Folliküler karsinomun onkositik , şeffaf hücreli, müsinoz olmak üzere mikroskopik alt tipleri mevcuttur.(44)

Temel olarak invaziv paternine göre minimal invaziv ve geniş invaziv folliküler karsinom olmak üzere ikiye ayrılır.(44,45)

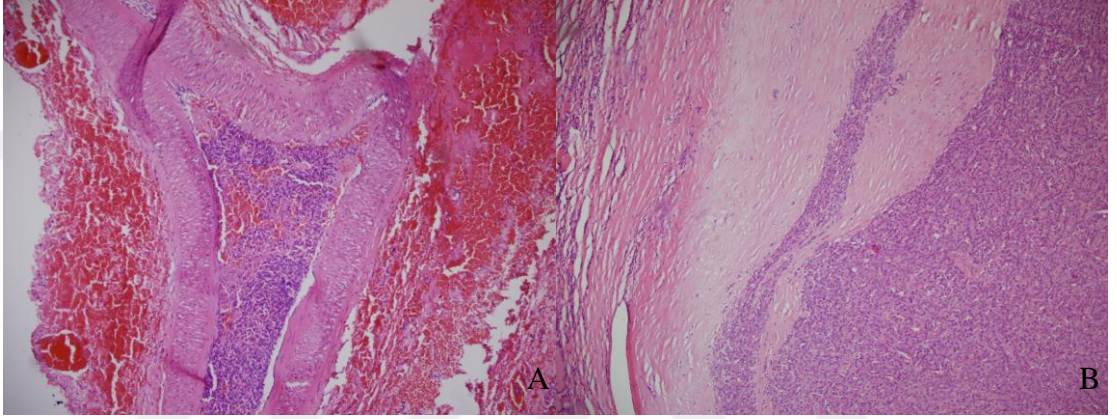
1.5.4.2.1. TERMİNOLOJİ

1.5.4.2.1.1 MİNİMAL İNVAZİV (ENKAPSÜLE) FOLLİKÜLER KARSİNOM

Makroskopik olarak adenoma benzer ancak daha kalın bir kapsüle sahiptir. Kapsülde kalsifikasyon sıktır . Dejeneratif değişiklikler genelde adenom lehinedir.

Kapsül ve/veya damar invazyonu tanı koydurucur. (Şekil 1.10a ve 1.10b) Mikrofolliküler, solid-trabeküler gelişim paterni gösterirler. Selülarite ve atipinin tanıda yeri yoktur ancak selülarite kapsül ve damar invazyonu için risk faktörüdür.

Eğer tümörde damar invazyonu yok, minimal kapsül invazyonu varsa “ Minimal invaziv folliküler karsinom ” tanımı kullanılır. Kapsül invazyonu ile birlikte damar invazyonu da varsa “ Anjioinvaziv folliküler karsinom ” terimi kullanılır.(46,47)



Şekil 1.10A: FK damar invazyonu H&E X100

Şekil 1.10B: FK kapsül invazyonu H&E X40

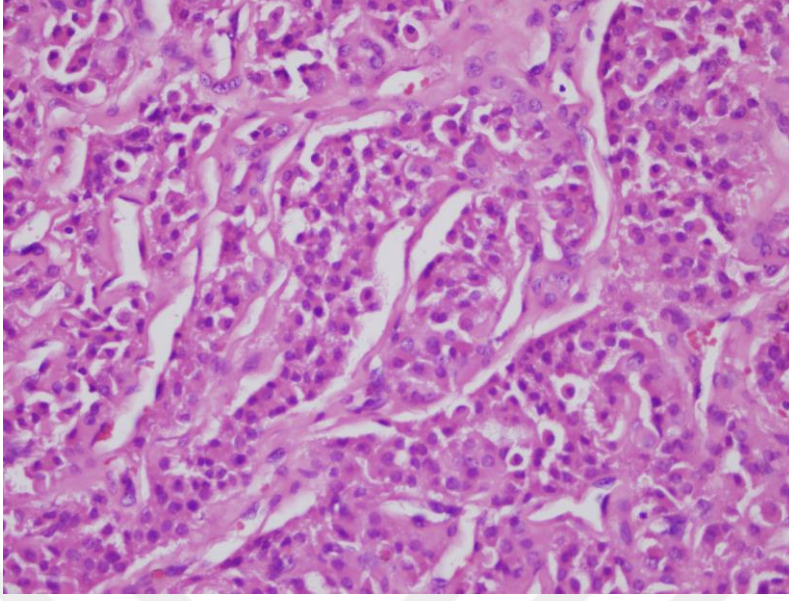
1.5.4.2.2. YAYGIN İNVAZİV FOLLİKÜLER KARSİNOM

Makroskopik olarak solid krem renkli adalar şeklinde gelişim gösterir. Damar invazyonu daha sıktır. Uzak metastaz riski “ Minimal invazive ” göre daha fazladır.

1.5.4.2.2. MİKROSKOBİK VARYANLARI

1.5.4.2.2.1. ONKOSİTİK VARYANT

Onkositik varyant demek için onkositik hücrelerin % 75 ten fazla olması gerekir. Tüm tiroid malignansilerinin %3-5 ini oluşturur. (48,49,50) Ortalama tanı yaşı 61 dir. Tipik folliküler karsinomdan daha sık lenf nodu metastazı yapar (%30). Makroskopik olarak kahverenkli nodül şeklindedir. İnce iğne aspirasyonu sonrası nekroz sık görülür. Tümör hücreleri geniş eozinofilik stoplazmalı, iri, yer yer hiperkromatik nükleuslu belirgin nükleollüdür. (51) (Şekil 1. 11) Prognozu klasik folliküler karsinoma göre daha kötüdür. Daha fazla lenfovasküler invazyon ve lokal invazyon yapar.



Şekil 1.11: Folliküler karsinom, onkositik varyant H&E X200

1.5.4.2.2. BERRAK HÜCRELİ VARYANT

Nadir görülen bir varyanttır. Tümör hücreleri lipid, müsin ya da glikojen içerebilir enelde diğer tiplere eşlik eder.

1.5.4.2.3. PROGNOZ

Minimal invaziv folliküler karsinomun uzun dönem mortalitesi %3-5 tir. Geniş invaziv folliküler karsinomda ise bu oran %50 dir. Onkositik varyant ise diğerlerine göre daha agresiv seyredir. Şüpheli kapsül ya da damar invazyonu olan vakalar klinik olarak benign davranır. (52)

1.5.4.3. MEDÜLLER KARSİNOM

Tiroidin parafolliküler C hücrelerinden köken alan malign tümördür. Tüm tiroid malignensilerinin %5-10 unu oluşturur. % 25 i RET protoonkogenindeki germline mutasyonlarla herediter (MEN 2A,2B, Familyal meduller karsinom) geçiş gösterir ve otozomal dominanttır. Sporadik vakalarda ortalama tanı yaşı 50 dir. Herediter olanlarda ise tanı infantil çağda ya da adolesan dönemde koyulur. Genellikle parafolliküler C hücrelerinin daha sık bulunduğu orta polde gelişir. Soğuk, soliter nodül şeklinde görülürler. % 30 vaka lenf nodu metastazı ile, % 15 ise uzak metastazla prezentasyon gösterir. Kan kalsitonin seviyesi yüksektir. Büyük tümörlerde yüksek kalsitonine bağlı

diyare, flushing görülebilir. 1 cm den küçük olanlarda MİKROKARSİNOM terimi kullanılır ve genellikle insidental veya artmış kalsitonin seviyesi ile saptanırlar.

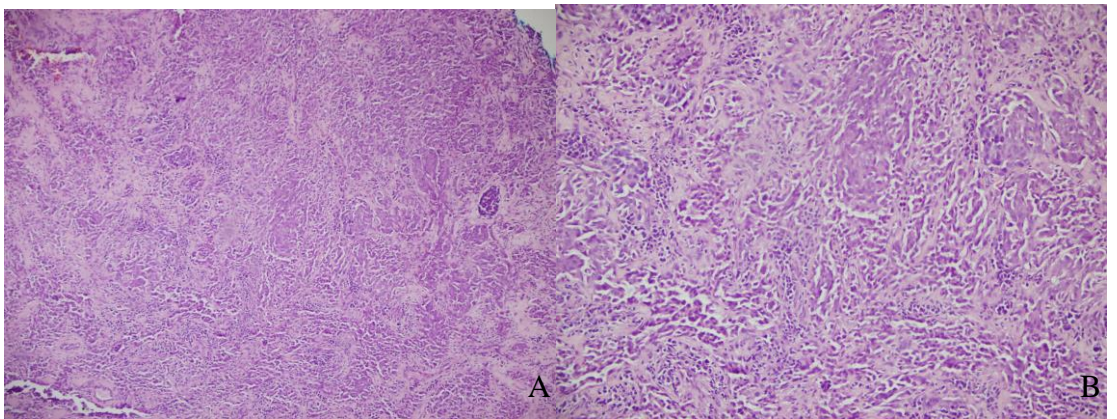
Makroskopik olarak beyaz gri renkte , düzgün sınırlı, kapsülsüz lezyonlardır. Sporadik vakalar soliter, ailesel olanlar multifokal olma eğilimindedirler.

Genellikle erken metastaz yaparlar ve en sık servikal lenf noduna metastaz yaparlar. Hematojen metastaz en sık beyin, karaciğer, akciğer ve kemiğedir. (53)

Mikroskopik olarak Tabakalar , adalar ve trabeküler yapılar şeklinde gelişim gösteren yuvarlak ve içsi hücreler ile arada değişen miktarda fibrovasküler stromadan oluşur. Nekroz ve hemoraji nadirdir. Stroma vasküler ve hyalinizedir, amiloid % 80 vakada mevcuttur.(Şekil 1.12 a, 12b. 13a ve b) (54,55,56,57,58)

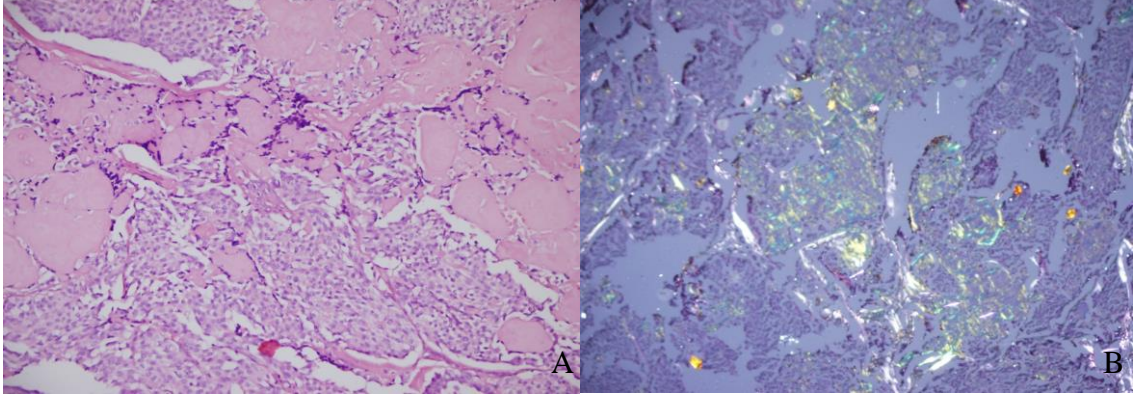
İmmünohistokimyasal olarak Kalsitonin, CEA, Synaptofizin, Kromogranin A, TTF 1, LMWCK, Somatostatin, Bombesin pozitiftir. (Şekil 1.14a, b,c) Ki 67 proliferasyon indeksi düşüktür.(59,60) S100 sustentakuler hücrelerde pozitiftir ve özellikle tümörün periferinde daha sıktır.

5 Yıllık yaşam ortalama % 85 tir. Lenf nodu metastazı ve lokal invazyon kötü prognoz işaretidir. Mikrokarsinomlarda ise prognoz daha iyidir. Postoperatif kalsitonin düzeyi mikrokarsinomlarda % 71 oranında normale dönerken, 1 Cm den büyük tümörlerde % 31 oranında normale döner. Nekroz ve skuamoz metaplazi kötü prognoz işaretidir.Kalsitonin ekspresyonunun azalması ve kalsitonun azlığında artmış CEA immünreaktivitesi kötü prognoz işaretidir.



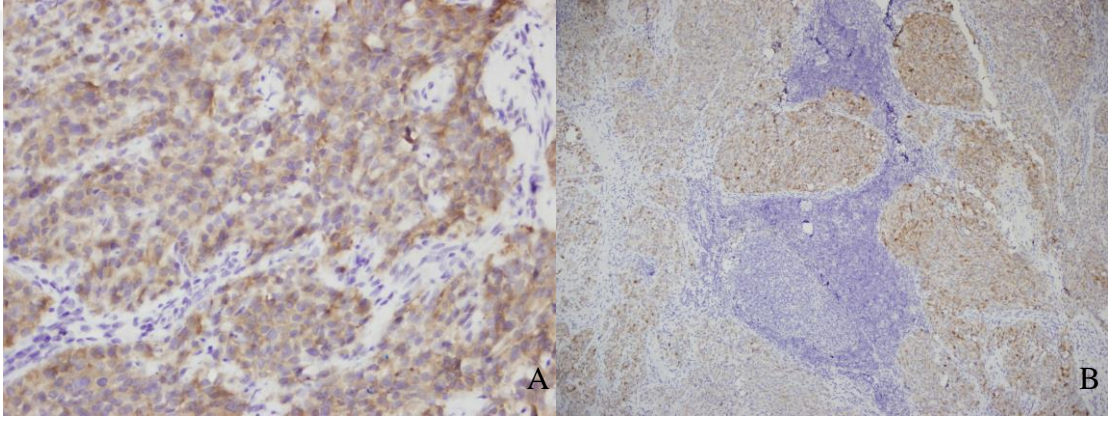
Şekil 1.12A: Medüller karsinom H&E X40

Resim 1.12 B: Medüller karsinom H&E X100



Şekil 1.13 B: M.K. amilodi birikimi H&E X40

Resim 1.13B: M.K. Kongo boyas. amiloid X40



Şekil 1.14A: M.K Synaptofizin pozitifliği X100

Şekil 1.14B: M.K kromogranin pozitifliği X40

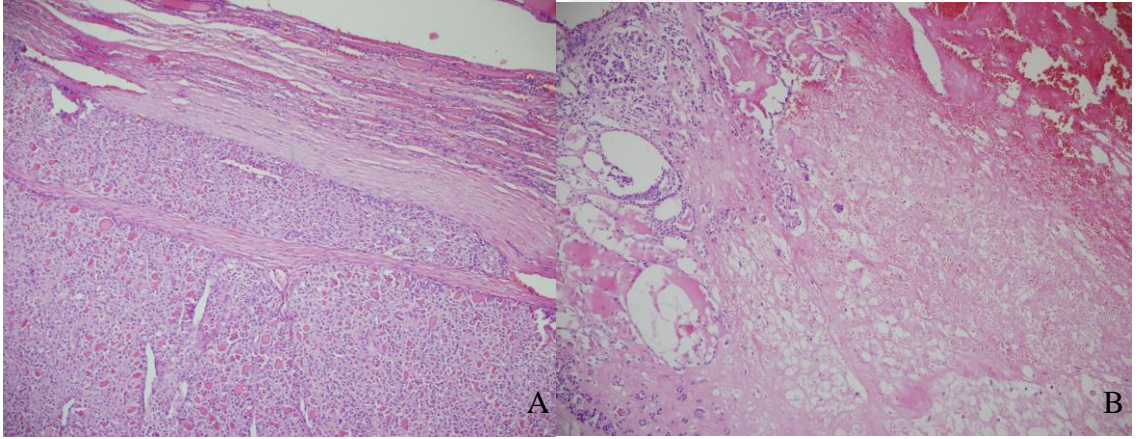
1.5.4.4. AZ DİFERANSİYE TİROİD KARSİNOMU

Genellikle 3 cm den büyük gri-beyaz renktedirler. (Şekil 1.15) Yaygın nekroz, damar invazyonu, kalın bir kapsül ve itici bir marjine sahiptirler. (Şekil 1.16 a, b) Baskın olarak soli, trabeküler ve insüler büyüme paternine sahiptirler. Fokal olarak papiller ve folliküler karsinom odakları mevcuttur. Mitoz sıktır. De novo olarak da gelişebilir, iyi diferansiye bir tümörün parçası da olabilir. 5 yıllık yaşam ortalama % 50 dir. (61,62,63,64,65) Ölüm genellikle akciğer metastazı nedeyledir.

Bu tümörlerde genellikle HRAS, NRAS ve KRAS mutasyonu mevcuttur.(66,67,68,69,70)



Şekil 1.15: Az diferansiye tiroid karsinomu makroskopisi



Şekil 1.16A: ADTK kap. İnv ve solid büyüme paterni H&E X40

Şekil 1.16B:ADTK nekroz H&E X40

1.5.4.5. UNDFERANSİYE (ANAPLASTİK) KARSİNOM

Yüksek derecede pleomorfik hücrelerden oluşan ve ancak immünohistokimyasal olarak follikül epitel hücrelerinden köken aldığı gösterilebilen malign tümörlerdir. Sarkomatoid karsinom, karsinosarkom, metaplastik karsinom, dediferansiye karsinom olarak da adlandırılır.

60 yaşından sonra görülür. İnsidansı 2-3/1000000 tir. Genellikle hızlı büyüyen kitle, yutma güçlüğü ve nefes darlığı ile hastalar başvurur.

Makroskopik olarak geniş nekroz olanları içeren, çevre dokuya invaze krem renkli büyük kitlelerdir. Tanı anında tamamı T 4 tür.

Mikroskopik olarak geniş invazyon gösteren, spindel, giant veya epiteloid hücrelerden oluşurlar.% 30-40 vakada skuamöz diferansiasyok görülür. Koagülasyon nekrozu, palizading nekroz sıktır. Mitoz görülür. Damar lümenleri genellikle tümör trombozları ile doludur. Osteoklast benzeri dev hücreler mevcuttur. Damardan zengin olursa anjiosarkom ile karışır.

İmmünohistokimyasal olarak sitokeratin genelde pozitifler özellikle AE1/AE3 kokteyli ile pozitivite artar (%80). EMA % 30, CEA % 15 pozitifdir. TTF 1 ve Tiroglobulin ise negatifdir. Moleküler olarak Cyclin D 1 Over ekspresyonu, P27 low ekspresyonu, PTEN, P16 inaktivasyonu ve en sık olarak da TP 53 mutasyonu görülür. 5 yıllık yaşam %0-14 civarındır.Ortalama yaşam süresi 2-6 aydır. (71,72)

1.5.4.6. EPİDERMOİD KARSİNOM

Tüm tiroid malignensilerinin % 1 ini oluşturur.(73-74) Epidermoid karsinom demek için tümörün pür epidermoid karsinomdan oluşması gerekmektedir. Bunun dışında skuamöz diferansiasyon diğer tümörlere eşlik edebilir. Yaygın ekstratiroidal ve vasküler invazyon gösterir.

Ayırıcı tanıda Undiferansiye karsinom, metastatik epidermoid karsinom düşünülmelidir. CK 19 kuvvetli ve yaygın, CK 7 fokal pozitifdir, CK 20 negatifdir. Prognozu Undiferansiye karsinoma benzer ve çok kötüdür.(75,76)

1.5.4.7. MUKOEPİDERMOİD KARSİNOM

Tiroid kanserlerinin %0.5 ini oluşturur. (77) Metaplazi gösteren follikül epitelyum hücrelerinden köken alır. Kesit yüzü kahverenkli-sarı renktedir, kapsülsüz iyi sınırlı kitleler oluştururlar. Boyutu 10 cm e kadar ulaşabilir.

Mikroskopik olarak skuamöz hücre adaları , fibröz stroma ile çevrili mukoid kistler ve yaygın ekstraselüler müsindne oluşur. Vakaların % 50 sinde klasik papiller karsinoma benzer alanlar vardır. (78,79) İmmünohistokimyasal olarak TTF 1, LMWCK, HMWCK ve CEA ile pozitif ,Kalsitonin ile ise negatif reaksiyon verirler.(78)

Prognozu nispeten iyidir. Uzak metastaz nadirdir, lenfovasküler invazyon yapabilir.

1.5.4.8. SKLEROZİNG MUKOEPİDERMOİD KARSİNOM (EOZİNOFİLİ İLE BERABER)

Nadir bir varyanttır. Skuamöz ve glandüler diferansiyon gösteren yoğun eozinofilik infiltrasyon ve fibrozis ile karakterizedir.

1.5.4.9. MÜSİNÖZ KARSİNOM

Yaygın ekstraselüler müsün gölcükleri içinde follikül epitelyum hücrelerinden köken alan epitelyal tümör adaları bulunur. Primer müsünöz karsinom çok nadirdir. Ayırıcı tanı da metastatik müsünöz karsinomlar bulunur.TTF 1 ve Tiroglobulin pozitifler. (80,81,82)

1.5.4.10. TİMUS BENZERİ DİFERANSİYASYON GÖSTEREN İÇSİ HÜCRELİ TÜMÖR (SETTLE)

Glandüler ve spindel hücrelerden oluşan , nadir görülen malign bir tümördür. Genelde çocukluk çağında görülür.

Kapsülsüz, gri beyaz renkte, genellikle 3 cm den küçük infiltratif kitleler şeklinde görülürler.

Mikroskopik olarak oldukça sellüler stroma içinde fibröz septalar ve lobüllere ayrılmış genelde bifazik karakterde tümörlerdir. (83) Glandüler hücreler Sitokeratin ile pozitifdir.TTF 1 ve Tiroglobülin negatiftir. Ayırıcı tanıda Synovial sarkom düşünülmelidir.

1.5.5. FOLLİKÜLER ADENOM VE İLİŞKİLİ TÜMÖRLER

1.5.5.1. FOLLİKÜLER ADENOM

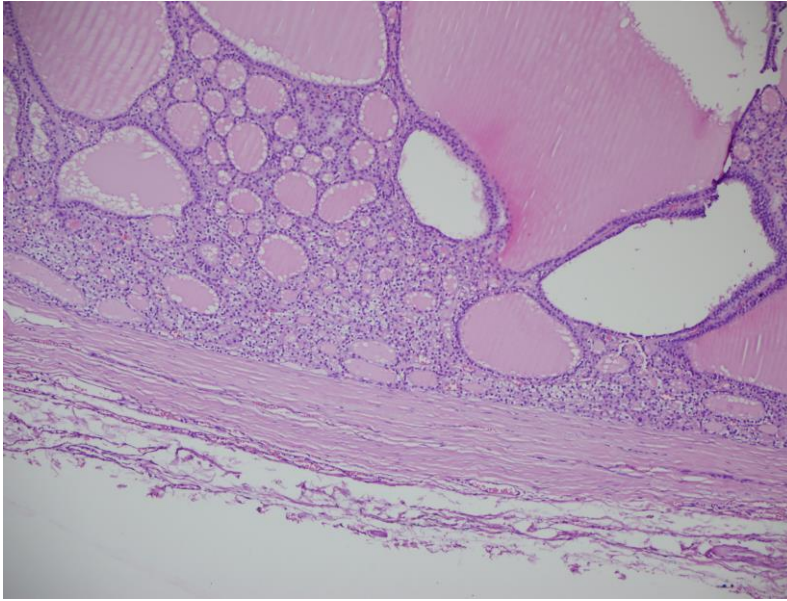
Tiroid follikül epitelyum hücrelerinden köken alan , kapsüllü benign neoplazilerdir. Gerçek insidansı bilinmiyor çünkü Nodüler hiperplaziden ayırmak çok zor. Kapsüllü, genellikle 1-3 cm arasında değişen boyuta sahip, gri beyaz renkte , hipofonksiyone nodüllerdir.

Mikroskopik olarak değişen kalınlıkta kapsüle sahip, çevre tiroide bası bulguları sergileyen, tümör içindeki follikül epitelyum hücreleri çevre tiroide farklı paterne sahiptirler. Damar ve kapsül invazyonu yoktur.(Şekil 1.17)

Mikrofolliküler veya trabeküler büyüme paternine sahiptir genellikle.hemoraji, kalsifikasyon, kist formasyonu,fibrozis, hyalinizasyon , kıkırdak metaplazisi gibi dejeneratif değişiklikler sıktır.

Ayrırcı tanıda Folliküler karsinom, Nodüler hiperplazi, İntratiroidal paratiroid adenomu, medüller karsinom düşünölmelidir.

Onkositik varyant, Papiller hiperplazi ile birlikte foliküler adenom, fetal adenom, taşlı yüzük hücreli adenom, müsinoz folliküler adenom, berrak hücreli folliküler adenom, toksik adenom, atipik adenom ve lipoadenom olmak üzere bir çok varyant tariflenmiştir.



Şekil 1.17: Mikro ve makrofolliküler büyüme paterni gösteren Folliküler adenom H&E X40

1.5.5.2. HYALİNİZE TRABEKÜLER ADENOM

Folikül epitel hücrelerinden köken alan belirgin trabeküler gelişim paterni ve yoğun stromal hyalinizasyon gösteren neoplazi olarak tariflenir. Genellikle soliter, 2.5 cm den küçük, krem renkli kapsüllü nodüler lezyonlardır.

Tümör hücreleri berrak stoplazmalı, küçük nükleollü, bol psödoinklizyon ve

groove içeren (İİAS da PTC ile karışır), PAS pozitif bazal membrana sahiptir. Psammom body görülebilir.(84,85,86,87)

İmmünohistokimyasal olarak TTF1, HMWCK, MİB 1, CK 19 , Galaktin 3 pozitifler. (88,89) Genellikle benign seyredeler ancak lenf nodu metastazı da rapor edilmiştir. (90,91)

1.5.6. DİĞER TİROİD TÜRÖRLERİ

1.5.6.1. TERATOM

Mezoderm, endoderm ya da ektodermden köken alan matür ya da immatür dokuları içeren neoplazmdır. Tüm tiroid karsinomlarının %0.1 ini oluşturur. Çocukluk çağında görülenlerin % 90 ı benign iken yetişkinde görülenlerin % 50 den fazlası malign karakterdedir. (92)

Boyunda kitle ile başvurur hastalar.Eşlik eden farklı konjenital anomaliler tariflenmiştir. Ortalama tümör çapı 6 cm dir. Makroskopik olarak kistik, hemorajik ve nekroz alanları görülür. Multifokalite sıktır. Mikroskopik olarak gradeleme diğer bölgede görülen teratomlar ile aynıdır. İmmünohistokimyasal olarak S100, GFAP, NSE ve MYO D1 pozitifler. (93-94) Prognoz yaş arttıkça kötüleşir.Çocuklarda ve genç erişkinlerde grade 1-2 teratomlar görülürken, ileri yaşta grade 3 teratomlar daha sıktır ve nüks ile uzak metastaz riski artar. (94,95)

1.5.6.2. PRİMER LENFOMA VE PLAZMOSİTOM

Tüm tiroid tümörlerinin % 5 ini oluşturur. (96) Ekstranodal lenfomaların ise %5.5-7 sini oluşturur. (97) Genellikle ileri yaşta görülür ve zeminde hemen her zaman kronik lenfositik tiroidit bulunur. (98) En sık ekstranodal marginal zone B hücreli lenfoma (ENMZBL) görülür.Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBHL) ise ikinci sıklıkta görülür. Daha nadir olarak da folliküler lenfoma (FL) görülür. (99) Plazmositoma ise nadir görülür ve MALT tip lenfomanın plazmadan zengin varyantı kabul edilir. CD 20, CD79 a, BCL2 tanıda yardımcıdır.

1.5.6.3. EKTOPIK TİMOMA

Çok nadir görülür. Tamamı non invazivdir. Lobüle sarı kahverenkli kitle şeklindedir. Mediastinal bölgede görülen ile aynı histomorfolojik özelliklere sahiptir. Tiroid içindeki timik artıklardan geliştiği kabul edilir. (100)

1.5.6.4. ANJİOSARKOMA

Genellikle uzun süren kistik nodüler guatr zemininde gelişir. (101)Büyük kanamalı, kistik ve invaziv kitleler oluşturular. Boyutu çok değişken olmakla birlikte 3-10 cm arasında değişir. Histopatolojik olarak diğer bölgelerde anjiosarkomlar ile aynı özelliktedirler. CD 34 ve CD 31 pozitifler.

1.5.6.5. DÜZ KAS TÜMÖRLERİ

Tiroidin primer düz kas tümörü çok nadirdir. Benign ya da malign olabilirler. Tiroidin periferindeki damarlardan köken aldıkları için genellikle periferal yerleşimlidirler.(102) Leiomyosarkom 12 cm e kadar ulaşabilirken leiomyomlar daha küçüktür. (103) Diğer bölgeden köken alan düz kas tümörleri ile aynı morfolojidedirler. Vimentin, SMA, Densin pozitifler. Tiroglobulin, CK, Kromogranin ve Synaptofizin negatifler.

Leiomyosarkomlar kötü prognoza sahiptirler leiomyomlar ise rezeksiyon ile kür kabul edilir.

1.5.6.6. PERİFERİK SİNİR KILIFI TÜMÖRLERİ (PSKT)

Schwann ya da perinöral hücrelerden köken alırlar. Benign ya da malign olabilirler. Her yaşta görülebilir. Genellikle tiroidin periferinde yerleşir. Histopatolojik özellikleri diğer bölgedeki tümörler ile aynıdır. S100, Vimentin pozitif, TTF 1, Tiroglobulin negatifler.

1.5.6.7. PARAGANGLİOMA

Paraganglionik hücrelerden köken alan intratiroidal nöroendokrin tümörlerdir. Nadir görülürler. Ortalama yaş 48 dir. Tipik olarak iyi sınırlı veya kapsüllüdürler. Ortalama çap 3 cm dir. Genellikle tiroid içinde sınırlıdır. Ancak nadiren çevre organlara uzanım gösterebilirler. Uzak metastaz yapmazlar. NSA, Synaptofizin ve

Kromogranin pozitif, TTF 1, Kalsitonin ,Vimentin negatiftirler.

1.5.6.8. SOLİTER FİBRÖZ TÜMÖR

Nadirdir. Tiroidde yavaş büyüyen kitle olarak kendini gösterir. Benign davranışlıdır ve nüks ya da metastaz görülmez.

1.5.6.9. FOLLİKÜLER DENDRİTİK HÜCRELİ TÜMÖR

Nadirdir. EBV ile ilişkisi tartışılmış. İyi sınırlı kitleler şeklindedir. Özellikle büyük tümörlerde nekroz olabilir. Değişen miktarlarda spindel ve epitheloid hücrelerden oluşur. Dev hücreler içerebilir. CD 2, CD3, CD 23 pozitif, EMA, Vimentin negatiftir. Çok nadir olduğundan prognozu hakkında kesin bir yorum yapılamıyor. (104)

1.5.6.10. TİROİDİN SEKONDER TÜMÖRLERİ

Tiroidin oldukça vasküler bir organdır. Bu yüzden çok fazla metastaz alması beklenir. (105,106) Yaygın malignensisi olan hastaların otopsilerinde tiroide metastaz % 25 civarındadır. Ancak semptomatik metastaz çok daha nadirdir. Adenom, nodüler guatr ve tiroditli hastaların tiroidleri normal tiroidlere göre daha fazla metastaz alır.

Metastazlar otopsilerde genellikle multifokal iken semptomatik olanlar soliterdir. En sık böbrek % 33, akciğer % 16, uterus %7 ve melanom % 5 oranında metastaz yapar.(105) Direk invazyon ise en sık epidermoid karsinom yapar ve bu durumda primer epidermoid karsinomdan ayırmak zor olabilir. Renal hücreli karsinom metastazını berrak hücreli adenomdan ayırmak zor olabilir. Renal hücreli karsinom ileri derecede vaskülerdir ve CD 10 pozitif, TTF 1 negatiftir. Soliter metastazlarda prognoz kötüdür.

2.MATERYAL VE METOD

2.1. OLGU SEÇİMİ

Bu çalışmaya S.B Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümünde ve Hacettepe Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalında 2004-2010 yılları arasında tanı almış 16 adet koloidal nodule içinde gelişen Papiller Karsinom olgusu dahil edilmiştir. Her olgunun histopatolojik tanıları Dünya Sağlık Örgütü'nün kriterlerine göre yeniden değerlendirilmiştir.

Histopatolojik bulgular; ihtiyaç duyulduğunda immünohistokimyasal bulgular (HBME 1, CK 19, GALAKTİN 3) ile kombine edilmiş ve tanı bu bulgulardan faydalanılarak verilmiştir.

Çalışmaya intratiroidal metastazı ekarte etmek için multifokal Papiller Karsinomlar dahil edilmemiştir. Çalışmaya hem tümöral alanlardan hem de koloidal alanlardan yeterli miktarda hücre elde edilebilecek kadar büyüklükteki nodüller dahil edildi. Bu amaçla tümöral ve nontümöral alanların çapı 3 mm den daha büyük olan olgular dahil edildi. Diğer olgular çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların dosyalarından yaş, cinsiyet ve eski tiroid iğne aspirasyonu sonuçları dökümente edildi.

2.2.DNA EKSTRAKSİYONU

Parafin bloklardan RNase free membranlı slidelere 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler 2 saat etüvde 37 derecede bekletildi. Daha sonra lazer mikrodiseksiyon mikroskopu ile (Olympus) hem tümöral alanlardan hem de koloidal alanlardan adhesivli kapağa sahip 500 mikrolitrelik tüplere ayrı ayrı hücreler toplandı. Yeterli DNA elde edilemeyen vakalardan multiple diseksiyonlar yapıldı. . Bu tüplerin içine Lizis buffer eklendi, 55 derecede su banyosunda 1 gece inkübe edildi. Daha sonra fenol-kloroform yöntemi ile DNA purifikasyonu sağlandı. Elde edilen solüsyona absölü etanol katılarak DNA'nın presipitasyonu sağlandı. +4 derecede santrifüj edilip pellet % 70 lik alkolle yıkandı. Elde edilen DNA'nın agaroz jelde degrade olup olmadığı kontrol edildi. Spektrofotometre altında 260 nm de DNA miktarları ölçüldü.

DNA'nın kalitesini değerlendirmek için Gapdh ile PCR kurulup değerlendirildi. Bunun için ;5 mikrolitre 10X PCR buffer, 2 mikrolitre dNTP, 3

mikrolitre MgCl₂, 1 er mikrolitre reverse ve forward primer , 0.3 mikrolitre Tag DNA polimeraz, 2mikrolitre template DNA ve 37.5 mikrolitre PCR Grade Water kullanilar toplamda 50 mikrolitre olacak şekilde hazırlandı. Her bir vaka için PCR lar toplamda 35 cycle olmak üzere denatürasyon için 94 °C de 30 sn, aniling için 56 °C de 30 sn. ve elongasyon için 72 °C de 35 sn. kuruldu.

Elde edilen DNA lardan belirlenen spesifik primerlar ile direk sekanslama kullanılarak NRAS ve HRAS kodon 61 nokta mutasyonu varlığı araştırıldı.(Tablo 2.1)

2.2.1.HRAS ve NRAS KODON 61 NOKTA MUTASYONU

2.2.1.1. PCR

Daha önce belirlediğimiz spesifik primerlar ile HRAS ve NRAS kodon 61 nokta mutasyonu araştırdık. Bunun için 5 mikrolitre 10X PCR buffer, 2 mikrolitre dNTP, MgCl₂ (NRAS için 2 milimolar, HRAS için 3 milimolar), 1 er mikrolitre spesifik revers ve forward primerlar , 0.3 mikrolitre Tag DNA polimeraz, 5 mikrolitre template DNA ve 32.7 mikrolitre PCR Grade Water kullanilar toplamda 50 mikrolitre olacak şekilde hazırlandı.

HRAS lar için PCR lar toplamda 40 cycle olmak üzere denatürasyon için 94 °C de 45 sn, aniling için 52.5 °C de 45 sn. ve elongasyon için 72 °C de 60 sn. olarak kuruldu.

NRAS için ise PCR lar toplamda 40 cycle olmak üzere denatürasyon için 94 °C de 45 sn, aniling için 50 °C de 45 sn. ve elongasyon için 72 °C de 60 sn. olarak kuruldu.

Elde edilen PCR ürünlerinde direk sekanslama ile nokta mutasyonu araştırıldı.

2.2.1.2. DİREK SEKANSLAMA

2.2.1.2.1. Amplifikasyon ürünlerinin temizlenmesi

H-Ras ve N-Ras amplifikasyon ürünleri *Wizard SV Gel and PCR Clean-up System* kiti kullanılarak serbest nükleotidlerden ve kullanılmayan primerlerden arındırıldı. Örnekler % 2'lik agaroz jelde kontrol edilip (Şekil xx) Nanodrop spektrofotometre ile konsantrasyonları ölçüldü ve kullanılmaya kadar -20°C'de saklandı.

2.2.1.2.2.DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi reaksiyonu için, Applied Biosystem *Big Dye Terminator v3.1* kiti kullanıldı. DNA dizi analizinden sonra, örneklerin üzerine 5 µl (5M NaAC) ve 50 µl %99 etanol eklenip buzda 30 dk inkübe edildildi. Örnekler, 14.000 rpm'de 30 dk santrifüj edilip süpernatant atıldı ve pellet % 70 soğuk etanol ile tekrar yıkanarak florofor işaretli serbest nükleotidlerden ve kullanılmayan primer dizilerinden temizlendi. Örnekler kurduktan sonra 20 µl deiyonize formamid ile sulandırılıp, ABI 3130 DNA Dizi analizörüne yüklendi.

Dizi analizi yapılan örneklere ait veriler "Chromas" programında analiz edilerek örneklerdeki mutasyonlar saptandı.

2.3.RNA EKSTRAKSİYONU

RNA ekstraksiyonu tam yüzey kesitlerden mikroskop altında el ile yapıldı. Bu yöntemle 16 olgudan 11 uygun olduğu için RNA ekstraksiyonu bu 11 olguda yapıldı. Bu amaçla kullanılacak olan malzemeler önce sterilize edildi. Daha sonra sterilize edilen lamlara RNase free solüsyon kullanılarak mikrotom ile 4 mikronluk kesitler alındı. Bu kesitler 24 saat etüvde bekletildi. Daha sonra önceden belirlenen koloidal ve tümöral alanlardan bistüri yardımı ile ayrı ayrı tüplere hücreler toplandı. Tüm bu işlemler RNazlardan korunmak için steril ortamda yapıldı. Elde edilen hücrelerden RNeasy FFPE mini kiti (QIAGEN) kullanılarak RNA ekstraksiyonu yapıldı.

Elde edilen RNA ların kalitesi B-Aktin kullanılarak yapılan RT-PCR ile test edildi. Bunun için; 5 mikrolitre Qiagen 5x buffer, 1 mikrolitre dNTP, 1 mikrolitre enzim mix, 1 er mikrolitre forward ve revers primerlar, 3 mikrolitre RNA, 13 mikrolitre RNase free su kullanılarak toplamda 25 mikrolitre olacak şekilde ayarlandı. Her bir vaka için RT-PCR lar toplamda 40 cycle olmak üzere denatürasyon için 94 °C de 40 sn, aniling için 56 °C de 60 sn. ve elongasyon için 72 °C de 60 sn. kuruldu ve RET-PTK 1-3 ve PAX 8-PPR gama gen rearanjmanı varlığı araştırıldı. (Tablo 2.1).

2.3.1. RET/PTK 1-3 ve PAX 8- PPR GAMA GEN REARANJMANI

RET/PTK ve PAX8-PPR gama gen rearanjmanı ; Qiagen one step RTPCR kiti kullanılarak araştırıldı.

RET/PTK için, her bir vaka için iki reaksiyon olmak üzere; 5 mikrolitre Qiagen 5x buffer,1 mikrolitre dNTP ,1 mikrolitre enzim mix, 1 er mikrolitre spesifik primerlar (RET/PTK 1 ve 3) , 3 mikrolitre RNA, 13 mikrolitre RNase free su kullanılarak toplamda 25 mikrolitre olacak şekilde ayarlandı.

PAX8-PPR gama için ise her bir vaka için üç revers bir forward olmak üzere toplam üç reaksiyonda ; 5 mikrolitre Qiagen 5x buffer,1 mikrolitre dNTP ,1 mikrolitre enzim mix, 1 er mikrolitre spesifik primerlar , 3 mikrolitre RNA, 13 mikrolitre RNase free su kullanılarak toplamda 25 mikrolitre olacak şekilde ayarlandı.

PAX8-PPR gama ve RET/PTK 1-3 için RT-PCR lar toplamda 40 cycle olmak üzere denatürasyon için 94 °C de 40 sn, aniling için 56 °C de 60 sn. ve elongasyon için 72 °C de 60 sn. kuruldu.

	PRİMER DİZİNİ
PAX8-PPARγ F7	5-AAC CTC TCG ACT CAC CAG AC – 3'
PAX8-PPARγ F8	5' – CCC TTC AAT GCC TTT CCC C – 3'
PAX8-PPARγ F9	5' – CTA TGC CTC CTC TGC CAT C – 3'
PAX8-PPARγR1	5' – AGA ATG GCA TCT CTG TGT CAA C -3'
PTC1	5' – GCT GGA GAC CTA CAA ACT GA – 3'
RET1	5' – GTT GCC TTG ACC ACT TTT C – 3'
PTC3	5' – TTG ATG GCT CAT GCT AGT TCA – 3'
RET3	5' – GCC TTC TCC TAG AGT TTT TCC – 3'
HRAS F	5' – CTG TCT CCT GCT TCC TCT AG – 3'
HRAS R	5' – AAG ACT TGG TGT TGT TGA TG – 3'
NRAS F	5' – GGC TTG AAT AGT TAG ATG CTT AT – 3'
NRAS R	5' – ATG CTC CTA GTA CCT GTA GA – 3'

Tablo:2.1. Spesifik primer dizinleri

3:BULGULAR

3.1. GENEL BULGULAR

Çalışmaya toplam 16 vaka dahil edildi. Bunların 11 i kadın, 5 i ise erkekti (K/E 2.25 / 1). Hastaların yaşları 27 ila 75 arasında değişmekte idi (ort. 50). (Tablo 3.2)

Çalışmaya dahil edilen hastaların tiroidektomi öncesi yapılan Tiroid ince iğne aspirasyonları sonuçlarında 12 si Bening (Bethesda klasifikasyonu 1) (% 75) , 1 tanesi nondiagnostik (Bethesda klasifikasyonu 6) (% 6.25) , 2 tanesi folliküler neoplazi şüphesi (Bethesda klasifikasyonu 3) (%12.5) ve 1 tanesinde Papiller karsinom şüphesi (Bethesda klasifikasyonu 5) (%6.25) olarak raporlanmıştı (Tablo 3.1).

Papiller Karsinomun içinde geliştiği nodüllerin çapları 5.2 cm ile 0.7 cm arasında değişmekte idi (ort 2.9 cm). Nodül içinde gelişen Papiller karsinomların 6 tanesi multifokal (% 37.5) , 6 tanesi Papiller mikrokarsinom (% 37.5), 4 tanesi ise Papiller Karsinom Folliküler Varyant (% 25) idi. Tümörlerin tamamı folliküler paternde idi (Tablo 3.1. ve Tablo 3.2) .

Çalışmaya dahil edilen 16 vakanın 7 sinde mutasyon saptandı (%43.75). Bu yedi vakanın 2 sinde hem tümöral alanda hem de koloidal alanda mutasyon saptanırken 5 vakada ise yalnızca tümöral alanda mutasyon saptandı. (Tablo 3.3 ve 3.4 ve 3.6)

	Papiller mikrokarsinom	Papiller karsinom FV	Multifokal
Olgu Sayısı(n=16)	6 (% 37.5)	4 (%25)	6 (37.5)

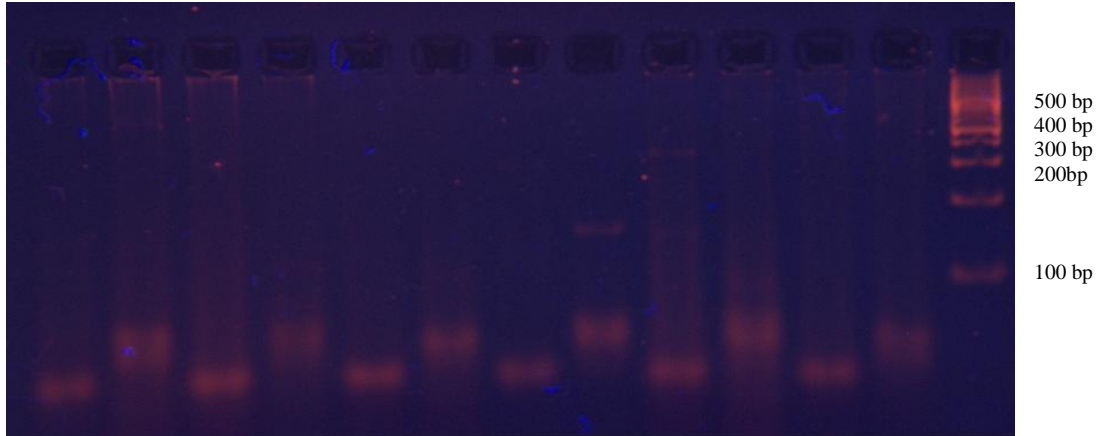
Tablo3..1: Tümörün tiplere göre dağılımı

Olgu Num.	Cinsiyet	Yaş	Tümör Çapı	Nodül Çapı	Asp. Sonucu
1	K	40	Multifokal	2.2 cm	Benign (BK-1)
2	E	36	0.8 cm	3 cm	Benign (BK-1)
3	K	73	1.5 cm	6 cm	Benign (BK-1)
4	K	45	Multifokal	2.5 cm	Benign (BK-1)
5	K	27	1.5 cm	6 cm	Benign (BK-1)
6	K	50	Multifokal	3.5 cm	Folli.Neo. Şüp. (BK-3)
7	E	56	0.3 cm	0.7 cm	Benign (BK-1)
8	K	50	0.5 cm	1.7 cm	Papi.Kar. Şüp. (BK-4)
9	E	50	1.5 cm	2.5 cm	Folli.Neo. Şüp. (BK-3)
10	K	46	0.3 cm	1 cm	Benign (BK-1)
11	K	61	Multifokal	2 cm	Benign (BK-1)
12	K	50	0.4 cm	1.5 cm	Benign (BK-1)
13	K	44	Multifokal	5.5 cm	Benign (BK-1)
14	E	48	1 cm	2 cm	Nondiag. (BK-6)
15	K	50	Multifokal	2 cm	Benign (BK-1)
16	E	75	1.1 cm	2.5 cm	Benign (BK-1)

Şekil 3.2. Hasta yaş, cinsiyet, tümör çapı, nodül çapı ve aspirasyon sonuçları

3.2 .RET/ PTK GEN REARANJMANI

RET/PTK 1-3 gen rearanjmanı çalışmaya dahil edilen 16 olgunun 11 inde çalışıldı (1-7,9,13-16 no lu olgular). 11 vakanın hiç birinde gen rearanjmanı saptanmadı (% 0). (Tablo 3.4 ve3.6).

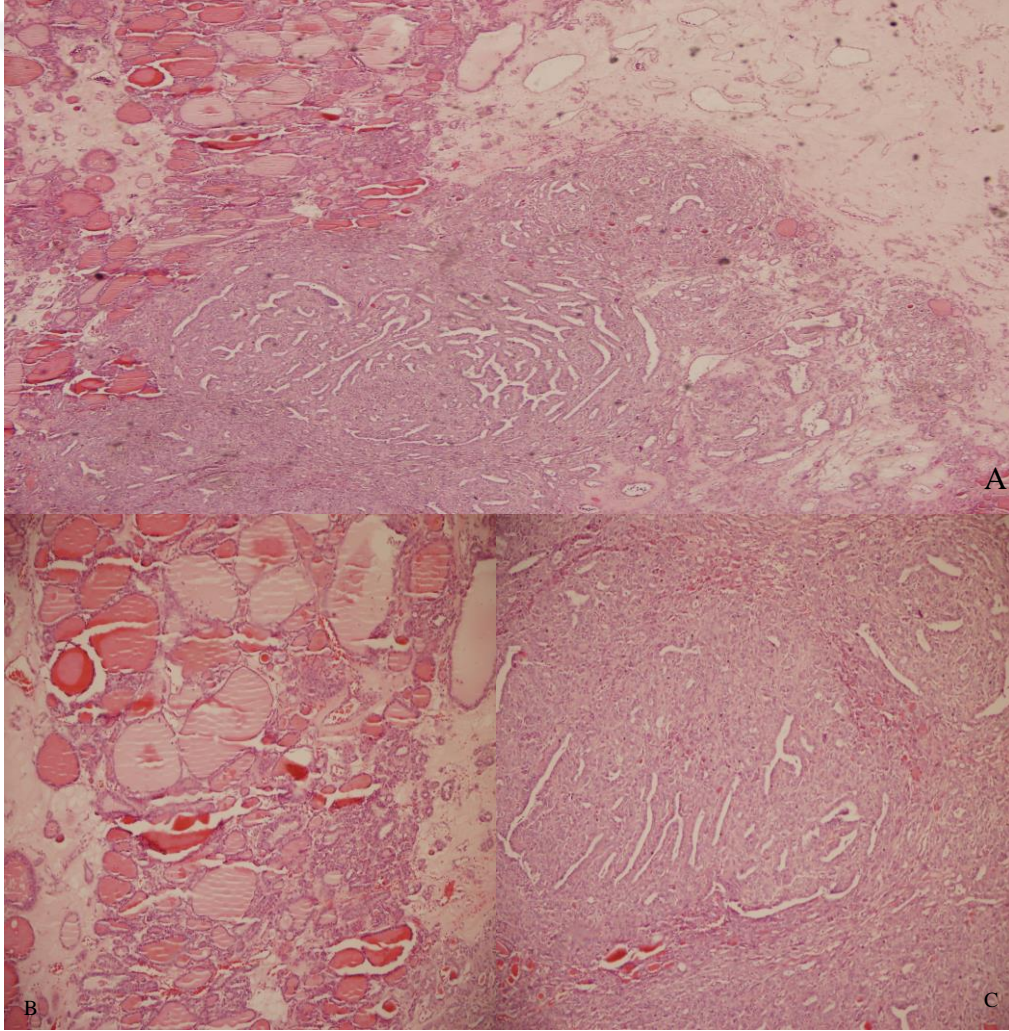


Şekil 3.2.1. İlk altı vakada RET/PTK1- 3 negatifliği

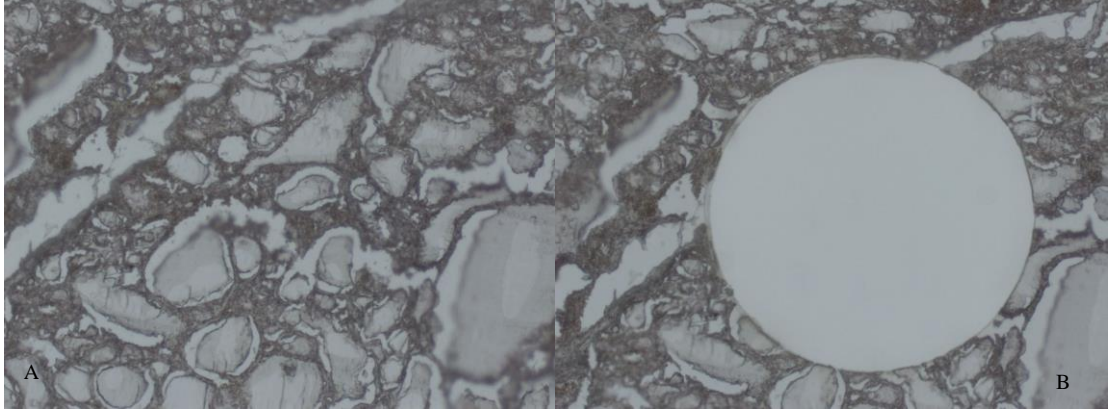
3.3.PAX8-PPR GAMA GEN REARANJMANI

PAX8-PPR gama 11 olguda çalışıldı.(1-7,9.13-16 no lu olgular) .Bunlardan birinde (2 numaralı) hem tümöral alanda hem de koloidal alanda pozitif olarak saptandı (% 9).(Şekil 3.2.2).Diğer on olguda ise hem tümöral alanda hem de koloidal alanda herhangi bir pozitiflik saptanmadı (Tablo 3.2 ve3.4).

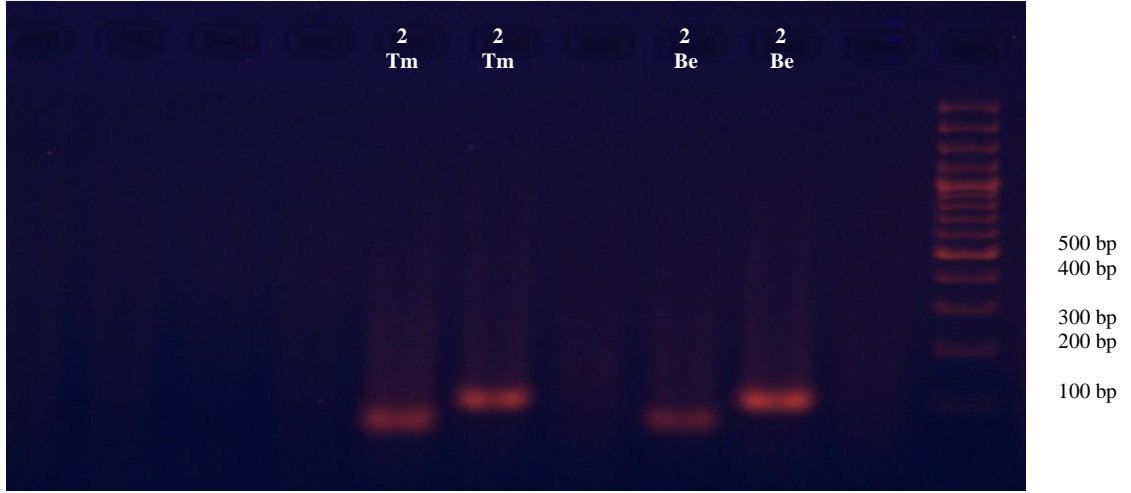
PAX8-PPR gama pozitifliği saptanan 2 numaralı olguda nodülün en büyük çapı 3 cm, tümöral alanın ise en büyük çapı 0.8 cm olup mikrokarsinom idi.Tümör papiller karsinomun nükleer olarak tüm özelliklerini taşımakta olup intratiroidal yerleşimli idi, tiroid kapsül invazyonu yapmamıştı.Psammom cisimciği yoktu.Bu olgudan yapılan tiroid ince iğne aspirasyonu sonucu benign olarak raporlanmıştı.(Şek.3.3.1)



Şekil3.3.1.A:olgu2:Tümör ve koll alan H.EX 40 B:Tümöral alan H.EX100, C.Kolloi.alan H.EX100



Şekil 3.3.2. A:2 Num. olguda lazer mikrod. öncesi tümöral alan B: mikrodiseksiyon sonrası



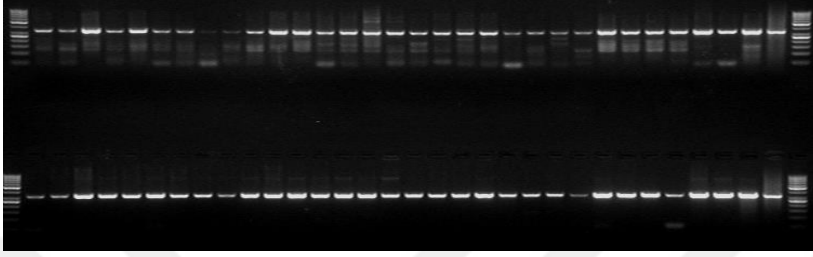
Şekil 3.3.3.İki numaralı olguda hem tüm. alanda hem koll. alanda PAX8-PPR gama pozitifliği

3.4.NRAS ve HRAS Kodon 61

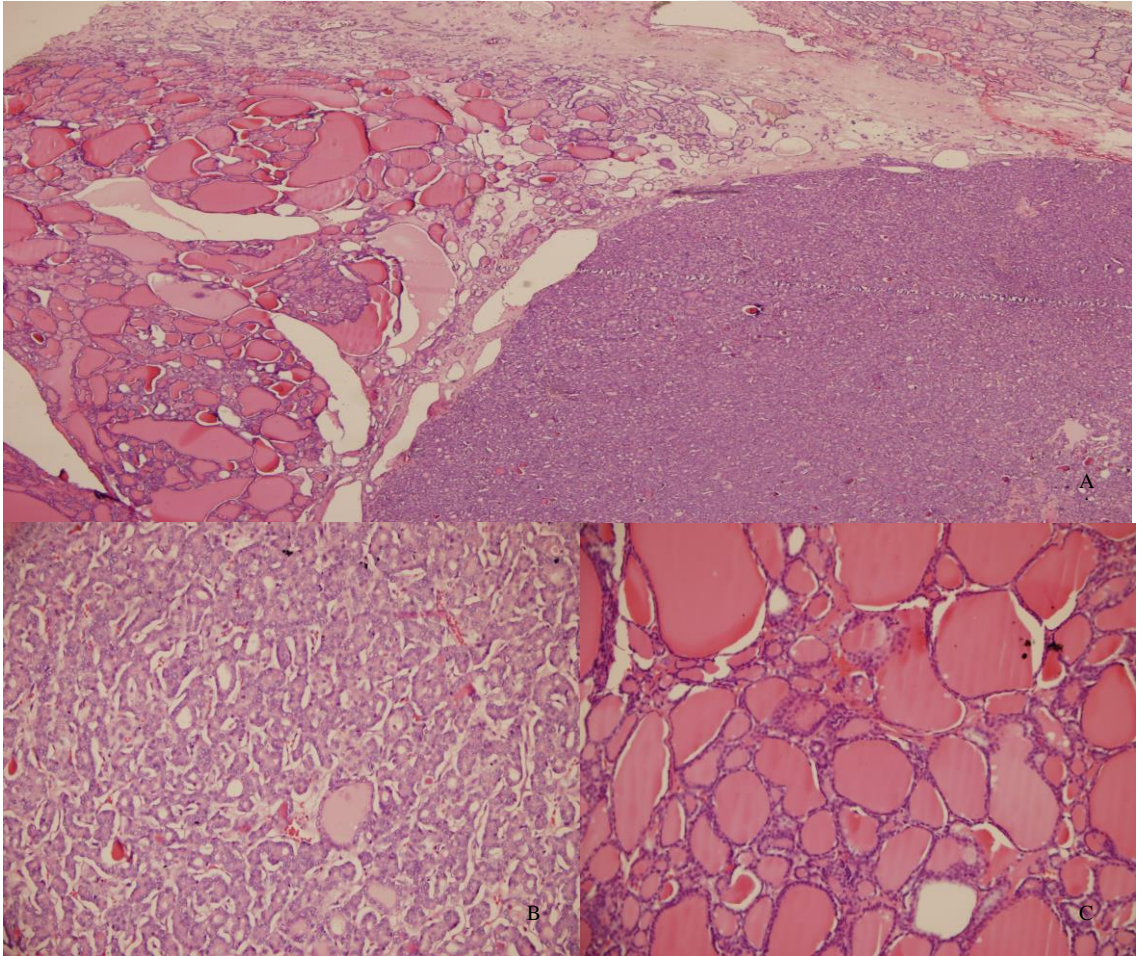
Çalışmaya dahil edilen 16 vakada NRAS ve HRAS kodon 61 nokta mutasyonu varlığı araştırıldı.NRAS kodon 61 nokta mutasyonu 6 vakada pozitif bulundu (% 37.5).Bunlardan 1 tanesi hem tümöral alanda hem de kolloidal alanda pozitifliği (3 numaralı olgu) (% 6.25).Diğer 5 vakada ise sadece tümöral alanda pozitiflik saptandı (%31.25) (Tablo 3.2 ve 3.3)Mutasyonların tamamı heterozigottu.Dört vakada CAA—CGA (Glu-Arg), iki vakada ise CAA—AAA (Glu-Lyz) nokta mutasyonu saptandı.

Pozitif vakaların 3 tanesi folliküler varyant papiller karsinom, 3 tanesi ise nodül içinde multifokal yerleşimli idi. Multifokal olan vakalarda folliküler karakterde idi. Tamamı intratiroidal yerleşimli idi.

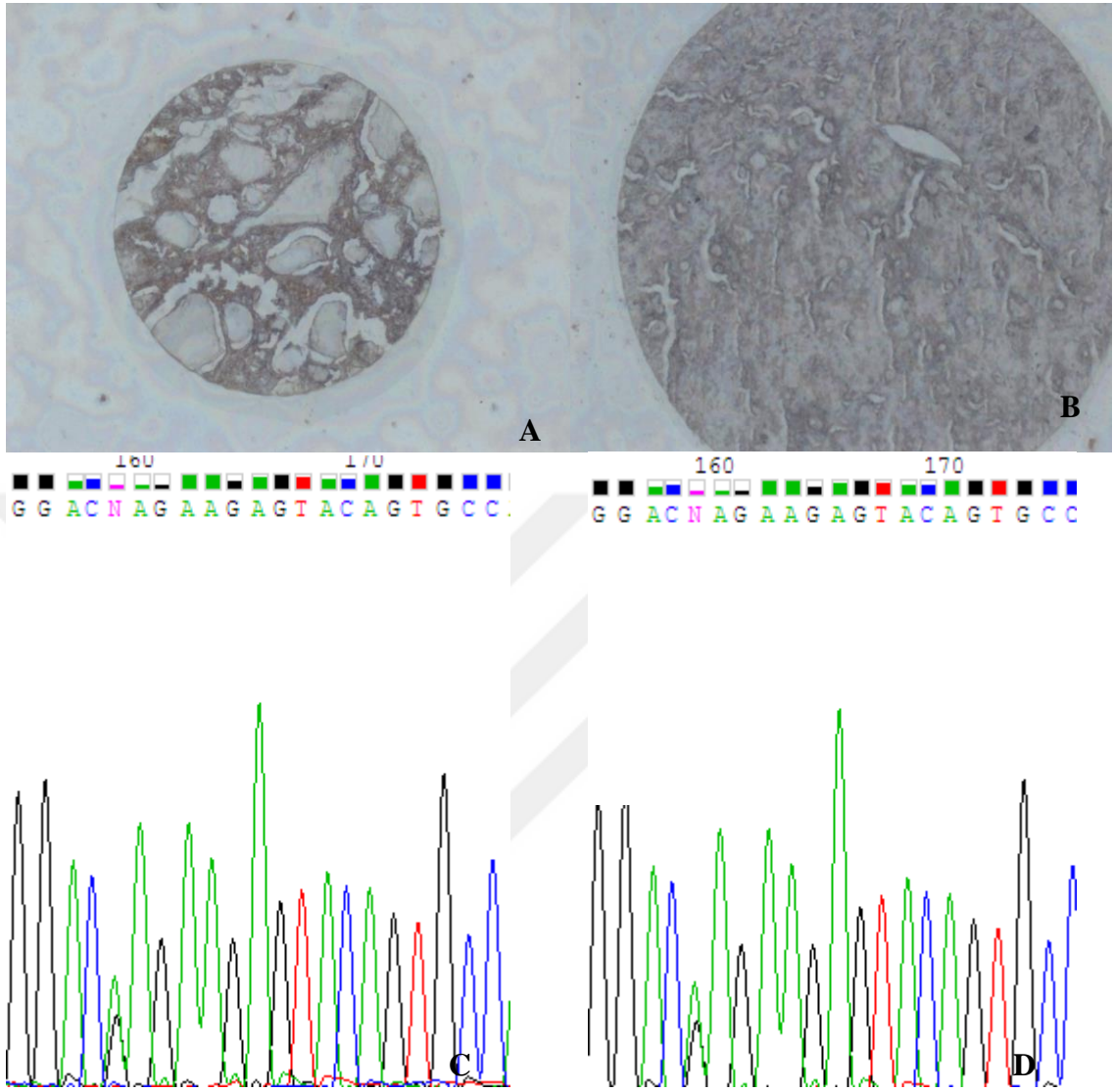
16 vakanın hiçbirinde HRAS kodon 61 de nokta mutasyonu saptanmadı (% 0) (Tablo 3.3 ve 3.4).



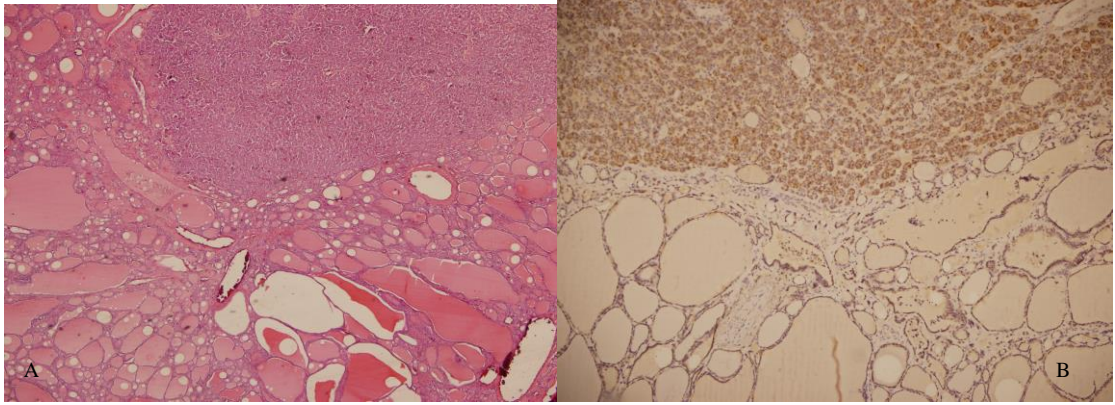
Şekil:3.4.1. H RAS (üstte) ve NRAS (altta) jel görüntüleri



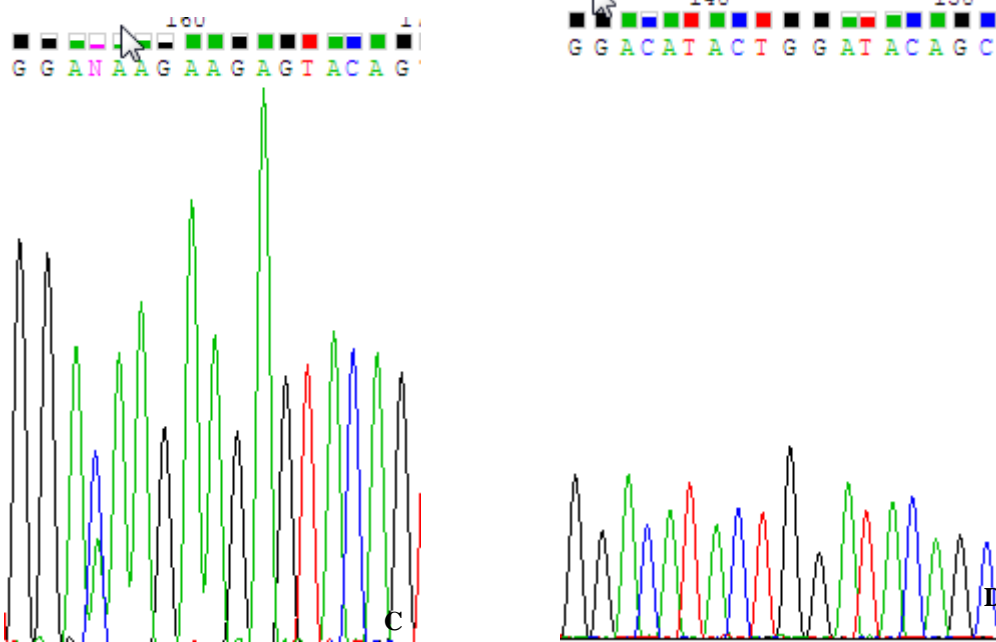
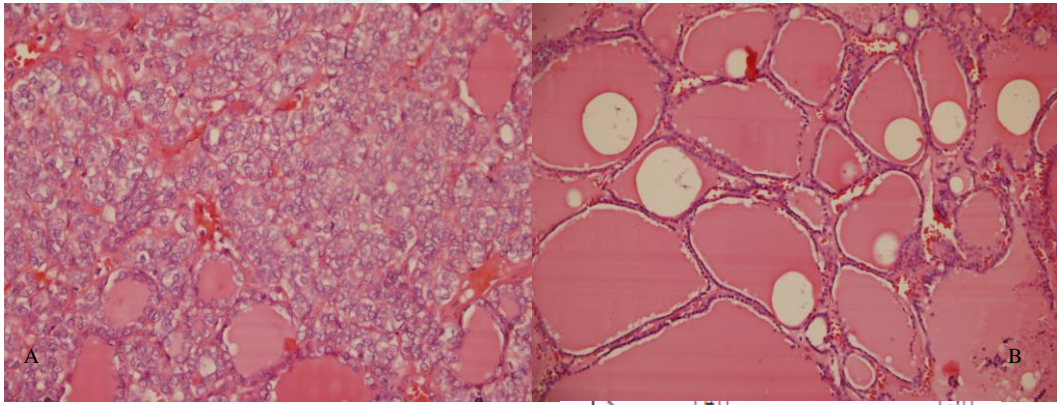
Şekil:3.4.2.A:3 num. Olguda hem tümöral hem kolloidal alan H.E X40
B:Tümöral alan H.EX 100 C:Tümöral alan H.EX100



Şekil 3.4.3.:3 Num. olguda lazer mikrodiseksiyon ile elde edilenA: tümöral B: kolloidal alanlar
 C:Tümöral alanlarda CAA-CGA nokta mutasyonu sekans sonucu
 D:Kolloidal alanda CAA-CGA noka mutasyonu sekans sonucu



Şekil:3.4.4.14 num. Olguda A:Tüm. Ve kolloidal alan H.EX40
B:Tümöral ve kolloidal alanda CK 19 boyanma paterni



Şekil 3.4.4: 14 num. Olguda A:Tüm. Alan. B:Kolloidal alan
C:Tüm. Alanda CAA-AAA nokta mutasyonu D:Kollo. Alanda normal sekan

	Mutasyon saptanan vaka sayısı
Hem tümöral hem kolloidal alanda	2 (% 12.5)
Sadece tümöral alanda	5 (% 31.25)
Toplam	7 (%43.75)

Tablo3.3:Mutasyon saptanan vakaların sayısı ve yüzdesi

	RET/PTK n=11	PAX8-PPR G. n=11	NRAS Kod.61 n=16	HRASKOD.61 N=16
Kol. Ve tüm. Alanda poz.	0(%0)	1(%9)	1 (% 6.25)	0 (%0)
Sadece tüm .alanda poz.	0(%0)	0 (%0)	5 (%31.25)	0 (%0)
Toplam	0 (%0)	1 (%9)	6 (37.5)	0 (%0)

Tablo 3.4:Mutasyonların dağılımı

	CAA-CGA	CAA-AAA
Mutasyon sayısı	5 (n=32)	2 (n=32)
Mutasyon frekansı	% 7.81	% 3.12

Tablo 3.5:RAS nokta Mutasyon tipleri ve frekansları

Olgu No:	RET/PTK 1-3	PAX8-PPR gama	NRAS Kod 61	HRAS Kod.61
1-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
1-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
2-BENİGN	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
2-TÜMÖR	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
3-BENİGN	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
3-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
4-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
4-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
5-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
5-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
6-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
6-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
7-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
7-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
8--BENİGN	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
8-TÜMÖR	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
9-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
9-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
10-BENİGN	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
10-TÜMÖR	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
11-BENİGN	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
11-TÜMÖR	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
12-BENİGN	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
12-TÜMÖR	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
13-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
13-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
14-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
14-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
15-BENİGN	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
15-TÜMÖR	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif
16-BENİGN	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif
16-TÜMÖR	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Negatif	Negatif

Tablo 3.6:Bütün vakalarda RET, PAX 8 ,NRAS ve HRAS Kod. 61 sonuçları

4.TARTIŞMA

Papiller Tiroid Karsinomu tüm tiroid karsinomları arasında en yaygın olarak görülen tiptir ve tiroid karsinomlarının yaklaşık % 80 ini oluşturur (4). Kolloidal nodül içinde gelişen Papiller Karsinomlar ise oldukça nadir görülen bir durumdur.Nadir görülmesine rağmen tiroid ince iğne aspirasyonu ve tiroidektomi materyallerinde tanısal anlamda oldukça zorluk çıkaran bir guruptur.Özellikle tiroidektomi materyallerinde hastalığın prognozu açısından çok önemli olan tümör çapı konusunda sorunlar yaşanmaktadır.Tümör çapı olarak sadece Papiller Karsinom odağının çapının mı yoksa içinde geliştiği tüm nodülün çapının mı verilmesi konusu hala tartışmalıdır.Bu da bazı durumlarda hastaların eksik tedavi alması gibi istenmeyen sonuçlar doğurabilmektedir. Literatürde daha önce koloidal nodül içinde gelişen papiller karsinomlar ile ilgili herhangi bir moleküler çalışma yoktur.Biz bu gurubun moleküler özelliklerini ortaya koymaya çalıştık.

Tiroid Papiller Karsinomunda ortaya çıkan aktive edici somatik mutasyonlar değişik çalışmalarda değişik oranlarda saptanmıştır.Kimura ve ark. 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada 124 adet tiroidektomi materyalini incelenmişlerdir. (34). Bunlardan 78 tanesi PK, 10 tanesi FK, 12 tanesi Hurthle Hücreli karsinom ,14 tanesi FA, 10 tanesi ise HHA tanısı almış vakalardı.78 papiller karsinom vakasının 44 tanesinde (% 65.6) bu üç mutasyondan bir tanesi saptanmış.Bu mutasyonların içinde en yüksek %35.8 ile BRAF nokta mutasyonu bulunmuş. RAS ve RET/PTK ise her biri %16.4 oranın da saptanmış.Bizim çalışmamızda 16 vakanın 8 inde mutasyon saptandı (%50).Bu oran bu literatür ile benzerlik göstermektedir.Ancak bizim çalışmamızda RAS nokta mutasyonu en sık saptanan mutasyondur ve 6 vakada (%37.5) saptandı.PAX 8 PPR gama bir vakada pozitif saptandı, hiçbir vakada ise RET/PTK gen rearanjmanı saptanmadı.Bizim çalışmamızdaki RAS ve RET/PTK sıklığının bu literatür ile uyumlu olmamasının nedeni bizim çalışmamızdaki vakaların tamamının folliküler gelişim paterni göstermesi , RET/PTK nın klasik varyant papiller karsinomda daha sıklıkla pozitif saptanmasından olduğu düşünülmüştür.Yine RAS mutasyon sıklığının yüksek olmasının nedeninin de RAS nokta mutasyonun hemen daima Folliküler gelişim gösteren Papiller karsinomlarda saptanmasından olduğu sonucuna varılmıştır.

Nikiforova ve ark. Yaptıkları bir çalışmada RET/PTK ve RAS nokta mutasyon varlığı ile mikroskopik görünüm, klinik manifestasyon ve prognostik faktörler kıyaslanmış.Bu çalışmada rastgele seçilen PK vakalarının, % 18 inde RET/PTK gen rearanjmanı ve % 15 inde RAS nokta mutasyonu saptanmış.. RET/PTK gen rearanjmanı ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişki bulunmuş (p=0.0015).RET/PTK gen rearanjmanı saptanan bütün olgularda psammom cisimciği saptanmış.Nükleer kalabalıklaşma , nükleer berraklaşma, papiller yapılar bu vakalarda belirgin olarak bulunmuş.RAS nokta mutasyonu saptanan olgular ise tipik olarak kadınlarda izlenmiş.Tümörlerin tamamı folliküler varyant papiller karsinoma imiş.Papiller karsinomun nükleer özellikleri daha az belirginmiş ve tipik papiller karsinom alanları ise fokal olarak izlenmiş.FVPK da RAS nokta mutasyonu daha sık , RET/PTK rearanjmanı çok daha az sıklıkta saptanmış(107).Bizim çalışmamızda RAS nokta mutasyonu saptanan 6 vakanın 4 ü kadın 2 si erkekti.Vakaların tamamı folliküler varyant idi ve vakaların tamamı düşük nükleer grade sahipti.Bu bakımdan bizim çalışmamızda çıkan sonuçlar bu literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Nikiforova ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada, sporadik Papiller Tiroid Karsinomunda yaklaşık % 60 oranında RET/PTK 1, % 30 oranında RET/PTK 3 gen rearanjmanı saptanmış (38).Yine Talini ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuş (39). Bu çalışmalarda genç yaşta ve radyasyon ile ilişkili PTK da pozitifliğin sporadik tümörlere oranla daha sık olduğu görülmüş (38,39).

Zhaowen ve ark. Yaptıkları bir çalışmada ise 30 adet folliküler varyant PTK, 46 adet nonfolliküler PTK nın moleküler özellikleri karşılaştırılmış. .FVPTK da 1 vakada RET/PTK 3 gen rearanjmanı saptanırken, non FVPTK ların 9 u RET/PTK 1, 4 ü RET/PTK 3 olmak üzere toplam 13 vakada pozitiflik saptanmış (p=0.006).RAS nokta mutasyonu ise FVPTK da % 43 oranında saptanırken , non FVPTK larda hiç saptanmamış.PAX8PPR gama ise her iki grupta da negatif bulunmuş.RAS nokta mutasyonu büyük oranda NRAS kodon 61 de (CAA—CGA) bulunmuş.Bizim çalışmamızda da 11 vakanın hiç birinde RET/PTK gen rearanjmanı saptanmadı, 6 vakada ise RAS nokta mutasyonu saptanmış.(Tablo 3).Bu sonuç literatür ile uyumludur çünkü bizim vakalarımızın tamamı FVPTK idi.Dolayısıyla RET/PTK gen rearanjmanı bu grupta beklenen bir sonuç değildir.(108).

PAX 8-PPR gama gen rearanjmanı daha sıklıkla Folliküler karsinoma ve Folliküler adenoma da pozitiflik gösterir.Nikiforova ve ark. yaptıkları bir çalışmada PAX8-PPR gama gen rearanjmanı Folliküler karsinomlarda % 36 oranında pozitif bulunmuş.(109).Yine Marques ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Folliküler karsinomlarda % 56, Folliküler Adenomlarda ise % 13 oranında pozitif bulunmuş. (110).

P.Castro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 40 adet FVPTK, 27 Folliküler Karsinom ve 27 Folliküler adenomda PAX 8-PPR gama gen rearanjmanı varlığı araştırılmış.(111) Bu çalışmada FVPTK da (% 37.5), FK da (% 45.5) ve Folliküler Adenomda (% 33) olarak saptanmış.Yine bu çalışmada PAX 8-PPR gama pozitifliği ile anjioinvasiv karakter arasında pozitif ilişki bulunmuş.

Yine Nikiforova ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TİİAS de önemi belirlenemeyen atipik hücreler tanısı alan 513 vakada PAX8-PPR gama, RET/PTK, BRAF ve RAS nokta mutasyonu varlığı araştırılmış.Bunlardan 117 vakaya tiroidektomi yapılmış.117 vakanın 12 sinde somatik mutasyon saptanmış.Bütün pozitif bulunan vakalar histopatolojik olarak Papiller Karsinom tanısı almış.105 vakada ise herhangi bir moleküler değişiklik saptanmamış.Ancak herhangi bir mutasyon saptanmayan 105 vakanın 8 i histopatolojik olarak Papiller Karsinom tanısı almış.Mutasyon saptanan 12 vakanın 3 tanesi BRAF nokta mutasyonu, 8 tanesi RAS nokta mutasyonu ve 1 tanesi de PAX8-PPR gama gen rearanjmanı olarak saptanmış.BRAF mutasyonu saptanan vakalardan bir tanesi Klasik varyant Papiller karsinom, 2 tanesi ise tall cell varyant papiller karsinommuş.RAS nokta mutasyonu ve PAX8-PPR gama gen rearanjmanı saptanan 9 vakanın tamamı folliküler varyant papiller karsinom morfolojisinde imiş ve papiller karsinomun nükleer özelliklerini fokal alanlarda bulundurmakta imiş.Hiç bir vakada RET/PTK gen rearanjmanı saptanmamış. (112)Bizim çalışmamızda 1 vakada PAX 8-PPR gama gen rearanjmanı , 6 vakada ise RAS nokta mutasyonu saptandı.Bizim vakalarımızın tamamının Folliküler varyant papiller karsinom özelliğinde olması bu çalışmalarla benzerlik göstermekte idi.Ancak koloidal karakterdeki alanda da 2 vakada mutasyon saptanması papiller karsinom ile folliküler neoplaziler arasında ortak bir moleküler yolak olduğunu düşündürmekte ve papiller karsinomun nükleer özellikleri tam olarak oturmasa da PAX 8-PPR gama ve RAS nokta mutasyonun saptanabileceğini

ortaya koymaktadır.Ancak olgu sayısı az olduğundan bu konuda kesin yorum yapılamamaktadır.

Christopher T. Esapa ve ark . yaptıkları çalışmada tiroid neoplazilerinde RAS nokta mutasyonu sıklığı araştırılmış (113). Çalışmaya 66 adet benign ve 24 adet malign olmak üzere toplam 90 vaka dahil edilmiş.RAS nokta mutasyonu koloidal nodüllerin % 4 ünde, Folliküler Adenomların % 18 inde , Folliküler Karsinomların %44 ünde ve 1/1 FVPTK da pozitif bulunmuş.Folliküler Adenom ve Nodüler guatr da pozitif olarak saptanmaları tiroid neoplazilerin erken döneminde ortaya çıkan bir mutasyon olabileceği olarak yorumlanmış.

Julie Di Christofaro ve ark . yaptıkları bir çalışmada ise FVPTK ile Klasik PTK moleküler özellikleri kıyaslanmış (114).FVPTK da % 25 oranında RAS nokta mutasyonu , %41.7 oranında RET/PTK gen rearanjmanı saptanırken , Klasik PTK da RAS nokta mutasyonu % 0, RET/PTK gen rearanjmanı ise % 45 oranında saptanmış.Bizim çalışmamızdaki sonuçlar bu literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Tiroid ince iğne aspirasyonu palpasyonla ya da görüntüleme yöntemleri ile saptanan tiroid nodüllerinin tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır.Güvenilirliği ispat edilmiş olan bu yöntemin ana görevi neoplastik nodülleri nonneoplastik nodüllerden ayırmaktır (6).Cooper DS ile Clark DP ve arkadaşlarının geniş seriler üzerinde yaptıkları çalışmalarda TİİAS güvenilirliği % 95, pozitif prediktif değeri % 89-98, negatif prediktif değeri ise % 94-99 arasında bulunmuştur.Bizim çalışmaya dahil ettiğimiz 16 vakada ise 12 si benign (% 75), 2 si Folliküler Neoplazi şüphesi (%12.5), 1 tanesi Papiller karsinom (% 6.25) ve 1 tanesi de (% 6.25) nondiagnostik olarak raporlanmıştı.TİİAS neoplaziyi yakalama oranı % 18.75 olarak saptandı.Bu oran literatürün çok altında bir orandı.Yine Meko JB ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kistik nodüllerde yanlış negatiflik oranı yaklaşık % 30 civarında bulunmuş ve özellikle kistik gelişim gösteren papiller karsinomlarda TİİAS yanlış negatif sonuç verdiği görülmüş (115).Yine Santos ET ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kistik nodüllerde TİİAS spesifite ve sensitivitesi % 88 ve % 52 olarak bulunmuş (116).Bizim çalışmamızda Papiller karsinom şüphesi olarak raporlanan olguda (olgu no 8) nodülün en büyük çapı 1.7 cm, papiller karsinom odağının en büyük çapı ise 0.5 cm di.Folliküler neoplazi olarak raporlanan 2 olgu da nodüllerin çapları 3.5 ve 2.5 cm di.

Sonuç olarak kolloidal nodül içinde gelişen Papiller karsinomlar hem ince iğne aspirasyonunda hem de tiroidektomi materyallerinde tanısal anlamda büyük sorunlar yaratmaktadır. Tiroid neoplazilerinin tanısında kullanılan TİİAS bu grupta patolojlara pek faydalı olamamaktadır. Bunun nedeni aspirasyonun kolloidal alana denk gelmesi ve aspirasyona tamamen benign hücrelerin düşmesi ya da aspirasyona papiller karsinom hücreleri düşse bile bunların nükleer özelliklerinin belirgin olmaması, kolloid ve benign hücreler ile kaplı zeminde gözden kaçması olabilir. Yine tiroid iğne aspirasyonunda gerek duyulduğunda kolaylıkla uygulanabilen RET/PTK gen rearanjmanı diğer Papiller karsinomlarda faydalı iken bu grupta pozitifliğin çok düşük olması nedeni ile yararlı bir yöntem olarak bulunmamıştır. Ancak NRAS nokta mutasyonun ve PAX8-PPAR gama gen rearanjmanın, TİİAS de aspirasyon benign görünümlü olsa bile pozitif saptanması neoplaziyi desteklemektedir. Ancak negatif olması maligniteyi dışlamamaktadır.

Tiroidektomi materyallerinde kolloidal nodül içinde gelişen papiller karsinomlarda; tümör çapı verilmesi konusu ise bu çalışma ile birlikte hala büyük bir sorun olarak durmaktadır. Çalışmaya dahil edilen vakaların 2 sinde hem tümöral alanda hem kolloidal alanda pozitiflik saptanması, 5 vakada ise sadece tümöral alanda pozitiflik saptanması ve bu iki grup arasındaki farkı açıklayacak belirgin bir histopatolojik farkın olmaması bu konuyu daha da tartışılmalı hale getirmiş hangi durumda sadece tümörün hangi durumda ise tüm nodülün çapının verilmesi gerektiği konusu belkide vaka sayısının azlığı nedeni ile açığa kavuşmamıştır.

Bulgularım; N-Ras mutasyonu ve Pax8-PPAR gama gen rearanjmanının tiroid karsinogenezinde erken olaylar olduğunu ve zaman zaman kansere ait morfolojik bulgular gelişmeden önce de saptanabileceklerini desteklemektedir.

Tiroid Papiller Karsinomlarında en sık saptanan BRAF nokta mutasyonun da araştırılması çalışmanın başında planlanmış ancak gerekli malzemelerin zamanında sağlanamaması nedeniyle tez yazımına yetişmemiştir. Ancak tez makale aşamasına geldiğinde BRAF nokta mutasyonu ile ilgili sonuçların da koyulması planlanmıştır.

5.KAYNAKLAR

- 1:Steward BW, KleiheusP. World Cancer Report.Lyon: IARC Press 2003.
- 2:Thompson LDR.Benign neoplazm of the Thyroid gland .In thompson LDR,editor.Churchill Livingtone:Elsevier 2006; p 51-75.
- 3: Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995 [see commetns]. Cancer. 1998 Dec 15;83(12):2638-48. PubMed PMID: 9874472.
- 4:De Lellis RA,Williams ED, Thyroid and parathyroid Tumors:Introduction in:De Lellis RA,Lloyd RV, Heitz PU, Eng C,editors. Pathology and Genetics of Tumors of Endocrin Organs ,Lyon, France.IARC Press; 2004, p.51-6.
- 5: Ermak G, Jennings T, Robinson L, Ross JS, Figge J. Restricted patterns of CD44 variant exon expression in human papillary thyroid carcinoma. Cancer Res. 1996 Mar 1;56(5):1037-42. PubMed PMID: 8640758.
- 6: Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Sherman SI, Tuttle RM; American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. Thyroid. 2006 Feb;16(2):109-42. PubMed PMID: 16420177.

7:Clark DP,Faguin WC.Thyroid cytopathology.IN essential in cytopathology series, Ed:Resenthal D.Springer , 2005.

8:Simoes S. Albores-Saavedra J, Talini G, Poorly differentiated Carcinoma. In:DeLellis RA, Lloyd RV,Heitz PU, Eng C,editors.Pathology and Genetics of Tumors of Endovrin organs.Lyon, France:IARC Pres; p.73-6

9:

10: 1: Williams ED. Guest Editorial: Two Proposals Regarding the Terminology of Thyroid Tumors. *Int J Surg Pathol.* 2000 Jul;8(3):181-183. PubMed PMID: 11493987.

11: Zidan J, Karen D, Stein M, Rosenblatt E, Basher W, Kuten A. Pure versus follicular variant of papillary thyroid carcinoma: clinical features, prognostic factors, treatment, and survival. *Cancer.* 2003 Mar 1;97(5):1181-5. PubMed PMID: 12599223.

12: Berho M, Suster S. The oncocytic variant of papillary carcinoma of the thyroid: a clinicopathologic study of 15 cases. *Hum Pathol.* 1997 Jan;28(1):47-53. PubMed PMID: 9013831.

13: Herrera MF, Hay ID, Wu PS, Goellner JR, Ryan JJ, Ebersold JR, Bergstralh EJ, Grant CS. Hürthle cell (oxyphilic) papillary thyroid carcinoma: a variant with more aggressive biologic behavior. *World J Surg.* 1992 Jul-Aug;16(4):669-74; discussion 774-5. PubMed PMID: 1413835.

14: Hill JH, Werkhaven JA, DeMay RM. Hurthle cell variant of papillary carcinoma of the thyroid gland. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1988 Apr;98(4):338-41. PubMed PMID: 3132690.

15: Ludvíková M, Ryska A, Korabecná M, Rydlová M, Michal M. Oncocytic papillary carcinoma with lymphoid stroma (Warthin-like tumour) of the thyroid: a distinct entity with favourable prognosis. *Histopathology.* 2001 Jul;39(1):17-24. PubMed PMID: 11454040.

16: Carcangiu ML, Bianchi S. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. Clinicopathologic study of 15 cases. *Am J Surg Pathol.* 1989 Dec;13(12):1041-9. PubMed PMID: 2490923.

17: Ostrowski ML, Merino MJ. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: a reassessment and immunohistochemical study with comparison to the usual type of papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Surg Pathol.* 1996 Aug;20(8):964-74. PubMed PMID: 8712296.

18: Wenig BM, Thompson LD, Adair CF, Shmookler B, Heffess CS. Thyroid papillary carcinoma of columnar cell type: a clinicopathologic study of 16 cases. *Cancer.* 1998 Feb 15;82(4):740-53. PubMed PMID: 9477108.

19: Harach HR, Williams GT, Williams ED. Familial adenomatous polyposis associated thyroid carcinoma: a distinct type of follicular cell neoplasm. *Histopathology.* 1994 Dec;25(6):549-61. Review. PubMed PMID: 7698732.

20: Perrier ND, van Heerden JA, Goellner JR, Williams ED, Gharib H, Marchesa P, Church JM, Fazio VW, Larson DR. Thyroid cancer in patients with familial adenomatous polyposis. *World J Surg.* 1998 Jul;22(7):738-42; discussion 743. PubMed PMID: 9606291.

21: Naganuma H, Iwama N, Nakamura Y, Ohtani N, Ohtani H, Takaya K, Sakai N. Papillary carcinoma of the thyroid gland forming a myofibroblastic nodular tumor: report of two cases and review of the literature. *Pathol Int.* 2002 Jan;52(1):54-8. Review. PubMed PMID: 11940207.

22: Piersanti M, Ezzat S, Asa SL. Controversies in papillary microcarcinoma of the thyroid. *Endocr Pathol.* 2003 Fall;14(3):183-91. Review. PubMed PMID: 14586064.

23: Rosai J, LiVolsi VA, Sobrinho-Simoes M, Williams ED. Renaming papillary microcarcinoma of the thyroid gland: the Porto proposal. *Int J Surg Pathol.* 2003 Oct;11(4):249-51. PubMed PMID: 14615819.

24: LiVolsi VA. Papillary neoplasms of the thyroid. Pathologic and prognostic features. *Am J Clin Pathol.* 1992 Mar;97(3):426-34. Review. PubMed PMID: 1543168.

25: Akslen LA, LiVolsi VA. Prognostic significance of histologic grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. *Cancer.* 2000 Apr 15;88(8):1902-8. PubMed PMID: 10760768.

26: Nasser SM, Pitman MB, Pilch BZ, Faquin WC. Fine-needle aspiration biopsy of papillary thyroid carcinoma: diagnostic utility of cytokeratin 19 immunostaining. *Cancer.* 2000 Oct 25;90(5):307-11. PubMed PMID: 11038428.

27: Nasr MR, Mukhopadhyay S, Zhang S, Katzenstein AL. Immunohistochemical markers in diagnosis of papillary thyroid carcinoma: Utility of HBME1 combined with CK19

immunostaining. *Mod Pathol*. 2006 Dec;19(12):1631-7. Epub 2006 Sep 22. PubMed PMID: 16998461.

28: Mase T, Funahashi H, Koshikawa T, Imai T, Nara Y, Tanaka Y, Nakao A. HBME-1 immunostaining in thyroid tumors especially in follicular neoplasm. *Endocr J*.

2003 Apr;50(2):173-7. PubMed PMID: 12803237.

29: Prasad ML, Pellegata NS, Huang Y, Nagaraja HN, de la Chapelle A, Kloos RT.

Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME1 and cytokeratin-19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol*. 2005

Jan;18(1):48-57. PubMed PMID: 15272279.

30: Kim H, Piao Z, Park C, Chung WY, Park CS. Clinical significance of clonality in thyroid nodules. *Br J Surg*. 1998 Aug;85(8):1125-8. PubMed PMID: 9718012.

31: Shattuck TM, Westra WH, Ladenson PW, Arnold A. Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma. *N Engl J Med*. 2005

Jun 9;352(23):2406-12. Erratum in: *N Engl J Med*. 2005 Oct 13;353(15):1640. PubMed PMID: 15944425.

32: Wreesmann VB, Ghossein RA, Hezel M, Banerjee D, Shaha AR, Tuttle RM, Shah JP, Rao PH, Singh B. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: genome-wide appraisal of a controversial entity. *Genes Chromosomes Cancer*. 2004

Aug;40(4):355-64. PubMed PMID: 15188460.

- 33: Hunt JL, Fowler M, Lomago D, Niehouse L, Sasatomi E, Swalsky P, Finkelstein S. Tumor suppressor gene allelic loss profiles of the variants of papillary thyroid carcinoma. *Diagn Mol Pathol*. 2004 Mar;13(1):41-6. PubMed PMID: 15163008.
- 34: Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res*. 2003 Apr 1;63(7):1454-7. PubMed PMID: 12670889.
- 35: Cohen Y, Xing M, Mambo E, Guo Z, Wu G, Trink B, Beller U, Westra WH, Ladenson PW, Sidransky D. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Apr 16;95(8):625-7. PubMed PMID: 12697856.
- 36: Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev*. 2007 Dec;28(7):742-62. Epub 2007 Oct 16. Review. PubMed PMID: 17940185.
- 37: Palona I, Namba H, Mitsutake N, Starenki D, Podtcheko A, Sedliarou I, Ohtsuru A, Saenko V, Nagayama Y, Umezawa K, Yamashita S. BRAFV600E promotes invasiveness of thyroid cancer cells through nuclear factor kappaB activation. *Endocrinology*. 2006 Dec;147(12):5699-707. Epub 2006 Sep 7. PubMed PMID: 16959844.
- 38: Nikiforov YE. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors. *Endocr Pathol*. 2002 Spring;13(1):3-16. Review. PubMed PMID: 12114746.

39: Tallini G, Asa SL. RET oncogene activation in papillary thyroid carcinoma. *Adv Anat Pathol*. 2001 Nov;8(6):345-54. Review. PubMed PMID: 11707626.

40: Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid*. 2009 Dec;19(12):1351-61. Review. PubMed PMID: 19895341.

41: Fischer S, Asa SL. Application of immunohistochemistry to thyroid neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*. 2008 Mar;132(3):359-72. Review. PubMed PMID: 18318579.

42: Nikiforova MN, Biddinger PW, Caudill CM, Kroll TG, Nikiforov YE. PAX8-PPARgamma rearrangement in thyroid tumors: RT-PCR and immunohistochemical analyses. *Am J Surg Pathol*. 2002 Aug;26(8):1016-23. PubMed PMID: 12170088.

43: Marques AR, Espadinha C, Catarino AL, Moniz S, Pereira T, Sobrinho LG, Leite V. Expression of PAX8-PPAR gamma 1 rearrangements in both follicular thyroid carcinomas and adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Aug;87(8):3947-52. PubMed PMID: 12161538.

44: Simoes S, Asa SL, Kroll TG. Follicular carcinoma. In: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, editors. *Pathology and genetics of Tumor Of Endocrin Organs*. Lyon, France: IARC Press; 2004. P.98-103

45: Hunt JL, Livolsi VA, Baloch ZW, Swalsky PA, Bakker A, Sasatomi E, Finkelstein S, Barnes EL. A novel microdissection and genotyping of follicular-derived thyroid tumors to predict aggressiveness. *Hum Pathol*. 2003 Apr;34(4):375-80. PubMed PMID: 12733119.

46: Kesmodel SB, Terhune KP, Canter RJ, Mandel SJ, LiVolsi VA, Baloch ZW, Fraker DL. The diagnostic dilemma of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Surgery*. 2003 Dec;134(6):1005-12; discussion 1012. PubMed PMID: 14668734.

47: LiVolsi VA. Pure versus follicular variant of papillary thyroid carcinoma: clinical features, prognostic factors, treatment, and survival. *Cancer*. 2003 Nov 1;98(9):1997; author reply 1997-8. PubMed PMID: 14584085.

48: Dean DS, Hay ID. Prognostic indicators in differentiated thyroid carcinoma. *Cancer Control*. 2000 May-Jun;7(3):229-39. Review. PubMed PMID: 10832109.

49: Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP, Mazzaferri E, McKee RF, Rosai J, Shah JP, Fremgen AM, Stewart AK, Hölzer S. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the united states during 1996. U.S. and German Thyroid Cancer Study Group. An American College of Surgeons Commission on Cancer Patient Care Evaluation study. *Cancer*. 2000 Jul 1;89(1):202-17. PubMed PMID: 10897019.

50: Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995 [see commetns]. *Cancer*. 1998 Dec 15;83(12):2638-48. PubMed PMID: 9874472.

51: Livolsi VA (1990) *Surgical pathology of the Thyroid. Major Problems in Pathology*. WB Saunders. Philedelphia

52:Thompson NW, Dunn EL, Batsakis JG, Nishiyama RH (1974).Hurthle Cell Lesions of Thyroid gland .Surg gynec. Obstret. 555-560

53: Bergholm U, Adami HO, Bergström R, Johansson H, Lundell G, Telenius-Berg M, Akerström G. Clinical characteristics in sporadic and familial medullary thyroid carcinoma. A nationwide study of 249 patients in Sweden from 1959 through 1981. *Cancer*. 1989 Mar 15;63(6):1196-204. PubMed PMID: 2563669.

54: Albores-Saavedra J, LiVolsi VA, Williams ED. Medullary carcinoma. *Semin Diagn Pathol*. 1985 May;2(2):137-46. PubMed PMID: 3843691.

55: HAZARD JB, HAWK WA, CRILE G Jr. Medullary (solid) carcinoma of the thyroid; a clinicopathologic entity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1959 Jan;19(1):152-61. PubMed PMID: 13620740.

56: HORN RC, RAVDIN IS. Carcinoma of the thyroid gland in youth. *J Clin Endocrinol Metab*. 1951 Oct;11(10):1166-78. PubMed PMID: 14873786.

57: Papotti M, Sambataro D, Pecchioni C, Bussolati G. The Pathology of Medullary Carcinoma of the Thyroid: Review of the Literature and Personal Experience on 62 Cases. *Endocr Pathol*. 1996 Spring;7(1):1-20. PubMed PMID: 12114676.

58: Uribe M, Fenoglio-Preiser CM, Grimes M, Feind C. Medullary carcinoma of the thyroid gland. Clinical, pathological, and immunohistochemical features with review of the literature. *Am J Surg Pathol*. 1985 Aug;9(8):577-94. PubMed PMID: 2418697.

59:Matias –Gui,DeLellis RA,Moley.Medullary thyroid Carcinoma.In DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU,Eng C,editors.Pathology of genetics of Endocrin ORgans .Lyon.France:IARC Pres 2004,p.86-91

60: Bhattacharyya N. A population-based analysis of survival factors in differentiated and medullary thyroid carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003 Jan;128(1):115-23. PubMed PMID: 12574769.

61: Malchoff CD, Sarfarazi M, Tendler B, Forouhar F, Whalen G, Malchoff DM. Familial papillary thyroid carcinoma is genetically distinct from familial adenomatous polyposis coli. *Thyroid.* 1999 Mar;9(3):247-52. PubMed PMID: 10211600.

62: Nishida T, Katayama S, Tsujimoto M, Nakamura J, Matsuda H. Clinicopathological significance of poorly differentiated thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1999 Feb;23(2):205-11. PubMed PMID: 9989848.

63: Papotti M, Botto Micca F, Favero A, Palestini N, Bussolati G. Poorly differentiated thyroid carcinomas with primordial cell component. A group of aggressive lesions sharing insular, trabecular, and solid patterns. *Am J Surg Pathol.* 1993 Mar;17(3):291-301. PubMed PMID: 8434709.

64:Sobrinho Simoes M(1985) Tumors of The Thyroid .Abrief overview of emphasis of the most contraversial issues.*Current Diagnostic pathology* 2:15-22.

65: Sobrinho-Simões M, Sambade C, Fonseca E, Soares P. Poorly differentiated carcinomas of the thyroid gland: a review of the clinicopathologic features of a series of 28 cases of a heterogeneous, clinically aggressive group of thyroid tumors. *Int J Surg Pathol.* 2002 Apr;10(2):123-31. PubMed PMID: 12075405.

66: Basolo F, Pisaturo F, Pollina LE, Fontanini G, Elisei R, Molinaro E, Iacconi P, Miccoli P, Pacini F. N-ras mutation in poorly differentiated thyroid carcinomas: correlation with bone metastases and inverse correlation to thyroglobulin expression. *Thyroid.* 2000 Jan;10(1):19-23. PubMed PMID: 10691309.

67: Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, Wu R, Carcangiu ML, Costa J, Tallini G. ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *J Clin Oncol.* 2003 Sep 1;21(17):3226-35. PubMed PMID: 12947056.

68: Manenti G, Pilotti S, Re FC, Della Porta G, Pierotti MA. Selective activation of ras oncogenes in follicular and undifferentiated thyroid carcinomas. *Eur J Cancer.* 1994;30A(7):987-93. PubMed PMID: 7946598.

69: Motoi N, Sakamoto A, Yamochi T, Horiuchi H, Motoi T, Machinami R. Role of ras mutation in the progression of thyroid carcinoma of follicular epithelial origin. *Pathol Res Pract.* 2000;196(1):1-7. PubMed PMID: 10674266.

70: Pilotti S, Collini P, Mariani L, Placucci M, Bongarzone I, Vigneri P, Cipriani S, Falcetta F, Miceli R, Pierotti MA, Rilke F. Insular carcinoma: a distinct de novo entity among follicular carcinomas of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol.* 1997 Dec;21(12):1466-73. PubMed PMID: 9414190.

71: Giuffrida D, Gharib H. Anaplastic thyroid carcinoma: current diagnosis and treatment. *Ann Oncol.* 2000 Sep;11(9):1083-9. Review. PubMed PMID: 11061600.

72: Karavitaki N, Vlassopoulou V, Tzanela M, Tzavara I, Thalassinos N. Recurrent and/or metastatic thyroid cancer: therapeutic options. *Expert Opin Pharmacother.* 2002 Jul;3(7):939-47. Review. PubMed PMID: 12083993.

73: Ezaki H, Ebihara S, Fujimoto Y, Iida F, Ito K, Kuma K, Izuo M, Makiuchi M, Oyamada H, Matoba N, et al. Analysis of thyroid carcinoma based on material registered in Japan during 1977-1986 with special reference to predominance of papillary type. *Cancer.* 1992 Aug 15;70(4):808-14. PubMed PMID: 1643612.

74: Goldman RL (1961). Primary squamous cell carcinoma of the thyroid gland :a report of a case and a review of literature. *Am surg.* 30. 247-251

75: Cook AM, Vini L, Harmer C. Squamous cell carcinoma of the thyroid: outcome of treatment in 16 patients. *Eur J Surg Oncol.* 1999 Dec;25(6):606-9. PubMed PMID: 10556008.

76: Lam KY, Lo CY, Liu MC. Primary squamous cell carcinoma of the thyroid gland: an entity with aggressive clinical behaviour and distinctive cytokeratin expression profiles. *Histopathology.* 2001 Sep;39(3):279-86. PubMed PMID: 11532039.

77: Franssila KO, Harach HR, Wasenius VM. Mucoepidermoid carcinoma of the thyroid. *Histopathology.* 1984 Sep;8(5):847-60. PubMed PMID: 6083973.

78: Baloch ZW, Solomon AC, LiVolsi VA. Primary mucoepidermoid carcinoma and sclerosing mucoepidermoid carcinoma with eosinophilia of the thyroid gland: a report of nine cases. *Mod Pathol.* 2000 Jul;13(7):802-7. PubMed PMID: 10912941.

79: Sambade C, Sarabando F, Nesland JM, Sobrinho Simões M. Hyalinizing trabecular adenoma of the thyroid (case of the Ullensvang course). Hyalinizing spindle cell tumor of the thyroid with dual differentiation (variant of the so-called hyalinizing trabecular adenoma). *Ultrastruct Pathol.* 1989 Mar-Jun;13(2-3):275-80. PubMed PMID: 2734856.

80: Cruz MC, Marques LP, Sambade C, Sobrinho-Simões M (1991) Primary mucinous carcinoma of the thyroid. *Surg. Pathol.* 4:266-273

81: Sobrinho-Simões M, Stenwig AE, Nesland JM, Holm R, Johannessen JV. A mucinous carcinoma of the thyroid. *Pathol Res Pract.* 1986 Aug;181(4):464-71. PubMed PMID: 3020530

82: Sobrinho-Simões MA, Nesland JM, Johannessen JV. A mucin-producing tumor in the thyroid gland. *Ultrastruct Pathol.* 1985;9(3-4):277-81. PubMed PMID: 4090007.

83: Chetty R, Goetsch S, Nayler S, Cooper K. Spindle epithelial tumour with thymus-like element (SETTLE): the predominantly monophasic variant. *Histopathology.* 1998 Jul;33(1):71-4. PubMed PMID: 9726052.

84: Akin MR, Nguyen GK. Fine-needle aspiration biopsy cytology of hyalinizing trabecular adenomas of the thyroid. *Diagn Cytopathol.* 1999 Feb;20(2):90-4. PubMed PMID: 9951605.

85: Boccato P, Mannarà GM, La Rosa F, Rinaldo A, Ferlito A. Hyalinizing trabecular adenoma of the thyroid diagnosed by fine-needle aspiration biopsy. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2000 Feb;109(2):235-8. PubMed PMID: 10685580.

86: Chetty R, Beydoun R, LiVolsi VA. Paraganglioma-like (hyalinizing trabecular) adenoma of the thyroid revisited. *Pathology*. 1994 Oct;26(4):429-31. PubMed PMID: 7892044.

87: LiVolsi VA, Gupta PK. Thyroid fine-needle aspiration: intranuclear inclusions, nuclear grooves and psammoma bodies--paraganglioma-like adenoma of the thyroid. *Diagn Cytopathol*. 1992;8(1):82-3; discussion 83-4. PubMed PMID: 1551372.

88: Carney JA, Ryan J, Goellner JR. Hyalinizing trabecular adenoma of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol*. 1987 Aug;11(8):583-91. PubMed PMID: 2441614.

89: Hirokawa M, Carney JA, Ohtsuki Y. Hyalinizing trabecular adenoma and papillary carcinoma of the thyroid gland express different cytokeratin patterns. *Am J Surg Pathol*. 2000 Jun;24(6):877-81. PubMed PMID: 10843292.

90: McCluggage WG, Sloan JM. Hyalinizing trabecular carcinoma of thyroid gland. *Histopathology*. 1996 Apr;28(4):357-62. PubMed PMID: 8732345.

91: Martin-Lacave I, Gonzalez-Campora R, Moreno Fernandez A, Schez Gallego F, Montero C, Galera-Davidson H. Mucosubstances in medullary carcinoma of the thyroid. *Histopathology*. 1988 Jul;13(1):55-66. PubMed PMID: 3209191.

92: Grosfeld JL, Ballantine TV, Lowe D, Baehner RL. Benign and malignant teratomas in children: analysis of 85 patients. *Surgery*. 1976 Sep;80(3):297-305. PubMed PMID: 960000.

93: Lecomte-Houcke M, Parent M, Carnaille B, Baranzelli MC, Chauvet-Hogedez G, Proye C, Dupont A. [Primary malignant teratoma of the thyroid. Two cases involving immunohistochemical and ultrastructural studies]. *Ann Pathol*. 1992;12(1):12-9. French. PubMed PMID: 1580935

94: Thompson LD, Rosai J, Heffess CS. Primary thyroid teratomas: a clinicopathologic study of 30 cases. *Cancer*. 2000 Mar 1;88(5):1149-58. PubMed PMID: 10699906.

95: Kooijman CD. Immature teratomas in children. *Histopathology*. 1988 May;12(5):491-502. PubMed PMID: 3397045.

96: Staunton MD, Greening WP. Clinical diagnosis of thyroid cancer. *Br Med J*. 1973 Dec 1;4(5891):532-5. PubMed PMID: 4800743; PubMed Central PMCID: PMC1587522.

97: Aozasa K, Tsujimoto M, Sakurai M, Honda M, Yamashita K, Hanada M, Sugimoto A. Non-Hodgkin's lymphomas in Osaka, Japan. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1985 Apr;21(4):487-92. PubMed PMID: 4007017.

98: Derringer GA, Thompson LD, Frommelt RA, Bijwaard KE, Heffess CS, Abbondanzo SL. Malignant lymphoma of the thyroid gland: a clinicopathologic study of 108 cases. *Am J Surg Pathol*. 2000 May;24(5):623-39. PubMed PMID: 10800981.

99: Thieblemont C, Mayer A, Dumontet C, Barbier Y, Callet-Bauchu E, Felman P, Berger F, Ducottet X, Martin C, Salles G, Orgiazzi J, Coiffier B. Primary thyroid lymphoma is a heterogeneous disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Jan;87(1):105-11. PubMed PMID: 11788631.

100: Robbins AW, Peacock JA. Case report: cervical thymoma. *J Med Soc N J.* 1985 Mar;82(3):221-4. PubMed PMID: 3856686.

101: Maiorana A, Collina G, Cesinaro AM, Fano RA, Eusebi V. Epithelioid angiosarcoma of the thyroid. Clinicopathological analysis of seven cases from non-Alpine areas. *Virchows Arch.* 1996 Oct;429(2-3):131-7. PubMed PMID: 8917714.

102: Thompson LD, Wenig BM, Adair CF, Shmookler BM, Heffess CS. Primary smooth muscle tumors of the thyroid gland. *Cancer.* 1997 Feb 1;79(3):579-87. Review. PubMed PMID: 9028371.

103: Andrion A, Bellis D, Delsedime L, Bussolati G, Mazzucco G. Leiomyoma and neurilemoma: report of two unusual non-epithelial tumours of the thyroid gland. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1988;413(4):367-72. PubMed PMID: 3140480.

104: Nguyen TT, Schwartz EJ, West RB, Warnke RA, Arber DA, Natkunam Y. Expression of CD163 (hemoglobin scavenger receptor) in normal tissues, lymphomas, carcinomas, and sarcomas is largely restricted to the monocyte/macrophage lineage. *Am J Surg Pathol.* 2005 May;29(5):617-24. PubMed PMID: 15832085.

105: Nakhjavani MK, Gharib H, Goellner JR, van Heerden JA. Metastasis to the thyroid gland. A report of 43 cases. *Cancer.* 1997 Feb 1;79(3):574-8. PubMed PMID: 9028370.

106: Willis RV, 1981, Metastatic Tumors in the Thyroid Gland, Am j pathol 7: 188-208

107: Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, Biddinger PW, Nikiforov YE. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. Am J Surg Pathol. 2006 Feb;30(2):216-22. PubMed PMID: 16434896.

108: : Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations. Am J Clin Pathol. 2003 Jul;120(1):71-7. PubMed PMID: 12866375

109:

108: Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, Zhu Z, Giannini R, Salvatore G, Fusco A, Santoro M, Fagin JA, Nikiforov YE. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. J Clin Endocrinol Metab. 2003 Nov;88(11):5399-404. PubMed PMID: 14602780.

109: Ohori NP, Nikiforova MN, Schoedel KE, LeBeau SO, Hodak SP, Seethala RR, Carty SE, Ogilvie JB, Yip L, Nikiforov YE. Contribution of molecular testing to thyroid fine-needle aspiration cytology of "follicular lesion of undetermined significance/atypia of undetermined significance". Cancer Cytopathol. 2010 Feb 25;118(1):17-23. PubMed PMID: 20099311

110. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW 2nd, Tallini G, Kroll TG, Nikiforov YE. RAS point mutations and PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. J Clin Endocrinol Metab. 2003 May;88(5):2318-26. PubMed PMID: 12727991.

111: Marques AR, Espadinha C, Catarino AL, Moniz S, Pereira T, Sobrinho LG, Leite V. Expression of PAX8-PPAR gamma 1 rearrangements in both follicular thyroid carcinomas and adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Aug;87(8):3947-52. PubMed PMID: 12161538.

112: Castro P, Rebocho AP, Soares RJ, Magalhães J, Roque L, Trovisco V, Vieira de Castro I, Cardoso-de-Oliveira M, Fonseca E, Soares P, Sobrinho-Simões M. PAX8-PPARgamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Jan;91(1):213-20. Epub 2005 Oct 11. PubMed PMID: 16219715

113: Esapa CT, Johnson SJ, Kendall-Taylor P, Lennard TW, Harris PE. Prevalence of Ras mutations in thyroid neoplasia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999 Apr;50(4):529-35. PubMed PMID: 10468914.

114: Di Cristofaro J, Marcy M, Vasko V, Sebag F, Fakhry N, Wynford-Thomas D, De Micco C. Molecular genetic study comparing follicular variant versus classic papillary thyroid carcinomas: association of N-ras mutation in codon 61 with follicular variant. *Hum Pathol.* 2006 Jul;37(7):824-30. Epub 2006 May 19. PubMed PMID: 16784981.

115: Meko JB, Norton JA. Large cystic/solid thyroid nodules: a potential false-negative fine-needle aspiration. *Surgery.* 1995 Dec;118(6):996-1003; discussion 1003-4. PubMed PMID: 7491545

116: de.. los Santos ET, Keyhani-Rofagha S, Cunningham JJ, Mazzaferri EL. Cystic thyroid nodules. The dilemma of malignant lesions. *Arch Intern Med.* 1990 Jul;150(7):1422-7. PubMed PMID: 2196027

