

T.C

Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

**Tiroid Papiller Karsinomları, Lenf Nodu
Metastazı ve Multifokalite Odaklarında Klasik
Belirteçlerin (CK19, HBME-1, GALEKTİN-3,
TTF-1) ve EpCAM ile PCNA Ekspresyonunun
Değerlendirilmesi**

Dr.Feyza DALTABAN

Uzmanlık Tezi

Danışman

Yrd.Doç.Dr.İlyas SAYAR

ERZİNCAN-2017

T.C

Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

**Tiroid Papiller Karsinomları, Lenf Nodu
Metastazı ve Multifokalite Odaklarında Klasik
Belirteçlerin (CK19, HBME-1, GALEKTİN-3,
TTF-1) ve EpCAM ile PCNA Ekspresyonunun
Değerlendirilmesi**

Dr.Feyza DALTABAN

Uzmanlık Tezi

Danışman

Yrd.Doç.Dr.İlyas SAYAR

ERZİNCAN-2017

İÇİNDEKİLER

ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
RESİMLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Embriyoloji.....	3
2.2. Anatomi.....	3
2.3. Fizyoloji.....	4
2.4. Nodüler Hiperplazi.....	8
2.4.1. Makroskopik özellikler.....	8
2.4.2. Mikroskopik özellikler.....	8
2.4.3. Ayırıcı tanı.....	8
2.5. Folliküler Adenom.....	9
2.5.1. Makroskopik özellikler.....	9
2.5.2. Mikroskopik özellikler.....	9
2.5.3. Ayırıcı tanı.....	10
2.6. Tiroid Karsinomları.....	10
2.6.1. Tiroid papiller karsinom.....	11
2.6.1.1. Epidemiyoloji.....	11
2.6.1.2. Etiyoloji.....	11
2.6.1.3. Klinik.....	12
2.6.1.4. Makroskopik özellikler.....	13

2.6.1.5. Mikroskopik özellikler.....	13
2.6.1.6. Mikroskopik varyantlar.....	16
2.6.1.7. Yayılım ve metastaz.....	18
2.6.1.8. Derecelendirme ve prognoz.....	18
2.6.1.9. Ayırıcı tanı.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. İmmünohistokimyasal boyama ve immünohistokimyasal belirteçler.....	21
3.2. İmmünohistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi.....	24
3.3. İstatistiksel değerlendirme.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR.....	62

ONAY

Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanlığımız “Tiroid Papiller Karsinomları, Lenf Nodu Metastazı ve Multifokalite Odaklarında Klasik Belirteçlerin (CK19, HBME-1, GALEKTİN-3, TTF-1) ve EpCAM ile PCNA Ekspresyonunun Değerlendirilmesi ” konulu tezin araştırma görevlisi Feyza DALTABAN tarafından çalışılmasını uygun görmüştür. Tez konusu Erzincan Üniversitesi etik kurulu tarafından 06.06.2017 tarih ve 8/01 nolu karar ile görüşülmüş olup uygun bulunmuştur.



TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve yetişmemde büyük emeği geçen başta tez hocam Yrd. Doç. Dr. İlyas SAYAR'a, Yrd. Doç. Dr. Mecdi Gürhan BALCI'ya, Yrd. Doç. Dr. Mahir TAYFUR'a ve Yrd. Doç. Dr. Ferda KESKİN ÇİMEN'e; asistanlığımın son yılında, birlikte çalışmış olmaktan mutlu olduğum ve tezimin her aşamasından bana yardım etmekten çekinmeyen Uzm. Dr. Ayşe Gül GÜLAY'a; buradan güzel anılarla ayrılmamı sağlayan, tez çalışmamda ve eğitim sürem boyunca bana gösterdikleri iyi niyet ve desteklerinden dolayı başta asistan arkadaşım Dr. Dila AYERDEN olmak üzere, tüm patoloji laboratuvarı teknisyenleri ve personeline; tezimin istatistik çalışmasındaki yardımları için Yrd. Doç. Dr. Sara SALCAN ve Arş. Gör. Yusuf Kemal ARSLAN'a; hayatımın bütün aşamalarında olduğu gibi bu süreçte de daima yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürler.

1.ÖZET

Tiroid Papiller Karsinomları, Lenf Nodu Metastazı ve Multifokalite Odaklarında Klasik Belirteçlerin (CK19, HBME-1, GALEKTİN-3, TTF-1) ve EpCAM ile PCNA Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Tiroid karsinomları en sık görülen malign endokrin tümörlerdir. Tüm kanserlerin yaklaşık %1'ini, kansere bağlı ölümlerin ise % 0,2'sini oluştururlar. Son zamanlarda tiroid papiller karsinomlarında belirgin bir artış meydana gelmiştir. Çalışmamızda, tiroid papiller karsinomlarında ve lenf nodu metastazı ile multifokalite odaklarında tanısal ve prognostik açıdan önem arz eden immünohistokimyasal olarak yeni ipuçları elde etmeyi amaçladık. Unifokal tiroid papiller karsinom ile tiroid papiller karsinom (TPK) primer tümör odağı ve lenf nodu metastazı/ multifokalite odağı arasında klasik belirteçler yanı sıra Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) ve Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistokimyasal boyanma ile değerlendirilmeye alındı.

Yirmi altı unifokal TPK ile 25 lenf nodu metastazı/ multifokalite odağı içeren TPK olgusu histopatolojik açıdan gözden geçirildikten sonra, uygun bloklara sitokeratin-19 (CK-19), Hector Battifora mesothelial-1 (HBME-1), Galectin-3 (Gal-3), Thyroid transcription factor-1 (TTF-1) ile EpCAM ve PCNA immunohistokimyasal çalışma uygulandı. Boyanma skorları ilgili gruplar istatistiksel açıdan kendi aralarında karşılaştırıldı.

CK-19, HBME-1 ve PCNA boyanma skoru açısından olgu grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Gal-3 boyanma skorunun, lenf nodu metastazı odağında primer tümör odağına göre anlamlı olarak azaldığı izlendi. ($p<0.05$) TTF-1 boyanma skoru multifokalite odağında buna ait primer tümör odağına göre anlamlı olarak diffüz ve şiddetli gözlemlendi. ($p<0.05$) EpCAM boyanma skoru , multifokalite odağında, buna ait tümörün primer odağına göre anlamlı olarak membranöz ekspresyon kaybı gösterdi. ($p<0.05$)

Bu çalışmada, gruplar arasında CK-19, HBME-1 ve PCNA açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamadı. Gal-3' ün, lenf nodu metastazı odağında primer tümör odağına göre ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığı izlendi.

Gal-3' ün ekspresyonunun azalmasının lenf nodu metastazı ile ilişkili olabileceği düşünöldü. TTF-1, multifokalite odağında buna ait tümörün primer odağına göre istatistiksel olarak anlamlı sonuç verdi. Multifokalite odağında boyanma skoru daha yüksek olan TTF-1' in sınırda anlamlı olması sebebiyle daha fazla olgu içeren çalışmalarla desteklenmesi önerilir. EpCAM' ın, multifokalite odağında primer tümör odağına göre anlamlı membranöz ekspresyon kaybı izlendi. Daha geniş kapsamlı çalışmalarla EpCAM, tiroid malignitelerinde lenf nodu metastazı, multifokalite ve diğer prognostik faktörler için yararlı bir belirteç olabilir. Gal-3' ün ekspresyonunun azalmasının lenf nodu metastazı ile ilişkili olabileceği savunuldu.

Anahtar Kelimeler: Tiroid papiller karsinom, lenf nodu metastazı, multifokalite, immunohistokimya, EpCAM, PCNA.

2.ABSTRACT

Evaulation of PCNA, EpCAM and classical markers (CK19, HBME-1, GALECTIN-3, TTF-1) expression in thyroid papillary carcinom, lymph node metastasis and multifocalities.

Thyroid carcinomas are the most seen malignant endocrin tumors. These are including 1% of all cancers, 0,2% of cancer-related deaths. In last times, a marked increase has occurred in thyroid papillary carcinomas (TPC). In our study, we aimed obtain new hints as immunohistochemistry that exhibits importance diagnostic and prognostically in thyroid papillary carcinomas, the metastasis of lymph node and in the multifocal areas. Evaulation was made Epithelial cell adhesion molecul (EpCAM) and Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemical staining as well as the classic markers between primary tumor area and lymph node metastasis/ multifocal area of thyroid papillary carcinoma with unifocal thyroid papillary carcinoma.

After histopathological reviewing 26 unifocal TPC with TPC cases including 25 lymph node metastasis/ multifocal area, Cytokeratin 19 (CK-19), Hector Battifora mesothelial-1 (HBME-1), Galectin-3 (Gal-3), Thyroid transcription factor-1 (TTF-1) with EpCAM and PCNA immunohistochemical staining were applied to convenient paraffin blocks. The scores of staining were compared statistically between the relevant groups.

There was not dedected significant difference statistically between cases groups for CK-19, HBME-1 and PCNA staining scores. It was observed that the Gal-3 staining score decreased meaningfully in focus of lymph node according to the focus of primary tumor ($p<0.05$). The statistical results were seen as diffuse and severe in the multifocal area of TTF-1 staining score according to focus of primary tumor ($p<0.05$). EpCAM staining score was showed significantly the missing of membranous expression in the multifocal area according to focus of primary tumor ($p<0.05$).

In this study, There was not found meaningful difference statistically for CK-19, HBME-1 and PCNA between groups. It was observed that the expression of Gal-3 decreased meaningfully in the focus of lymph node according to focus of primary tumor. It has been though that the decreation of expression of Gal-3 may be related to lymph node metastasis. TTF-1 was gave statistically meaningful result according to focus of primary tumor in the

multifocal area. It is suggested that TTF-1, which has a higher staining score in the multifocal area, should be supported by studies with more cases because of its significance at the border. It was observed that the membranous expression of EpCAM decreased meaningfully in the multifocal area according to focus of primary tumor. With more extensive studies, EpCAM may be a useful marker for lymph node metastasis, multifocality and other prognostic factors in thyroid malignancies.

Keywords: Thyroid papillary carcinoma, lymph node metastasis, multifocality, immunohistochemistry, EpCAM, PCNA.



TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Cinsiyet ile olgu gruplarının karşılaştırılması.....	28
Tablo 2. Yaş ile olgu gruplarının karşılaştırılması.....	28
Tablo 3. Tümör çapı ile olgu gruplarının karşılaştırılması.....	29
Tablo 4. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının CK-19 immunohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması.....	30
Tablo 5. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının HBME-1 immunohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması.....	31
Tablo 6. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının Gal-3 immunohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması.....	33
Tablo 7. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının TTF-1 immunohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması.....	35
Tablo 8. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının EpCAM immunohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması.....	36
Tablo 9. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının PCNA immunohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması.....	37
Tablo 10. Çalışılan TPK-UF olgularının İHK'sal boyanma alanı yüzdesine göre skorları....	38
Tablo 11. Çalışılan TPK-UF olgularının İHK'sal boyanma yoğunluğuna göre skorları.....	39
Tablo 12. Çalışılan TPK-MF/LN metastazı olgularının İHK'sal boyanma alanı yüzdesine göre skorları.....	40
Tablo 13. Çalışılan TPK-MF/LN metastazı olgularının İHK'sal boyanma yoğunluğuna göre skorları.....	42

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. TPK' un papiller yapısal patern (H&E, X40).....	44
Resim 2. Papiller karsinomun nükleer özellikleri (H&E, X100).....	44
Resim 3. Papiller karsinom lenf nodu metastazı (H&E, X100).....	45
Resim 4. TPK-AV' de CK-19 boyanma skoru 12 olan olgu (X100).....	45
Resim 5. TPK-LN' de CK-19 boyanma skoru 12 olan olgu (X100).....	46
Resim 6. TPK-MF' de CK-19 boyanma skoru 9 olan olgu (x100).....	46
Resim 7. TPK-AV' de HBME-1 boyanma skoru 9 olan olgu (X40).....	47
Resim 8. TPK-UF' de HBME-1 boyanma skoru 9 olan olgu (X200).....	47
Resim 9. TPK-MF' de HBME-1 boyanma skoru 12 olan olgu (X200).....	48
Resim 10. TPK-LN' de HBME-1 boyanma skoru 12 olan olgu (X200).....	48
Resim 11. TPK-AV' de Gal-3 boyanma skoru 12 olan olgu (X100).....	49
Resim 12. TPK-UF' de Gal-3 boyanma skoru 12 olan olgu (X200).....	49
Resim 13. TPK-LN' de Gal-3 boyanma skoru 9 olan olgu (X200).....	50
Resim 14. TPK-AV' de Gal-3 boyanma skoru 12 olan olgu (X200).....	50
Resim 15. TPK-AV' de TTF-1 boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	51
Resim 16. TPK-LN' de TTF-1 boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	51
Resim 17. TPK-LN' de EpCAM boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	52
Resim 18. TPK-MF' de EpCAM boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	52
Resim 19. TPK-AV' de EpCAM boyanma skoru 7 olan olgu (X100).....	53
Resim 20. TPK-MF' de EpCAM boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	53
Resim 21. TPK-UF' de PCNA boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	54
Resim 22. TPK-MF' de PCNA boyanma skoru 6 olan olgu (X100).....	54
Resim 23. TPK-LN' de PCNA boyanma skoru 6 olan olgu (X200).....	55

KISALTMALAR

CK-19.....	Sitokeratin-19
DSÖ.....	Dünya Sağlık Örgütü
EpCAM.....	Epithelial cell adhesion molecule
EpEX.....	EpCAM hücre dışı alan
EP-ICD.....	EpCAM hücre içi alan
GAL-3.....	Galectin-3
HBME-1.....	Hector Battifora mesothelial-1
H&E.....	Hematoksilen&Eozin
İİAB.....	İnce iğne aspirasyon biyopsisi
PCNA.....	Proliferating cell nuclear antigen
T3.....	Triiodotironin
T4.....	Tiroksin
TPK.....	Tiroid Papiller Karsinom
TPK-AV.....	Tiroid Papiller Karsinom-Ana Vaka
TPK-LN.....	Tiroid Papiller Karsinom-Lenf Nodu
TPK-MF.....	Tiroid Papiller Karsinom-Multifokal
TPK-UF.....	Tiroid Papiller Karsinom-Unifokal
TRH.....	Tirotropin Releasing Hormon
TSH.....	Tiroid Stimulan Hormon
TTF-1.....	Thyroid Transcription Factor-1

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid papiller karsinom, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, belirgin nükleer özellikler ile karakterize follikül epitel hücresi kökenli bir malign epitelyal tümör olarak tanımlanmıştır (1,2). Tüm tiroid malignitelerinin yaklaşık %80'ini oluşturur (1,3). Kadınlarda erkeklere oranla 4 kat daha sık görülür ve ortalama görülme yaşı 20-50'dir (1,4).

Tiroid papiller karsinomları tanısında Hematoksilin&Eozin (H&E) boyalı kesitlerin incelenmesi hala altın standarttır. Fakat, her tiroid nodülünde konvansiyonel tekniklerle sonuca ulaşmak mümkün olmayabilir. Bu tür olgularda, deneyimli endokrin patologlar arasında bile tanısal karmaşa yaşandığı bilinmektedir (5). Rutin pratikte, tanısal farklılıkları azaltmak ve maligniteyi belirlemek için immünohistokimyasal ve moleküler belirleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu anlamda en çok kullanılan ve evrensel belirleyiciler olarak kabul edilen CK-19, HBME-1 ve Gal-3'dür (6-12). Bu üçlü immünohistokimyasal belirteçlerin birlikte kullanılmasıyla % 90'a varan tanısal doğruluk oranına ulaşıldığı öne sürülmektedir (6,13-15).

TTF-1 tiroid ve akciğer dokusunun gelişmesi için gerekli bir nükleer transkripsiyon faktörü olup, anaplastik tip dışında tiroid karsinomunun tüm tiplerinde eksprese edildiği gözlenmiştir (16).

EpCAM, psödostratifiye ve transizyonel epitelin bazolateral yüzeyinde bulunan bir epitelyal transmembran proteindir (16). EpCAM'ın hücre yapışması, çoğalması, farklılaşması, göçü ve hücre döngüsü regülasyonunda önemli rol aldığı gösterilmiştir. Ayrıca malignitelerde ekspresyonunun arttığı gözlenmiş olup, EpCAM'ın aşırı ekspresyonu kötü prognoz ve yüksek rekürrens riski ile kuvvetli korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (17,18).

PCNA, hücre döngüsünde replikasyon sırasında DNA sentezi için gerekli olan DNA polimeraz-delta'nın kofaktörü olan bir nükleer proteindir (19). DNA polimeraz deltanın, DNA replikasyonunda rolü olduğu ve hücre siklusunda düzenleyici bir protein olduğu kabul edilmektedir. Nükleusun G1 fazında salınımı baslar, S fazında maksimuma ulaşır ve G2, M fazında ise azalmaya başlar (20,21). Sentezi, hücre proliferasyonu ile koreledir (19). PCNA, papiller tiroid karsinomların moleküler karsinogenezisi ile ilişkili olup (BRAF protein overekspresyonu) aşırı ekspresyonunun artmış malignite ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (22,23).

Bu çalışmada tiroid papiller karsinom tanılı 26 olgu ile tiroid papiller karsinom ve lenf nodu metastazı/ multifokalite odakları var olan 25 olguda hem primer tümör odakları hem de metastaz odaklarında klasik belirteçlerin (CK-19, HBME-1, GAL-3, TTF-1) yanı sıra EPCAM ve PCNA belirteçlerinin ekspresyonunun değerlendirilmesi ele alındı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Embriyoloji

Tiroid bezi, ftal hayatta sindirim kanalı endoderminin baş bölgesinden gelişmekte olup (24), farinks tabanında, daha sonra foramen çekum adını alacak olan bir noktada epitelyal bir proliferasyon şeklinde ortaya çıkar (25). Bu oluşum sferik şekilli iken, faringeal barsağın önünden iki loblu bir divertikül halinde aşağı iner. Aşağı doğru olan bu gç esnasında tiroglossal duktus atrofiye uğrar ve bireylerde % 40 oranında kalıntı olarak piramidal lob oluşur (25,26). 7. haftada trakeanın önündeki son konumunu kazanan tiroid bezi, küçük median bir istmus ve iki adet lateral lobdan oluşmaktadır. 3. ayın sonunda kolloid içeren ilk folliküllerin görünür hale gelmesi ile fonksiyon görmeye başlar (25). Folliküler hücrelerden tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3), parafolliküler veya C hücrelerinden de kalsitonin salgılanır (25).

2.2. Anatomi

Normal yetişkin tiroidi, iki büyük lob ve bu lobları birleştiren ince bir istmustan oluşmaktadır. Lateral lobların her biri 2-2.5 cm genişlikte, 5-6 cm uzunlukta ve 2 cm derinliktedir. Üst kısımları uca doğru sivrilen üst pol, alt kısımları künt bir şekilde biten alt pol olarak adlandırılır (26). İnce fibröz kapsülle çevrili olan bu organ yetişkin bayanlarda 18 gr, erkeklerde 15 gr ağırlığındadır (27).

Tiroid genellikle 1 ile 4. trakeal halkalar arasında yerleşip, sağ ve sol lobları trakeayı nden kısmen çevreler. Lateralinde ise sternokleidomastoid kası ve karotis kılıfı yer alır. Yzeyelden derine doğru; deri, sperfişyal fasya, derin boyun fasyasının yüzeyel tabakası ve bu tabakanın örtmüş olduğu sternokleidomastoid kası, omohyoid kası sternohyoid ve sternotiroid kasları (strap kasları) tarafından örtülüdür. Arkada ise özafagus ve trakea ile sınırlanmıştır (28,29).

Tiroidin kanlanması primer olarak inferior tiroid arter ve süperior tiroid arter ile sağlanır. İnfior tiroid arter subklavyan arterin tiroservikal trunkusundan köken alırken, superior tiroid arter eksternal karotid arterden köken alır (27,30,31). Thyroidea ima arteri, arcus aortadan köken alır ve bazen bulunur (32).

Tiroidin venleri tiroid yüzeyinde pleksus oluşturarak süperior, medial ve inferior tiroidal venlere dökülürler. Süperior ve medial tiroid venler internal juguler

vene, inferior tiroid venler tiroid kapsülündeki venöz pleksus aracılığıyla brakiosefalik vene drene olur (30-32)

Tiroidin lenfatik drenajı supkapsüler bir pleksus aracılığı ile parakapsüler bölge, pretrakeal alan, internal juguler ve rekürren sinir komşuluğundaki lenf bezlerine olur. Trakeanın önünde palpe edilen, istmusun üzerindeki lenf bezine “Delphian Nodu” denir. Genellikle malignite veya tiroidit ile birlikteliği vardır (28).

Tiroidin innervasyonunu üst ve orta servikal sempatik gangliyonlardan gelen lifler ve laringeal sinirlerin dalları ile gelen parasempatik lifler sağlar (27,32). Servikal sempatik gangliyonlardan gelen sinirler interfoliküler adrenerjik sinir terminallerinden noradrenalin salgılar. Parasempatik sinir liflerinin ise tiroid fonksiyonunda rolü olduğu düşünülmektedir (27).

2.3. Fizyoloji

Tiroidin folliküler hücrelerinden tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3), parafolliküler veya C hücrelerinden de kalsitonin salgılanır (25).

T3 ve T4 sekresyonu anterior hipofizden salgılanan tiroid stimulan hormonun (TSH) kontrolündedir. TSH uyarısı ile T3 ve T4 salınımını uyarırken, kandaki T3 ve T4 artışı hipofizden negatif feed-back ile TSH salınımını suprese eder. TSH salınımı ise hipotalamustan salgılanan TRH'ın (tirotropin releasing hormon) kontrolündedir. T3 ve T4 sekresyonunun artmasıyla metabolizma hızı %60-100 oranında artabilir, salgının ortadan kalkması ile metabolizma hızı normalin yarısına kadar düşer.

Tiroid bezinden salgılanan hormonun %90'ını T4, %10'u T3'tür. Fakat T4'ün hemen hemen tamamı dokularda T3'e dönüştürülür.(T4'ün T3'e deiyodinizasyonu) Bu işlevsel olarak her ikisi de önemlidir. İşlevleri nitelik yönünden aynı olmakla birlikte etkinin hızı ve şiddeti yönünden farklılık gösterirler. T3, T4'ün yaklaşık dört katı güçte olmakla birlikte kanda daha az miktarda olup yarılanma ömrü çok daha kısadır (33).

Tiroid bezinin fizyolojik anatomisi: Tiroid bezi kolloid denilen bir salgı maddesi ile dolu olan çok sayıda folliküllerden oluşur. Bu folliküler 100-300 mikron çapında olup, follikül içine salgı yapan kübik epitel hücreleri ile çevrilidir. Kolloidin

ana bileşeni, tiroid hormonlarını kapsayan büyük bir glikoprotein olan tiroglobulindir (33).

TİROİDİN NONNEOPLASTİK LEZYONLARI

1. GELİŞİMSEL ANOMALİLER (4,10,34)

1.1. Disgenezi

- a) Agenezi
- b) Hemiagenezi
- c) Hipoplazi
- d) Heterotopi/ Ektopi

Dil kökü (lingual tiroid)

İnfrahyoid, submandibular, prelaringeal, mediasten, özofagus, perikardial, diafram, parafaringeal

Duodenum duvarı, safra kesesi, porta hepatis bölgesi, adrenal gland, tuba uterina, vajina, over (struma ovarii)

1.2. Tiroglossal duktus anomalileri

Tiroglossal duktus kisti

1.3 İsthmus anomalileri

1.4. Piramidal lob anomalileri

1.5. İntratiroidal paratiroid, timus, tükrük bezi, çizgili kas demetleri, matür kıkırdak adaları

2. TİROİDİTLER (4, 34)

2.1. Akut tiroidit

2.2. Granülomatöz tiroidit

- a) Subakut granülomatöz tiroidit (de Quervain tiroiditi)
- b) Palpasyon tiroiditi
- c) Tüberküloz
- d) Fungal enfeksiyon
- e) Sarkoidoz

2.3. Kronik tiroidit

- a) Kronik lenfositik tiroidit (Hashimoto tiroiditi)

Klasik varyant

Fibröz varyant

Fibröz atrofik varyant

Haşitoksikozis

Juvenil varyant

- b) Postpartum tiroidit
- c) Sessiz (ağrısız) tiroidit
- d) Peritümoral tiroidit
- e) Fokal lenfositik tiroidit
- f) İnvaziv fibröz tiroidit (Riedel tiroiditi)

3. HİPERPLAZİLER (34)

3.1. Diffüz Hiperplazi (Graves Hastalığı)

3.2. Nodüler Hiperplazi

- a) Multinodüler guatr
- b) Endemik guatr
- c) Dishormonogenetik guatr
- d) Toksik (hiperfonksiyone) multinodüler guatr

4. DİĞERLERİ

4.1. Amiodaron kullanımına bağlı hipotiroidizm ve tirotoksikoz

4.2. Minoksiklin ilişkili değişiklikler (Siyah tiroid)

4.3. Radyasyon sonrası değişiklikler

4.4. Amiloidoz

4.5. İnce iğne aspirasyonu sonrası değişiklikler

TİROİDİN NEOPLASTİK LEZYONLARI (1)

1. TİROİD ADENOMU VE İLİŞKİLİ TÜMÖRLER

1.1. Folliküler Adenom

- a) Onkositik adenom
- b) Hiperfonksiyone (toksik-sıcak) adenom
- c) Papiller hiperplazili folliküler adenom
- d) Adenolipom (lipoadenom)
- e) Taşlı yüzük hücreli folliküler adenom

- f) Şeffaf hücreli folliküler adenom
- g) Bizaar nükleuslu folliküler adenom
- h) Atipik folliküler adenom
- ı) Siyah adenom

1.2. Hyalinize trabeküler tümör

2. TİROİD KARSİNOMLARI

- 2.1. Papiller karsinom
- 2.2. Folliküler karsinom
- 2.3. Az differansiye karsinom
- 2.4. İndifferansiye (Anaplastik) karsinom
- 2.5. Yassı epitel hücreli karsinom
- 2.6. Mukoepidermoid karsinom
- 2.7. Eozinofiller içeren mukoepidermoid karsinom
- 2.8. Müsinöz karsinom
- 2.9. Medüller karsinom
- 2.10. Medüller-folliküler mikst karsinom
- 2.11. Fusiform hücreli tümör (timus tipi differansiye)
- 2.12. Karsinom (timus tipi differansiye)

3. DİĞER TİROİD TÜMÖRLERİ

- 3.1. Teratom
- 3.2. Primer lenfoma ve plazmasitoma
- 3.3. Ektopik timoma
- 3.4. Anjiosarkom
- 3.5. Düz kas tümörleri
- 3.6. Periferik sinir kılıfı tümörleri
- 3.7. Paraganglioma
- 3.8. Soliter fibröz tümör
- 3.9. Folliküler dentritik hücreli tümör
- 3.10. Langerhans hücreli histiyositozis
- 3.11. Sekonder tümörler (Metastatik tümörler)

2.4. NODÜLER HİPERPLAZİ

En sık görülen tiroid hastalığı olmakla birlikte adenomatöz hiperplazi, adenomatoid nodül ve kolloidal nodül olarak da isimlendirilmektedir (4,34).

İyot eksikliği olan bölgelerde daha sık görülür (34). Klinikte, % 3-5 oranında görülürken otopsi serilerinde bu oran % 50' lere çıkmaktadır. Kadınlarda erkeklere oranla 8 kat daha sık görülür (4).

Genetik ve çevresel faktörler, ilaç kullanımı, sigara içimi etiyojide yer almaktadır (34).

Çoğu hasta asemptomatik olup nodüller rastlantısal olarak fark edilir. Nodül içine kanama olduğunda tiroid bezinde ani büyüme izlenebilir. Hastalar genellikle ötiroid olmakla birlikte az sayıda hastada hipertiroidi semptomları görülebilir (34).

2.4.1. Makroskopik özellikler

Tiroid bezi büyümüştür, genellikle 200 gramın altında olup nadiren 1000 gramın üzerine çıkar (34). Vakalardaki nodüllerin boyutları değişkenlik gösterebilir. Bazen tek, çoğu zaman çok sayıda nodül izlenmektedir. Kesit yüzü kolloidten zengin nodüler görünüme sahiptir. Parsiyel kapsül, hemoraji, fibrozis, kistik dejenerasyon ve kalsifikasyon içerebilir (34).

2.4.2. Mikroskopik özellikler

Nodüller hipersellülerite, az miktarda kolloid, mikrofolliküler ve solid büyüme paterni gibi özellikler barındırıyorsa adenomatöz nodül; hiposellülerite, belirgin kolloid gibi özellikler barındırıyorsa kolloidal nodül olarak adlandırılır. Nodüller, parsiyel kapsül içerirler bazen tümüyle fibröz bir kapsülle çevrilidir. Böyle nodüller folliküler adenom veya karsinom ile ayırıcı tanıya girer. Bazı nodüllerde hemoraji alanları, fibrozis, köpüksü makrofajlar, hemosiderin yüklü makrofajlar, kolesterol yarıkları ve kalsifikasyonlar görülebilir (34).

2.4.3. Ayırıcı tanı

Folliküler adenom ile çok sayıda nodül varlığı, parsiyel enkapsülasyon ya da kapsülün olmayışı, değişken sellülerite, nodül içerisindeki büyüme paterni, çevre tiroid dokusu ile benzer histolojik özellikler, bol kolloid ve çevre tiroid parankimine bası olmayışı ile ayrılır (34).

Papiller karsinom ile nüklear özelliklerin yokluğu ile ayrılır. Nodüler hiperplazi de papiller yapı içerebildiğinden ayrımı yapılmalıdır. Şüpheli olgularda immünohistokimyasal çalışma yardımcı olabilir (34).

2.5. FOLLİKÜLER ADENOM

En sık görülen tiroid neoplazmı olmakla birlikte nonneoplastik nodüllerden ayrımı zor olduğundan gerçek insidansı bilinmemektedir (1,4,34). Kadınlarda erkeklere göre 4-5 kat daha sık görülür (34).

Çoğu sporadik olmasına rağmen radyasyon maruziyeti, iyot eksikliği ve kolesterol düşürücü ajanlar etiyolojide risk faktörü olarak yer almaktadır (34).

Ağrısız, palpasyon veya USG inceleme ile rastlantısal olarak saptanan lezyonlardır. oğunluğu asemptomatik olup, nodül içine spontan, İİAB'si veya palpasyon sonrası gelişen kanama varlığında ağrı ve hassasiyet olabilir (1). Palpasyonla genellikle hissedilir, boyna fikse değildir ve tiroid ile birlikte hareket eder (34).

USG'de iyi sınırlı, periferinde hipoekoik halosu izlenebilen, solid, hiper-izo-hipoekoik homojen kitle olarak görülürler (34).

2.5.1. Makroskopik  zellikler

Genellikle soliter olup evre parankimden fibröz bir kapsüle ayrılır. Renkleri hücresellik, kolloid miktarı, kanama varlığı gibi durumlara göre değişir. Hipersellüler olanlar açık gri-beyaz renkte; kolloidden zengin olanlar ten rengi ve kahverenkte görülür. Kapsülün düzensiz olduğu alanlara dikkat edilmeli ve nodül çok büyük değilse perifer kısmı tamamen örneklenmelidir (34).

2.5.2. Mikroskopik  zellikler

Foliküler hücrelerden oluşan, komplet enkapsüle ve evre parankimden kolaylıkla ayırt edilebilen lezyonlardır. Kapsül ince veya orta kalınlıkta olup kalsifikasyon ve miksoid dejenerasyon içerebilir. Kapsülün kalın olması folliküler karsinom açısından Őüphe uyandırmalıdır (34). Genellikle solid, trabeküler, makro-normo-mikrofollik ler büyüme paterni gösterirler (4,34). Lümendeki kolloid bazen konsantrik lamellasyon göstererek psammom cismine benzeyebilir. Bu yapıya ps dopsammom cismi denir ve onkositik adenomlarda daha sık görülür (34).

Adenomlar tipik olarak küboidal ve poligonal şekilli hücrelerden oluşur. Sitoplazma kısmen geniş, soluk, eozinofilik veya amfofiliktir. Nükleus bazal yerleşimli, küçük, yuvarlak, uniform, hiper ya da normokromatiktir. Stroma tipik olarak azdır ve kapiller damar bakımından zengindir. Skuamöz, osseöz, kartilaginöz metaplazi, fibrozis, kalsifikasyon gibi sekonder değişiklikler izlenebilir (34).

2.5.4. Ayırıcı tanı

Foliküler karsinomdan kapsüler ya da vasküler invazyon olmayışı ile ayırt edilir. Lezyonun Gal-3, HBME-1 ve CITED1 ile negatif oluşu adenom tanısı lehinedir (34).

Enkapsüle foliküler varyant papiller karsinomdan papiller karsinomun nükleer özelliklerinin olmayışı ile ayırt edilir. Şüpheli vakalarda Gal-3, HBME-1 ve CITED1 immünohistokimyasal çalışması yardımcı olabilir (34).

Medüller karsinomla ayırımında tiroglobulinin pozitif oluşu, kalsitonin, monoklonal CEA (Carcinoembryonic antigen) ve kromograninin negatifliği adenom lehinedir. TTF-1 ise her ikisinde de pozitifdir (34).

Metastatik adenokarsinomda tiroglobulin ve TTF-1 (akciğer adenokarsinomları hariç) ayırıcı tanıda yardımcıdır (34).

Intratiroidal paratiroid adenomu veya hiperplazisi ile ayırmda TTF-1, tiroglobulin ve paratiroid hormon (PTH) fayda sağlayacaktır (34).

2.6. TİROİD KARSİNOMLARI

Tiroid karsinomları en sık görülen malign endokrin tümörlerdir. Tüm kanserlerin yaklaşık %1'ini, kansere bağlı ölümlerin ise % 0,2'sini oluştururlar (1,4). Tüm dünyada her yıl yaklaşık 122.000 yeni vaka görülmektedir (1).

Hücre tipine göre üç kategoride incelenirler (4);

- 1- Folliküler hücre differansiyasyonu gösteren tümörler
- 2- C hücre differansiyasyonu gösteren tümörler
- 3- Folliküler ve C hücre differansiyasyonu gösteren tümörler

Tiroid karsinomlarının çoğunluğu folliküler hücre differansiyasyonu gösteren tümörler grubunda olup bunların büyük bir kısmı papiller karsinomlardır (4).

2.6.1. Tiroid papiller karsinom

Tiroid papiller karsinom, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, belirgin nükleer özellikler ile karakterize follikül epitel hücresi kökenli bir malign epitelyal tümör olarak tanımlanmıştır (1,2).

2.6.1.1. Epidemiyoloji

Tiroid papiller karsinom, tüm tiroid malignitelerinin % 80'ini oluşturur (1,3). Kadınlarda 4 kat daha sık görülür ve ortalama görülme yaşı 20-50'dir (1,4). 15 yaşından önce nadir görülmekle birlikte pediatrik tiroid maligniteleri içerisinde en sık görülen tiptir. Sağkalımı 45 yaş altı hastalarda % 90' ın üzerindedir.

İnsidansı, dünya genelinde yükselmekle birlikte mortalite oranı azalmaktadır. Otopside ve tiroidektomi materyallerinde insidental papiller karsinom odaklarının prevalansı % 5-35 arasındadır. Klinik olarak saptanan tümör insidansı otopsilere göre daha azdır (1).

2.6.1.2. Etiyoloji

Radyasyon: Etiyolojisinde en önemli faktör baş-boyun ve toraksa uygulanan radyasyondur. Olguların % 5-10'unda boyuna radyasyon öyküsü mevcuttur (4). Radyasyon dozu ile karsinom gelişme riski korelasyon gösterir (1,10). Çernobil nükleer kazası ve Hiroşima' ya atılan atom bombası sonrası yakın bölgelerde yaşayanlarda, özellikle çocuklar olmak üzere, papiller tiroid karsinom insidansında artış görülmüştür (1,2,4,35).

İyot: İyottan zengin diyet bir başka potansiyel risk faktörüdür. İzlanda, Japonya ve Pasifik adaları gibi diyetinde yüksek iyot alımı olan bölgelerde papiller karsinom insidansı yüksektir (34).

Benign tiroid bezi hastalıkları: Papiller karsinom ile kronik lenfositik tiroidit(Hashimoto) ve Graves hastalığı arasındaki ilişki tartışmalıdır. Bu iki hasta popülasyonunun, cerrahi olarak çıkarılmış tiroid bezlerinde beklenenden yüksek papiller karsinom sıklığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, yapılan birçok çalışmada kanser riski ile ilişki kurulamamıştır. Hashimoto tiroiditinde durum daha da karmaşıktır. Şiddetli inflamasyondan etkilenen epitel hücrelerindeki reaktif değişiklikler papiller karsinom ile ayırt edilmelidir (34).

Genetik Faktörler: Papiller karsinom gelişme riski, tiroid kanseri hastalarının birinci derece yakınları arasında genel popülasyona göre 5-9 kat daha fazladır. Papiller karsinomların yaklaşık % 5' i aileseldir. Ailevi kanser oluşumu iki şekildedir: Birincisi bilinen kalıtsal multikanser sendromlarının bir bileşeni, ikincisi izole tiroid kanseri olan ailelerde görülendir. Birinci grupta ailesel adenomatöz polipozis, Carney kompleksi, Werner sendromu, papiller renal hücreli karsinom yer almaktadır (34).

Moleküler patolojiler: Papiller karsinomlarda en sık görülen moleküler patolojiler BRAF gen mutasyonu, RET/PTC rearanjmanları, RAS genini etkileyen nokta mutasyonlarıdır.(34)

2.6.1.3. Klinik

Hastalar genellikle boyun ön tarafta unilateral ya da bilateral gelişen ağrısız şişlik, tiroid bezinde palpabl nodül ya da total büyüme nedeniyle başvurmaktadır (34,36). Ayrıca disfaji, ses kısıklığı, nefes darlığı gibi lokal semptomlar da izlenebilir. Hastaların %27'inde servikal lenf nodlarında büyüme hastalığın ilk belirtisi olabilir. Bazı olgular tamamen asemptomatik olup, başka nedenlerle yapılan görüntüleme yöntemleri ile insidental olarak tiroid nodülü saptanır. Tiroid fonksiyon testleri tipik olarak normal sonuç verir (1,34,37).

Tiroide uygulanan radyoizotop taramalarında tipik olarak soğuk nodül olarak görülürler (34,38). Ultrasonografik incelemede tipik olarak belirsiz sınırlı, hipoeoik ya da izoeoik solid nodül olarak görülür. Kistik değişiklikler izlenebilir. Servikal lenf nodlarında internal nodülarite, kistik değişiklikler ve mikrokalsifikasyon izlenebilir (34).

Renkli dopplerde noktasal mikrokalsifikasyonlar (psammom cisimciklerine karşılık gelir) ve nodül içerisindeki yüksek santral kan akışı tiroid papiller karsinomda sık görülmektedir (34). Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme gibi diğer görüntüleme yöntemleri, substernal kitleleri değerlendirmek, ekstratiroidal yayılımı ve servikal lenf nodunun boyutunu belirlemek için kullanılabilir (34,39).

Tiroid papiller karsinomlar genellikle lenf nodu metastazı yaparlar, bunun yanı sıra %2-5 oranında uzak metastazı da görülür (34,39). Uzak metastazı genellikle

akciğerlerde(%70) olmak üzere nadiren de kemik ve yumuşak dokuda izlenebilir (34).

2.6.1.4. Makroskopik özellikler

Tiroid papiller karsinomlar, irregüler kenarları olan iyi sınırlı nodüllerdir. Kapsül tipik olarak yoktur. Ancak foliküler varyantlar iyi sınırlı ya da enkapsüle olabilirler. Boyutları değişken olmakla birlikte 1cm'den küçük ya da birkaç cm çapında görülebilirler (1,37). Kesit yüzü bronz-kahverengi ya da gri-beyaz, irregüler, sıkı, solid ya da kistik değişiklikler içeren alanlarıyla daha gevrek kıvamda olabilir. Irregüler şekilli beyaz alanlar daha çok fibrozis varlığında görülür. Kanama odakları, nekroz ve kalsifikasyonlar nadiren izlenir (37). Belirgin kistik değişiklikler, olguların %10'unda görülür. Bazen papiller yapılar çıplak gözle seçilebilir (4).

Tümörün multifokalitesi yaygındır. Diffüz skerozan varyant papiller karsinomda, ayrı bir nodül olmaksızın tiroidte diffüz değişiklikler görülebilir (37).

Metastatik lenf nodları büyümüş ve solid görünümde izlenebilirken, kahverenkte hemorajik sıvıyla dolu kistik alanlar da içerebilir (37).

2.6.1.5. Mikroskopik özellikler

Karakteristik mikroskopik özellikleri; büyüme paterni, nükleer özellikleri, psammom cisimcikleri ve tümör fibrozisidir, ancak sadece nükleer özellikler tanı için gereklidir (37).

- 1. Yapısal Patern:** Tipik papiller karsinom kolaylıkla tanınan ve başlangıçta tümörü isimlendirmek üzere seçilen bir özellik olan çok sayıda gerçek papiller yapılar içerir (4). Tümörlerin yaklaşık üçte ikisinde papiller büyüme paterni baskındır, diğer üçte birlik kısmında foliküler patern baskındır. Diğer büyüme paternleri solid ve trabeküler olup %20 vakada görülmektedir (40). Papillalar sentral fibrovasküler kora sahip, bazıları hobnail (kabara çivisi) özellikler gösterebilen tek sıralı veya stratifiye küboidal hücrelerle dōşeli parmak benzeri çıkıntılardır. Stroması ödemli veya hyalinize olabilir; lenfosit, köpüksü makrofaj ve hemosiderin içerebilir (4,37). Tümör hücreleri genellikle nonneoplastik tirositlerden büyük olup; geniş, soluk, eozinofilik stoplazmaya sahiptir (37).

2. Nükleer özellikler: Papiller büyüme paterni önemli bir tanısal özelliktir. Ancak papiller karsinom tanısı papiller yapıdan ziyade(çok az olabilir veya hiç olmayabilir) nükleer özelliklerin bulunmasına bağlıdır (4). Başlıca nükleer özellikler şunları içerir:

- a) Nükleer irileşme/büyüme: Papiller karsinom hücrelerinin nükleusları, nonneoplastik tiroid hücre nükleuslarından 2 veya 3 kat daha büyüktür. Boyutları 30-50 mikronmetrekareden 97-110 mikronmetrekareye yükselir (34).
- b) Nükleer kalabalıklaşma ve üst üste binme: Nükleus/ sitoplazma oranındaki artış üst üste binme, nükleer kalabalıklaşma ve nükleuslarda polarizasyon kaybına sebep olur. Papilla uçları, üst üste binmiş hücreler nedeniyle “taç” ya da “göller” şeklinde görünür ve bu görünüm, “yumurta sepeti” şeklinde de tarif edilir (1,34).
- c) Kromatin berraklaşması: Nükleer kromatinin nükleus sınırları boyunca dağılması mikroskopik incelemede berrak nükleus ve kalınlaşmış nükleer membran şeklinde görülür. Bu bulgu buzlu cam görünümü ya da “Orphan Annie gözü” olarak adlandırılır (4,41). Bu görünüm parafine gömülü materyalden elde edilen kesitlerde görülür. Ancak frozen kesitlerde ve sitoloji materyalinde yoktur veya daha az belirgindir. Formalin, bu görünümü sağlayan en iyi fiksatördür (4).
- d) Nükleer kontur düzensizliği: Nükleuslar elonge, oval şekilli, asimetric, irregüler konfigurasyonda, oldukça düzensiz, “fare yeniği” şekilli nükleer membrana sahiptir. Bu bulgular, nükleer konturların ultramikroskopik düzeydeki belirgin düzensizliğinin yansıması olarak görülür (37).
- e) Nükleer çentiklenme (“Groove”): Nükleusun uzun eksenine boyunca ayırık bir katlantı şeklinde görülür. Bu katlantı lineer ve düzenli (“kahve çekirdeği” görünümü) ya da eğimli ve düzensiz (“patlamış mısır” görünümü) de olabilir (34). Bu görünüm irregüler nükleer membran kıvrımının morfolojik yansımasıdır (4).
- f) Nükleer pseudoinklüzyonlar: Nükleer membrandaki invajinasyon sırasında nükleer membranın bir parça sitoplazmayı da nükleus içerisine sürüklemesiyle oluşur. Pseudoinklüzyon, nükleus içinde belirgin kalın bir nükleer membranla çevrili, yuvarlak asidofilik vakuoller şeklinde görülür. Papiller karsinom vakalarının %50’sinde tespit edilmiştir (4,34). Buzlu cam

özelliğinin aksine frozen kesitlerde ve aspirasyonlarda da belirgindir. Muhtemel takip artefaktı olarak görülen kabarcıklardan ayırt edilmelidir. Bu kabarcıklar, nükleusların çoğunu etkiler ve tek bir nükleusta çok sayıda olma eğilimindedir (4).

- 3. Psammom Cisimcikleri:** Tuz benzeri anlamına gelmektedir. Papiller karsinomların %40-50'sinde gözlenen kalsifikasyonlardır. Gerçek psammom cisimcikleri yuvarlak ya da sferik şekilli, kalsiyum birikimi konsantrik olmalı ve follikül lümeninde bulunmamalıdır (34). Papillaların sapında, fibröz stromada veya solid odakta tümör hücreleri arasında yerleşebilir (4). Tek ya da küçük bir grup tümör hücrelerinin santralinde kalsiyum birikmesi için bir nidus yapısı oluşturduğu düşünülmektedir (34). Bir tiroid glandında bulunması kuvvetle papiller karsinomu düşündürür, diğer tiroid lezyonlarında çok nadir görülür (4). Hiçbir tümör hücresi yokken görülmesi daha önceden var olan tümör hücrelerinin yerini belirten “mezar taşını” temsil ettiği düşünülmektedir (34).
- 4. Tümör fibrozisi:** Fibrozis, hücreden fakir sklerotik tip ve daha az sıklıkla sellüler olan desmoplastik tip olarak görülür. Tanı için spesifik olmamakla birlikte papiller karsinomlarda foliküler neoplazilere göre daha sık gözlenmesi ayırıcı tanıda önemlidir. Kapsüllü foliküler bir nodülde belirgin fibrozis olması papiller karsinom foliküler varyantı desteklemektedir. Bu yüzden makroskopik incelemede fibrotik görünümlü tüm bölgelerin örneklenmesi gereklidir (34).
- 5. Diğer mikroskopik özellikler:** Neoplastik foliküler içindeki kolloid daha koyu ve eozinofiliktir (1,34).

Papiller karsinomların %20'sinde skuamöz metaplazi görülür (4,40).

Olguların dörtte birinde lenfositik infiltrasyon görülür. Bunun tümöre reaksiyon olarak mı gerçekleştiği yoksa önceden bulunan tiroiditin ekspresyonu mu olduğu açık değildir (4).

Multinükleer dev hücreler sıklıkla neoplastik foliküllerin lümeninde ya da papillalar arasında görülebilir (4,34). Bu muhtemel kolloid sızıntısına karşı cevabı temsil etmektedir (4).

Mitoz çok az veya yoktur (4). Her 10 büyük büyütme alanında <1-2 mitoz görülür. Mitotik aktivitenin yüksek olması az diferansiye tiroid karsinomu olma ihtimalini artırır (34).

2.6.1.6. Mikroskopik varyantlar

- 1. Papiller mikrokarsinom:** Çapı 1 cm veya daha küçük olan papiller karsinom varyantıdır. Başka nedenlerle çıkarılmış tiroid glandlarında ve popülasyon tabanlı otopsi çalışmalarında %25 veya daha fazla rastlanan insidental bir bulgudur. Erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektedir (4). Genellikle 0.1-0.3 cm boyutlarında olup; papiller, foliküler ya da mikst paterne sahip kapsüllü, düzgün sınırlı ya da infiltratif sınırlı olabilir (1). Servikal nod metastazı ile birlikte olabilir ancak, uzak metastazı çok nadirdir. Prognozu genellikle iyidir (4).
- 2. Foliküler varyant:** Papiller karsinomların %15-20'sini oluşturan bu varyantın tanısı; papiller yapı içermemeleri, baskın olarak foliküler patern göstermeleri ve papiller karsinomun nükleer özelliklerini taşımalarıyla konur. Klasik papiller karsinomdan farklı olarak total ya da parsiyel kapsül içerebilirler. Farklı boyutlarda ya da monoton irregüler kenarlı foliküllerden oluşur (1,34). Kolloid daha koyu eozinofilik olup, kolloidde periferik yenikleşme görülür. Fibrozis, psammom cisimcikleri ve foliküller içinde multinükleer dev hücre görülebilir. Klasik nükleer özellikler ve immünohistokimyasal yöntemle foliküler adenom ile ayırıcı tanıya gidilebilir (1,34,35).

Kapsüllü foliküler varyant; total kapsül varlığı ile karakterizedir. Kapsül invazyonu, papiller formasyon, psammom cisimciklerinin tipik olarak olmaması tanıda sıkıntı yaratmaktadır. Tanı nükleer özelliklerin varlığı ile konur fakat, bazı tümörlerde bu nükleer özellikler fokal alanlarda görülür (34). Çernobil Patoloji Grubu belirgin nükleer değişikliklerin olduğu lezyonlar için “papiller tiroid karsinomu, foliküler varyant”, şüpheli nükleer değişikliklerin olduğu lezyonlar için kesin kapsül invazyonu varsa “iyi differansiye karsinom, NOS”, kapsül invazyonu şüpheli ise “malignite potansiyeli belirsiz iyi differansiye tümör, WDT-UMP” tanımlamalarının kullanılmasını önermiştir (4).

Diffüz (Multinodüler) foliküler varyant; genç bayanlarda görülen tek loba ya da ikisine birden multifokal yayılımla karakterizedir (4,42). Vasküler invazyon ve ekstratiroidal yayılım tipik olarak izlenir (1,34).

Makrofolliküler varyant; makrofolliküller (200 mikronmetre ya da daha büyük) nodülün %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır (1,34,43). Tiroid papiller karsinomun nükleer özelliklerini fokal ya da diffüz bir şekilde içerirler (1,44).

- 3. Diffüz sklerozan varyant:** Bir veya her iki tiroid lobunun diffüz tutulumu, yoğun sklerotik fibrozis, bol psammom cisimciği, yaygın solid odaklar, skuamöz metaplazi ve yoğun lenfositik infiltrasyon ile karakterizedir (1,4,34,35). Ekstratiroidal yayılım ve lenf nodu metastazı sıktır, klasik papiller karsinomdan daha agresiftir (1,34).
- 4. Onkositik (hurthle hücreli) varyant:** Tiroid papiller karsinomun nükleer özellikleri yanı sıra tümör hücreleri geniş, yoğun eozinofilik, granüler sitoplazma ile karakterizedir (1,4,34). Foliküler veya papiller büyüme paterni izlenebilir (4,35).
- 5. Tall cell (uzun hücreli) varyant:** Geniş asidofilik sitoplazmalı, tek sıralı yüksek hücrelerle (uzunluğu genişliğinin en az 3 katı) döşeli papillalarla karakterize bir papiller karsinom tipidir. Bu özellikler tümörün en az % 50'sinde olmalıdır (1,4,45). Bu varyant yaşlı hastalarda daha sık olma eğiliminde olup, ekstratiroidal yayılımı ve uzak metastazı daha sıktır. Klinik gidişi daha agresiftir (1,4,34,45).
- 6. Kolumnar hücreli varyant:** Belirgin nükleer stratifikasyonun izlendiği, sitoplazması eozinofilik ya da şeffaf olan kolumnar hücrelerle karakterize varyanttır (1,4,34). Erken sekresyon fazındaki endometriumu andıran subnükleer vakuoller izlenir ve bu vakuoller PAS(+), diastaz sensitif, müsikarmin(-)' dir (46). Papiller, foliküler, solid, kribriform büyüme paterni veya kombinasyonlarını içermektedir (34).
- 7. Kribriform-morular varyant:** Bu varyant, ilk olarak Familial Adenomatosis Poliposis olgularında tanımlanmıştır (1,34). Kribriform büyüme paterni ve morular formasyonlarla karakterizedir. Bu alandaki bazı hücrelerde biyotin neden olduğu nükleer berraklaşma izlenebilir. Psammom cisimcikleri seyrek (47,48).
- 8. Solid varyant:** Geniş alanlarda (>%50) solid, trabeküler ya da insuler patern içeren ve papiller karsinomun tipik nükleer özellikleri ile karakterize varyanttır (1,34,35).

- 9. Clear cell varyant:** Papiller karsinomun nükleer özelliklerini içeren şeffaf sitoplazmalı hücrelerden oluşan varyanttır (1,34,35).
- 10. Wartin-benzeri varyant:** Onkositik sitoplazmalı ve papiller karsinomun nükleer özelliklerini gösteren, yoğun lenfositik infiltrasyonla karakterize bir varyanttır. Bu mikroskopik görünüm, tükrük bezinin Wartin tümörü ile benzerlik gösterir (1,34,49).
- 11. Hobnail özellikler gösteren papiller karsinom:** Papiller karsinomların yaklaşık %0.2'sini oluşturan kabara çivisi görünümündeki hücrelerle karakterize varyanttır (50).
- 12. Fasiit-benzeri stroma içeren papiller karsinom:** Nodüler fasiiti taklit eden bol miktarda selüler stroma ile karakterize, nadir görülen bir varyanttır (51).

2.6.1.7. Yayılım ve metastaz

Papiller karsinom, vakalarının %22-35'inde multifokal olarak görülür (34,40). Bu durum, tek bir tümörün intraglandüler yayılımı olabileceği gibi birbirinden bağımsız multipl primer tümörleri de temsil edebilir (34,52).

Lenfatik kanallar yoluyla tümörün intraglandüler yayılımı sıktır (%27-78). Bunun aksine kan damarı invazyonu nadir görülür (vakaların yaklaşık %7'si). İlk tanı anında, bölgesel lenf nodu metastazları %30-50 ve uzak metastazlar %2-5 civarındadır (34). Lenf nodu metastazlarında kistik değişiklikler yaygındır (4,34). Uzak metastazlar en çok akciğerde olmakla birlikte kemiklerde, yumuşak dokuda, santral sinir sisteminde, pankreas, meme ve diğer pek çok organda da gelişebilir (4). BRAF mutasyonları hem lenf nodu, hem de uzak metastazla ilişkili bulunmuştur (4).

Ekstratiroidal yayılım, tümörün tiroid kapsülünü penetre ederek bitişik fibroadipoz dokuya veya iskelet kasına yayılımını ifade eder. Daha ileri invazyon tanımı tekrarlayan laringeal sinir ve trakeayı içerebilir. BRAF pozitif papiller karsinomlarda sıktır. Ekstratiroidal yayılım önemli bir prognostik faktör ve bazı tümör evreleme sistemlerinde önemli bir parametredir (34).

2.6.1.8. Derecelendirme ve prognoz

Papiller karsinomlar, iyi diferansiye tümör olduklarından derecelendirme yapılmamalıdır. Az diferansiye tiroid kanserleri solid, trabeküler veya insuler büyüme paternine sahiptir. Papiller karsinomun karakteristik nükleer özelliklerini

kaybeler ve sıklıkla tümör nekrozu ve artmış mitotik aktivite ile birliktelik gösterirler (34,53).

Prognoz genellikle mükemmeldir. Sağkalım % 90' ı bulmaktadır. Belli faktörler prognozu kötüleştirebilir. Boyut, ekstratiroidal invazyon, bölgesel lenf bezi metastazı, vasküler invazyon, uzak metastaz, yaş, cinsiyet, grade, sağaltım boyutu ve morfolojik bulgular (kapsüllü, uzun hücreli, silindirik hücreli, diffüz sklerozan ve hurthle hücreli tip) prognozu etkileyen faktörlerdir (54).

2.6.1.9. Ayırıcı tanı

Papiller karsinomun tanısı klasik nükleer özelliklerin varlığı ile konulmaktadır (34,55). Benign lezyonlardan bazıları papiller tiroid karsinomların nükleer özelliklerini ve büyüme paternini taklit ederek ayırıcı tanıda zorluk oluşturabilir (55).

Papiller Yapılı Tümörler

Papiller yapılar, foliküler adenom ve non-neoplastik hiperplazilerde de görülebilir. Ancak bu papillalar ince ve iyi gelişmiş fibrovasküler kora sahip değildir. Dahası, bazale yerleşmiş, düzgün konturlu, yoğun kromatin içeren, küçük, yuvarlak nükleuslu epitel hücreleri ile kaplanmıştır (34).

Seyrek görülen metastatik karsinomlarda da papiller yapı izlenebilir. En yaygın böbrek, akciğer ve meme orjinlidir. Tümör bilateral, multifokal, kolloid ve psammom cisimcikleri içermemesi metastatik karsinomu düşündürmelidir. Bu durumda TTF-1 ve tiroglobulin immünohistokimyasal çalışması yararlı olabilir (34).

Foliküler Yapılı Tümörler

Papiller karsinomun foliküler varyantı, özellikle kapsüllü olduğunda foliküler adenom veya hiperplastik nodülden ayırt edilmelidir. Foliküler karsinom ise kapsül veya vasküler invazyon görüldüğünde ayırıcı tanıya girer. Bu durumlarda papiller karsinomun karakteristik nükleer özellikleri önem arz eder. Eğer iyi gelişmemişlerse teşhiste zorlanılabilir. İmmünohistokimyasal olarak Galektin-3, HBME-1 ve CITED1 (Cbp/P300 Interacting Transactivator with Glu/Asp Rich Carboxy-Terminal Domain 1)'in diffüz ve güçlü boyanması papiller karsinom ile foliküler karsinomu ayırt etmese bile malignite lehinedir (34). Moleküler olarak

BRAF mutasyonları ve RET/PTC rearanjmanları tiroid papiller karsinom, RAS mutasyonları foliküler paternli tiroid lezyonları lehinedir (4,34).

Metastatik renal hücreli karsinom psödofoliküler patern sergilemesi sebebiyle ayırıcı tanıya girebilir. Papiller karsinomun karakteristik özellikleri ve kolloid oluşumu çoğu zaman teşhisi kolaylaştırır. Daha zorlayıcı durumlarda immünohistokimyasal ve moleküler çalışmalardan yararlanılabilir (34).

Solid, Trabeküler ve İnsular Yapılı Tümörler

Tiroid papiller karsinom solid varyant, kötü diferansiye tiroid karsinomlarından ayırt edilmelidir. Her iki tümörde solid, trabeküler ve insular büyüme paternine sahip olup biyolojik davranışları ve prognozu büyük ölçüde farklıdır. Ayırımı papiller karsinomun nükleer özelliklere sahip olması, nekroz ve yüksek mitotik aktivite içermemesi ($\geq 3 / 10$ HPF) ile yapılır (53).

Medüller karsinom, berrak hücreler izlendiğinde ayırıcı tanıya girer. Kalsitonin ve tiroglobulin immünohistokimyasal çalışması ile tanıya gidilebilir (34).

Yoğun Fibrozisli Tümör

Fasiit benzeri stromaya sahip papiller karsinomda görüldüğü gibi geniş fibrozlu tümörler, iğsi hücre paternine sahip anaplastik tiroid karsinomundan ayırt edilmelidir. Ayırım, papiller karsinom odaklarında, belirgin nükleer atipi, nekroz ve yüksek mitotik aktivite olmaması ile yapılır (34).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan tiroidektomi/lobektomi ve/veya santral/boyun disseksiyonu yapılmış olan biyopsi materyallerinde ya da konsültasyon amacıyla gönderilmiş bloklarda tanı almış olgular kullanıldı. Unifokal tiroid papiller karsinomlu 26 olgu ile multifokal/lenf nodu metastazı var olan TPK'lu 25 olgu değerlendirmeye alındı.

Hematoksilen&Eozin (H&E) kesitleri ışık mikroskopunda tekrar incelenerek tanımlar doğrulandı. Lezyonu temsil eden en uygun nitelikteki lamalar seçildi.

3.1. İmmünohistokimyasal boyama ve immünohistokimyasal belirteçler

Papiller karsinom tanısı için morfolojik değerlendirme genellikle yeterlidir. Ayırıcı tanı ve tümörün foliküler kökenli olduğunu göstermek için immünohistokimyadan yararlanılabilir. Tiroglobulin ve TTF-1, tümörün folliküler orjinli olduğunu gösterir. Tiroglobulin daha spesifik olup, sitoplazma ve kolloidte diffüz boyanma paternine sahiptir (1,34,35).

Sitokeratin boyanma paterni normal tiroid hücreleri ile aynıdır. CK7, CAM 5.5, AE1/AE3 pozitif, CK20 negatiftir. Kalsitonin, CEA ve nöroendokrin markerlar negatiftir (34).

Papiller karsinomu benign lezyonlardan ayırmak için CK19, HBME-1, Gal-3, ve CİTED1 immünohistokimyasal markerlar kullanılabilir (34). Ancak en sık kullanılan CK19, HBME-1, Gal-3'tür. Bu üç marker "malignitenin evrensel belirteçleri" olarak tanımlanmaktadır (6,13). Pek çok çalışmada farklı duyarlılık ve seçicilik değerlerine sahip olduğu bildirilen bu belirteçler birlikte kullanıldığında, %90'a varan tanısal doğruluk oranına ulaşıldığı ileri sürülmektedir (14,15,56).

Çalışmamızda seçilen lamlara ait parafin bloklar, blok arşivinden çıkarılıp pozitif yüklü lamalar üzerine 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Lamalar 70 C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinizasyonu sağlandı. Deparafinizasyon sonrası preparatların tümü boyanma işlemi için tam otomatik bir immünohistokimya cihazına (Leica Bond-Max, Melbourne, Avustralya) yerleştirildi. Tüm bloklara CK-19, HBME-1, Gal-3, TTF-1, EpCAM ve PCNA immünohistokimyasal boyaları uygulandı. İHK boyamalarda pozitif kontrol kullanıldı.

İmmünohistokimyasal boyama için mouse antihuman Keratin 19 (Clone RCK 108, kullanıma hazır), mouse antihuman HBME-1 (Clone HBME-1, kullanıma hazır), mouse antihuman Galectin-3 (Clone 9C4, kullanıma hazır), mouse antihuman TTF-1 (Clone 8G7G3/1, 1/100 dilüsyon), mouse antihuman EpCAM (Clone C-10, 1/100 dilüsyon), mouse antihuman PCNA (Clone PC10, 1/50 dilüsyon) uygulandı.

Sitokeratin-19 (CK-19):

Heterojen bir grup olan intermediyer filaman proteinlerinden 40 kDa ağırlığa sahip sitokeratin ailesinin düşük molekül ağırlıklı bir üyesi olarak tanımlanmıştır (7,57). CK-19, epitelyal hücrelerin yapısal sağlamlığından sorumludur (15). Spesifitesi düşük olan bu marker, panel içinde kullanıldığında anlamlıdır (34). Tiroid papiller karsinomlarda diffüz güçlü sitoplazmik boyanma gösterir (13). Bunun dışında reaktif tiroid folikül epitelinde, lenfositik ve granülomatoz tiroiditlerde, Hashimoto tiroiditinde, hiperplastik nodüllerde ve daha önceki İİAB (ince iğne aspirasyon biyopsisi) işlemine sekonder dejenarasyon alanları yanı sıra foliküler adenom ve foliküler karsinom vakalarında fokal, zayıf nitelikte pozitiflik gösterebilir (6,13,56).

Hector Battifora Mezotelyal-1 (HBME-1):

HBME-1, mezotelyal hücre yüzeyindeki mikrovilluslara karşı geliştirilmiş ve daha sonraları malign tiroid tümörlerinin saptanmasında başvurulan monoklonal bir antikordur. Beklenen boyanma paterni sitoplazmik ve/veya hücrenin apikalinde membranöz boyanmadır. Birçok araştırmacı tarafından tiroid papiller karsinomlarda duyarlılığı ve seçiciliği yüksek bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Fakat CK-19 pozitifliği saptanan non-neoplastik lezyonlar, HBME-1 ile ya hiç boyanmamış ya da fokal zayıf boyanma izlenmiştir (58,59). Normal tiroid dokusunda ve benign tiroid lezyonlarında negatif olmasına rağmen foliküler adenom ve nodüler guatr olgularında pozitif olduğu çalışmalar bildirilmiştir (8).

Galektin-3 (Gal-3):

Hücre adezyonu ve hücrenin diğer fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alan lektin bağlayıcı beta galaktozidaz ailesinin bir üyesidir (34,60). Kolorektal ve

meme kanserlerinde down-regülasyona uğrarken tiroid malignitelerinde aşırı üretimi mevcuttur (58). Olguların çoğunda diffüz sitoplazmik boyanma izlenirken (61), bazı çalışmalarda orta derecede veya zayıf boyanma gösterebileceği belirtilmiştir (56). Tiroidin benign lezyonlarında Gal-3 ile boyanmanın olduğunu ileri süren çalışmalar mevcut olup (58), çok az ya da hiç boyanma olmadığını belirten çalışmalarda bulunmaktadır (61).

Tiroid Transkripsiyon Faktörü-1 (TTF-1):

Nkx2 gen ailesinin üyesi olan TTF-1, embriyogenez sırasında tiroid, diensefalon ve respiratuar epitelyumda transkripsiyon aktivasyonunda rol oynar (62). Bu DNA bağlayıcı protein ilk olarak timositlerde daha sonra pnömositlerde tanımlanmıştır. Anaplastik tip dışında, tiroid kansinomlarının bütün tiplerinde eksprese edilir (16). Hemen hemen tüm vakalarda güçlü ve dağınık nükleer boyanma göstermektedir. TTF-1, folikül hücreleri dışında akciğer tümörleri, küçük hücreli kansinomlar, medüller tiroid kansinomunda da pozitifdir (34).

Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM):

Çoğu normal epitel dokusunda bazolateral membranda eksprese edilen ve birçok kanserde de aşırı eksprese olan tip 1 transmembran glikoproteinidir. İlgili EpCAM geni, 289 amino asit uzunluğunda bir hücre dışı (EpEX) alan ve 26 amino asitlik kısa hücre içi (EpICD) alandan oluşan 40 kDa'lık bir protein kodlar (63). EpCAM'ın hücre yapışması, çoğalması, farklılaşması, göçü ve hücre döngüsü regülasyonunda önemli rol aldığı gösterilmiştir. Ayrıca malignitelere ekspresyonunun arttığı gözlenmiş olup, aşırı ekspresyonunun kötü prognoz ve yüksek rekürrens riski ile kuvvetli korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (17,18). Epitelyal hücrelerde membranöz, sitoplazmik ve/ veya nükleer boyanma görülebilir (17).

Proliferatif Cell Nuclear Antigen (PCNA):

Hücre döngüsünde replikasyon sırasında DNA sentezi için gerekli, DNA polimeraz-delta'nın kofaktörü olan 262 aminoasit sekanslı, 36 kDa ağırlığında bir nükleer proteindir (19-21). DNA polimeraz deltanın, DNA replikasyonunda rolü olduğu ve hücre siklusunda düzenleyici bir protein olduğu kabul edilmektedir. Nükleusun G1 fazında salınımı baslar, S fazında maksimuma ulaşır ve G2, M fazında ise azalmaya

başlar (20,21). Sentezi, hücre proliferasyonu ile koreledir (19). PCNA, iki çeşit boyanma paternine sahip olabilir. Granüler boyanma replizoma bağlı PCNA kaynaklı iken, sitoplazmik boyanma mitotik hücrede saptanmaktadır (64). PCNA, tiroid kanseri, göğüs kanseri, pankreas kanseri ve astrositomlar gibi birçok kanserde aşırı eksprese edilir (22). Papiller tiroid karsinomların moleküler karsinogenezisi ile ilişkili olup (BRAF protein overekspresyonu) aşırı ekspresyonunun artmış malignite ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (22,23).

3.2. İmmünohistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi

Değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda (Olympus BX53, Tokyo, Japonya) yapıldı. CK-19 ve Gal-3 için sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma, HBME-1 için sitoplazmik ve/veya hücrenin apikalinde membranöz boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her bir preparat için elde edilen boyanma alanı ve boyanma yoğunluğu derecesi çarpılarak “boyanma skoru” olarak kaydedildi (56,65). İstatistiksel çalışmalar CK-19, HBME-1 ve Gal-3 için bu skor üzerinden yapıldı.

Hücrelerin boyanma alanı yüzdesi “0”, “1”, “2”, “3” ve “4” olarak skorlandı (56,65,66):

- **0:** < % 10 hücrede boyanma
- **1:** % 10-25 hücrede boyanma
- **2:** % 26-50 hücrede boyanma
- **3:** %51-75 hücrede boyanma
- **4:** > 76 hücrede boyanma

Pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğu “0”, “1”, “2” ve “3” olarak derecelendirildi (56,65):

- **0:** Hiç boyanma yok
- **1:** zayıf
- **2:** orta
- **3:** güçlü

TTF-1 için nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her bir preparat için elde edilen boyanma alanı ve boyanma yoğunluğu derecesi toplanarak “boyanma

skoru” olarak kaydedildi (67). İstatistiksel çalışmalar TTF-1 için bu skor üzerinden yapıldı.

Hücrelerin boyanma alanı yüzdesi “0”, “1”, “2” ve “3” olarak skorlandı:

- **0:** Hiç boyanma yok
- **1:** < % 25 hücrede boyanma
- **2:** % 25-50 hücrede boyanma
- **3:** % >50 hücrede boyanma

Pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğu “0”, “1”, “2” ve “3” olarak derecelendirildi:

- **0:** Hiç boyanma yok
- **1:** zayıf
- **2:** orta
- **3:** güçlü

EpCAM için sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her bir preparat için elde edilen boyanma alanı ve boyanma yoğunluğu derecesi toplanarak “boyanma skoru” olarak kaydedildi (17,68,69). İstatistiksel çalışmalar EpCAM için bu skor üzerinden yapıldı.

Hücrelerin boyanma alanı yüzdesi “0”, “1”, “2”, “3” ve “4” olarak skorlandı:

- **0:** < % 10 hücrede boyanma
- **1:** % 10-30 hücrede boyanma
- **2:** % 31-50 hücrede boyanma
- **3:** % 51-70 hücrede boyanma
- **4:** > % 70 hücrede boyanma

Pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğu “0”, “1”, “2” ve “3” olarak derecelendirildi:

- **0:** Hiç boyanma yok
- **1:** zayıf
- **2:** orta
- **3:** güçlü

PCNA için nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her bir preparat için elde edilen boyanma alanı ve boyanma yoğunluğu derecesi toplanarak “boyanma skoru” olarak kaydedildi. İstatistiksel çalışmalar PCNA için bu skor üzerinden yapıldı.

Hücrelerin boyanma alanı yüzdesi “0”, “1”, “2” ve “3” olarak skorlandı (70):

- **0:** < %25 hücrede boyanma
- **1:** % 25-50 hücrede boyanma
- **2:** % 51-75 hücrede boyanma
- **3:** > 75 hücrede boyanma

Pozitif hücrelerin boyanma yoğunluğu “0”, “1”, “2” ve “3” olarak derecelendirildi (71,72):

- **0:** Hiç boyanma yok
- **1:** zayıf
- **2:** orta
- **3:** güçlü

3.3. İstatistiksel değerlendirme

Boyama skorları kategorik ve sürekli halde özetlenmiştir. Kategorik değişkenler n(%) olarak, sürekli değişkenler ise ortalama \pm standart sapma medyan (min-maks) değer olarak ifade edilmiştir. Normal dağılım varsayımı Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edilmiş ve dağılım tipine göre testler seçildi. Normal dağılıma sahip değişkenler için bağımlı ve bağımsız gruplarda t-testi uygulandı. Normal dağılım göstermeyen skorlarda ise Mann-Whitney U testi ve Wilcoxon test kullanılmıştır. Değerlendirmede $p < 0,05$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin analizinde IBM SPSS ver. 19 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada 26 unifokal TPK (TPK-UF) ile 13 multifokalite (MF) odağı, 8 lenf nodu (LN) metastazı ve 4 hem multifokalite hem de lenf nodu metastazı içeren olgular ana vakaları (TPK-AV) ile birlikte ele alındı. Toplam 51 olguda CK 19, HBME-1, Gal-3, TTF-1, EpCAM ve PCNA ile İHK'sal boyanma özellikleri incelendi.

Tablo 1. Cinsiyet ile olgu gruplarının karşılaştırılması

GRUP	CİNSİYET		
	KADIN (%)	ERKEK (%)	TOPLAM (%)
TPK-UF (%)	22 (84.6)	4 (15.4)	26 (100)
TPK-MF odağı ve/veya LN metastazı (%)	15 (60)	10 (40)	25 (100)
TOPLAM (%)	37 (72.5)	14 (27.5)	51 (100)

Tüm olguların cinsiyet dağılımı Tablo-1'de özetlenmiştir. TPK-UF olgularının 22'si (% 84.6) kadın, 4'ü (% 15.4) erkekti. TPK-MF odağı ve/veya LN metastazı var olan olguların 15'i (% 60) kadın, 10'u (% 40) erkekti. Tüm olguların 37'si (% 72.5) kadın, 14'ü (% 27.5) erkekti. Olgular ayrı ayrı ele alındığında, cinsiyet açısından TPK-UF ile TPK-MF ve/veya LN arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0.05$).

Tablo 2. Yaş ile olgu gruplarının karşılaştırılması

Değişken	Grup Mean \pm SS (min-max)		
	KADIN	ERKEK	TOPLAM
YAŞ	52.5 \pm 11.3 (37-76)	57.3 \pm 8.2 (48-76)	53.8 \pm 10.7 37 \pm 76

Tüm olguların yaş dağılımı Tablo-2’de özetlendiği gibi 37-76 (53.8±10.7) arasında değişmekteydi. Olgular cinsiyete göre ayrı ayrı ele alındığında kadın olguların yaşı 37-76 (52.5±11.3); erkek olguların yaşı 48-76 (57.3±8.2) arasında değişmekteydi.

Tablo 3. Tümör çapı ile olgu gruplarının karşılaştırılması

Değişken	Grup Mean ± SS (min-max)		P
	TPK-UF	TPK-AV	
ÇAP	2.2±1.4 (0.6-7.0)	1.3±1.3 (0.1-5.8)	0.002

TPK-UF nodüllerinin çapı 0.6-7.0 cm (mean±ss, 2.2±1.4); TPK-AV nodüllerinin çapı 0.1-5.8 cm (mean±ss, 1.3±1.3) arasında değişmekteydi. Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, nodül çapı açısından TPK-UF ile TPK-AV arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (p<0.05) (Tablo 3).

Tablo 4. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının CK-19 immünohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması

Değişken	Grup Mean ± SS Median (min-max)		p
	AV	UF	
CK19	9.3±3.7 12.0 (0.0-12.0)	10.7±2.2 12.0 (6.0-12.0)	0.174
	8.2±4.0 12.0 (0.0-12.0)	9.5±3.7 12.0 (1.0-12.0)	0.115
	10.3±2.6 12.0 (0.0-12.0)	10.7±2.5 12.0 (4.0-12.0)	0.704

CK-19'un, TPK-UF' li 26 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 2 (%3.8), üçünde skor 3 (%11.5), 22' sinde skor 4 (%84.6); boyanma yoğunluğu beşinde (++) (%19.3), 21' inde (+++) (%80.7) olarak izlendi. TPK-AV' li 25 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 0 (%4), birinde skor 1 (%4), birinde skor 2 (%4), üçünde skor 3 (%12), 19' unda skor 4 (%76); boyanma yoğunluğu birinde (-) (%4), ikisinde (+) (%8), altısında (++) (%24), 16' sında (+++) (%64) olarak gözlemlendi. TPK-MF ' li 17 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 1 (%5.8), ikisinde skor 2 (%11.7), birinde skor 3 (%5.8), 13' ünde skor 4 (%76.4); boyanma yoğunluğu ikisinde (+) (%11.7), üçünde (++) (%17.6), 12' sinde (+++) (%70.5) olarak izlendi. TPK-LN metastazlı 12 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 2 (%8.3), birinde skor 3 (%8.3), 10' unda skor 4 (%83.3); boyanma yoğunluğu üçünde (++) (%25), dokuzunda (+++) (%75) olarak gözlemlendi (Tablo 10-13).

Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, boyanma skoru açısından TPK-AV ile TPK-UF, TPK-AV ile TPK-MF ve TPK-AV ile TPK-LN arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 5. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının HBME-1 immünohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması

Değişken	Grup		p
	Mean ± SS	Median (min-max)	
HBME-1	AV	UF	0.024
	8.7±3.5 8.0 (0.0-12.0)	5.9±4.4 6.0 (0.0-12.0)	
	AV	MF	0.304
	8.2±3.8 8.0 (0.0-12.0)	7.4±4.2 8.0 (0.0-12.0)	
	AV	LN	0.599
	9.1±2.7 8.0 (0.0-12.0)	8.5±2.9 8.0 (3.0-12.0)	

HBME-1'in, TPK-UF' li 26 olgunun boyanma yüzdesi üçünde skor 0 (%11.5), üçünde skor 1 (%11.5), beşinde skor 2 (%19.2), ikisinde skor 3 (%7.6), 13' ünde skor 4 (%50); boyanma yoğunluğu ikisinde (-) (%7.6), dokuzunda (+) (%34.6), yedisinde (++) (%26.9), sekizinde (+++) (%30.7) olarak izlendi. TPK-AV' li 25 olgunun boyanma yüzdesi ikisinde skor 0 (%8), birinde skor 2 (%4), ikisinde skor 3 (%8), 20' sinde skor 4 (%80); boyanma yoğunluğu ikisinde (-) (%8), 12' sinde (++) (%48), 11' inde (+++) (%44) olarak gözlemlendi. TPK-MF ' li 17 olgunun boyanma yüzdesi ikisinde skor 0 (%11.7), birinde skor 1 (%5.8), birinde skor 2 (%5.8), ikisinde skor 3 (%11.7), 11' inde skor 4 (%64.7); boyanma yoğunluğu ikisinde (-) (%11.7), ikisinde (+) (%11.7), yedisinde (++) (%41.1), birinde (+++) (%5.8) olarak izlendi. TPK-LN metastazlı 12 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 2 (%8.3), ikisinde skor 3 (%16.6), dokuzunda skor 4 (%75); boyanma yoğunluğu birinde (+) (%8.3), yedisinde (++) (%58.3), dördünde (+++) (%33.3) olarak gözlemlendi (Tablo 10-13).

Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, boyanma skoru açısından TPK-AV ile TPK-UF arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi($p < 0.05$) (Tablo 5).

TPK-AV ile TPK-MF ve TPK-AV ile TPK-LN arasında boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo 5).



Tablo 6. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının Gal-3 immünohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması

Değişken	Grup		p
	Mean ± SS	Median (min-max)	
Gal-3	AV	UF	0,434
	5.7±5 4.0 (0.0-12.0)	7.0±4.5 8.0 (0.0-12.0)	
	AV	MF	0,867
	6.3±5.1 4.0 (0.0-12.0)	6.1±5.3 8.0 (0.0-12.0)	
	AV	LN	0,017
	5.8±5.0 4.0 (0.0-12.0)	5,0±5,4 2.5 (0.0-12.0)	

Gal-3'ün, TPK-UF' li 26 olgunun boyanma yüzdesi ikisinde skor 0 (%7.6), dördünde skor 1 (%15.3), üçünde skor 2 (%11.5), ikisinde skor 3 (%7.6), 15' inde skor 4 (%57.6); boyanma yoğunluğu ikisinde (-) (%7.6), altısında (+) (%23), sekizinde (++) (%30.7), 10' unda (+++) (%38.4) olarak izlendi. TPK-AV' li 25 olgunun boyanma yüzdesi beşinde skor 0 (%20), ikisinde skor 1 (%8), dördünde skor 2 (%16), üçünde skor 3 (%12), 11' inde skor 4 (%44); boyanma yoğunluğu dördünde (-) (%16), 10' unda (+) (%40), birinde (++) (%4), 10' unda (+++) (%40) olarak gözlemlendi. TPK-MF' li 17 olgunun boyanma yüzdesi altısında skor 0 (%35.2), ikisinde skor 2 (%11.7), dokuzunda skor 4 (%52.9); boyanma yoğunluğu dördünde (-) (%23.5), üçünde (+) (%17.6), üçünde (++) (%17.6), ikisinde (+++) (%11.7) olarak izlendi. TPK-LN metastazlı 12 olgunun boyanma yüzdesi dördünde skor 0 (%33.3), birinde skor 1 (%8.3), birinde skor 2 (%8.3), ikisinde skor 3 (%16.6), dördünde skor 4 (%33.3); boyanma yoğunluğu dördünde (-) (%33.3), üçünde (+) (%25), birinde (++) (%8.3), dördünde (+++) (%33.3) olarak gözlemlendi (Tablo 10-13).

Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, boyanma skoru açısından TPK-AV ile TPK-LN arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p < 0.05$) (Tablo 6).

TPK-AV ile TPK-UF ve TPK-AV ile TPK-MF arasında boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo 6).



Tablo 7. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının TTF-1 immünohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması

Değişken	Grup		p
	Mean ± SS	Median (min-max)	
TTF-1	AV	UF	0,273
	5.0±1.1 5.0 (2.0-6.0)	5.2±1.3 6.0 (0.0-6.0)	
	AV	MF	0,046
	4.7±1.3 5.0 (2.0-6.0)	5.2±0.6 5.0 (4.0-6.0)	
	AV	LN	1.000
	5.0±0.9 5.0 (2.0-6.0)	5.0±0.9 5.0 (3.0-6.0)	

TTF-1'in, TPK-UF' li 26 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 0 (%3.8), birinde skor 1 (%3.8), 24' ünde skor 3 (%92.3); boyanma yoğunluğu birinde (-) (%3.8), birinde (+) (%3.8), 10' unda (++) (%38.4), 14' ünde (+++) (%53.8) olarak izlendi. TPK-AV' li 25 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 1 (%4), dördünde skor 2 (%16), 20' sinde skor 3 (%80); boyanma yoğunluğu beşinde (+) (%20), 10' unda (++) (%40), 10' unda (+++) (%40) olarak gözlendi. TPK-MF' li 17 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 2 (%5.8), 16' sında skor 3 (%94.1); boyanma yoğunluğu ikisinde (+) (%11.7), sekizinde (++) (%47), yedisinde (+++) (%41.1) olarak izlendi. TPK-LN metastazlı 12 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 1 (%8.3), ikisinde skor 2 (%16.6), dokuzunda skor 3 (%75); boyanma yoğunluğu ikisinde (+) (%16.6), üçünde (++) (%25), yedisinde (+++) (%58.3) olarak gözlendi (Tablo 10-13).

Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, boyanma skoru açısından TPK-AV ile TPK-MF arasında istatistiksel olarak sınırda anlamlı fark izlendi (p<0.05) (Tablo 7).

TPK-AV ile TPK-UF ve TPK-AV ile TPK-LN arasında boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p>0.05) (Tablo 7).

Tablo 8. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının EpCAM immünohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması

Değişken	Grup Mean ± SS Median (min-max)		p
	EpCAM	AV	
6.8±0.3 7.0 (6.0-7.0)		6.7±0.4 7.0 (6.0-7.0)	
AV		MF	0,014
6.9±0.2 7.0 (6.0-7.0)		6.5±0.7 5.0 (5.0-6.0)	
AV		LN	0.096
6.7±0.4 7.0 (6.0-7.0)		6.3±0.7 6.5 (5.0-7.0)	

EpCAM'ın, TPK-UF' li 26 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 3 (%3.8), 25' inde skor 4 (%96.1); boyanma yoğunluğu beşinde (++) (%19.2), 21' inde (+++) (%80.7) olarak izlendi. TPK-AV' li 25 olgunun boyanma yüzdesi 25' inde skor 4 (%100); boyanma yoğunluğu üçünde (++) (%12), 22' sinde (+++) (%88) olarak gözlemlendi. TPK-MF' li 17 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 3 (%5.8), 16' sında skor 4 (%94.1); boyanma yoğunluğu birinde (+) (%5.8), beşinde (++) (%29.4), 11' inde (+++) (%64.7) olarak izlendi. TPK-LN metastazlı 12 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 3 (%8.3), 11' inde skor 4 (%91.6); boyanma yoğunluğu birinde (+) (%8.3), beşinde (++) (%41.6), altısında (+++) (%50) olarak gözlemlendi (Tablo 10-13).

Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, boyanma skoru açısından TPK-AV ile TPK-MF arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p < 0.05$) (Tablo 8).

TPK-AV ile TPK-UF ve TPK-AV ile TPK-LN arasında boyanma skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$) (Tablo 8).

Tablo 9. Olgu gruplarındaki primer tümör odağının, lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarının PCNA immünohistokimyasal boyanma skoru açısından karşılaştırılması

Değişken	Grup		p
	Mean ± SS	Median (min-max)	
PCNA	AV	UF	0.968
	5.9±0.2 6.0 (5.0-6.0)	5.9±0.2 6.0 (5.0-6.0)	
	AV	MF	0.431
	5.8±0.3 6.0 (5.0-6.0)	5.7±0.5 6.0 (4.0-6.0)	
	AV	LN	0.339
	6.0±0.0 6.0 (5.0-6.0)	5.9±0.2 (5.0-6.0)	

PCNA'nın, TPK-UF' li 26 olgunun boyanma yüzdesi 26' sında skor 3 (%100); boyanma yoğunluğu ikisinde (++) (%7.8), 24' ünde (+++) (%92.3) olarak izlendi. TPK-AV' li 25 olgunun boyanma yüzdesi 25' inde skor 4 (%100); boyanma yoğunluğu 25' inde (+++) (%100) olarak gözlemlendi. TPK-MF' li 17 olgunun boyanma yüzdesi ikisinde skor 2 (%11.5), 15' inde skor 3 (%88.2); boyanma yoğunluğu ikisinde (++) (%11.5), 15' inde (+++) (%88.2) olarak izlendi. TPK-LN metastazlı 12 olgunun boyanma yüzdesi birinde skor 2 (%8.3), 11' inde skor 3 (%91.6); boyanma yoğunluğu üçünde (++) (%25), dokuzunda (+++) (%75) olarak gözlemlendi (Tablo 10-13).

Olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında, boyanma skoru açısından TPK-AV ile TPK-UF, TPK-AV ile TPK-MF ve TPK-AV ile TPK-LN arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo 9).

Tablo 10. Çalışılan TPK-UF olgularının İHK'sal boyanma alanı yüzdesine göre skorları

NO:	CK 19	HBME-1	GAL-3	TTF-1	EPCAM	PCNA
2532	4	4	4	3	4	3
1416	2	2	2	3	3	3
696	4	4	4	3	4	3
11315	4	1	4	3	4	3
8954	4	4	4	3	4	3
2229	3	4	3	3	4	3
1631	3	3	4	3	4	3
4801	4	4	0	3	4	3
1796	4	4	1	3	4	3
6902	4	2	4	3	4	3
3539	4	0	0	3	4	3
8402	4	4	4	3	4	3
8487	4	4	4	3	4	3
9549	4	2	1	3	4	3
9907	4	4	1	3	4	3
1088	4	0	1	3	4	3
940	4	4	4	3	4	3
1168	4	4	4	3	4	3
1641	4	4	4	3	4	3
1647	4	1	4	3	4	3
1757	4	1	4	3	4	3
5718	4	3	4	3	4	3
3028	3	0	3	3	4	3
2587	4	2	4	0	4	3
5445	4	4	2	3	4	3
7283	4	2	2	1	4	3

Tablo 11. Çalışılan TPK-UF olgularının İHK'sal boyanma yoğunluğuna göre skorları

NO:	CK 19	HBME-1	GAL-3	TTF-1	EPCAM	PCNA
2532	3	1	2	2	3	3
1416	3	3	3	3	3	3
696	3	3	3	2	3	3
11315	3	1	3	2	3	3
8954	3	1	2	3	3	3
2229	2	3	3	2	3	3
1631	2	2	3	3	3	3
4801	3	3	0	3	3	3
1796	2	2	1	3	3	3
6902	3	2	3	3	3	3
3539	3	0	0	2	3	3
8402	2	3	2	3	3	3
8487	3	3	2	3	3	3
9549	3	1	1	3	3	3
9907	3	3	1	3	3	2
1088	3	1	1	3	3	3
940	3	2	2	3	3	3
1168	3	2	2	2	2	3
1641	3	2	2	2	2	3
1647	3	1	3	2	2	3
1757	3	1	3	2	2	3
5718	3	3	3	3	3	3
3028	3	0	2	3	3	3
2587	3	1	3	0	3	3
5445	2	2	1	2	3	3
7283	3	1	1	1	2	2

Tablo 12. Çalışılan TPK-MF/LN metastazı olgularının İHK'sal boyanma alanı yüzdesine göre skorları

NO:	CK19	HBME-1	GAL-3	TTF-1	EPCAM	PCNA
13211(AV)	4	4	4	2	4	3
13211(MF)	4	4	4	2	4	3
3191(AV)	3	4	3	3	4	3
3191(MF)	2	0	2	3	3	2
8871(AV)	1	0	2	3	4	3
8871(MF)	3	1	0	3	4	3
1431(AV)	4	4	4	2	4	3
1431(MF)	4	4	4	3	4	3
1431(LN)	4	4	4	3	4	2
2404(AV)	2	2	3	3	4	3
2404(MF)	4	3	4	3	4	3
2404(LN)	3	3	3	2	4	3
10504(AV)	4	4	4	3	4	3
10504(MF)	4	4	4	3	4	3
10504(LN)	4	4	4	1	4	3
11512(AV)	4	4	4	3	4	3
11512(MF)	4	4	4	3	4	3
7430(AV)	0	0	0	1	4	3
7430(MF)	1	0	4	3	4	2
13718(AV)	4	4	4	3	4	3
13718(LN)	4	4	4	3	4	3
8642(AV)	4	4	2	3	4	3
8642(MF)	4	4	4	3	4	3
3351(AV)	4	4	4	3	4	3
3351(MF)	4	2	0	3	4	3
6588(AV)	4	4	4	3	4	3
6588(MF)	2	4	0	3	4	3
3805(AV)	4	4	4	3	4	3
3805(LN)	4	4	4	3	4	3
4118(AV)	4	4	4	3	4	3
4118(MF)	4	4	4	3	4	3
5217(AV)	3	4	0	3	4	3
5217(MF)	4	4	0	3	4	3
6181(AV)	3	3	0	3	4	3
6181(MF)	4	3	2	3	4	3
3511(AV)	4	4	4	3	4	3
3511(MF)	4	4	4	3	4	3
1460(AV)	4	4	2	2	4	3
1460(MF)	4	4	0	3	4	3

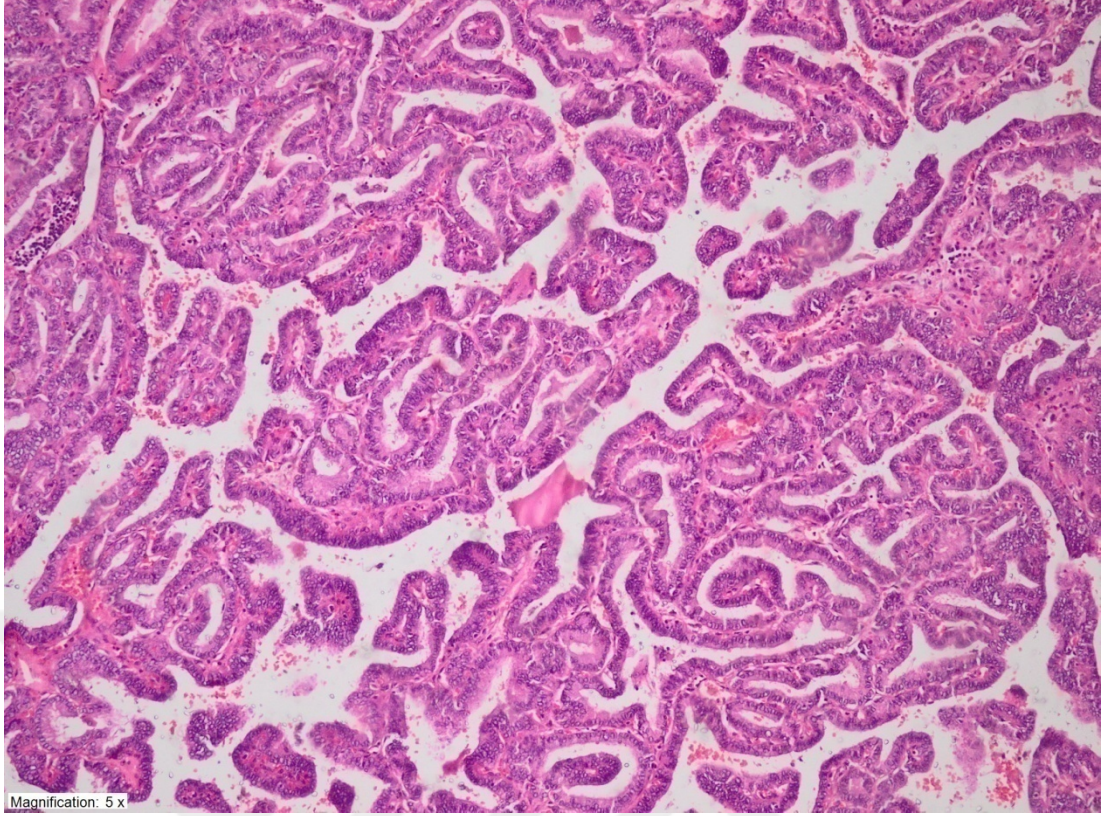
1460(LN)	4	4	1	2	3	3
2195(AV)	4	3	2	3	4	3
2195(LN)	4	4	0	3	4	3
4106(AV)	4	4	1	3	4	3
4106(LN)	4	4	0	3	4	3
6301(AV)	4	4	3	3	4	3
6301(LN)	4	2	3	3	4	3
4850(AV)	4	4	4	3	4	3
4850(LN)	2	3	2	3	4	3
1912(AV)	4	4	0	3	4	3
1912(LN)	4	4	0	3	4	3
9059(AV)	4	4	1	3	4	3
9059(LN)	4	4	0	3	4	3
416(AV)	4	4	0	2	4	3
416(MF)	4	4	0	3	4	3

Tablo 13. Çalışılan TPK-MF/LN metastazı olgularının İHK'sal boyanma yoğunluğuna göre skorları

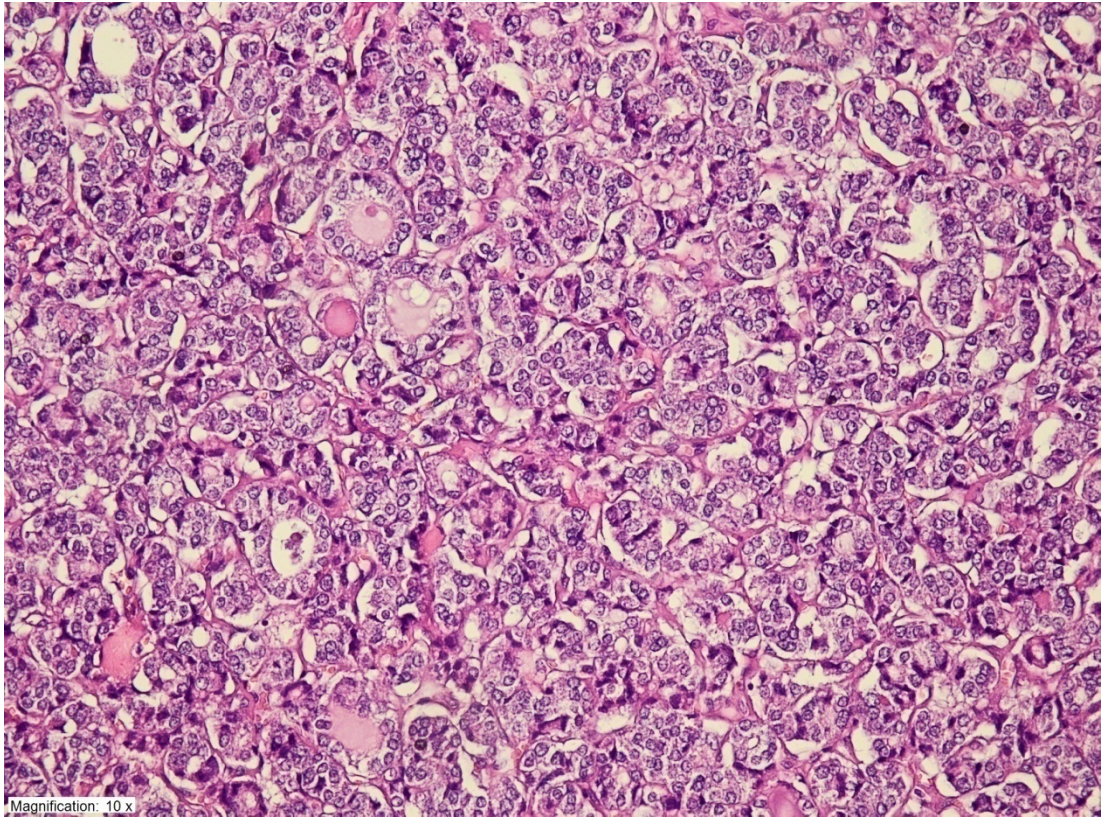
NO:	CK19	HBME1	GAL-3	TTF-1	EPCAM	PCNA
13211(AV)	1	2	1	2	3	3
13211(MF)	2	2	2	3	3	2
3191(AV)	2	2	3	3	3	3
3191(MF)	2	0	1	3	2	2
8871(AV)	1	0	1	1	3	3
8871(MF)	1	1	0	1	3	3
1431(AV)	3	3	3	1	3	3
1431(MF)	3	3	3	2	2	3
1431(LN)	2	3	3	1	3	3
2404(AV)	2	2	3	2	3	3
2404(MF)	3	2	3	2	2	3
2404(LN)	3	2	2	1	2	3
10504(AV)	2	2	3	2	3	3
10504(MF)	2	2	3	2	2	3
10504(LN)	2	3	3	3	2	3
11512(AV)	3	2	3	1	3	2
11512(MF)	3	3	3	2	3	3
7430(AV)	0	0	0	1	3	3
7430(MF)	1	0	3	2	2	3
13718(AV)	3	2	3	3	3	3
13718(LN)	3	3	3	2	3	3
8642(AV)	3	3	1	3	3	3
8642(MF)	3	3	2	3	3	3
3351(AV)	3	3	3	3	3	3
3351(MF)	3	1	1	2	3	3
6588(AV)	3	3	2	3	3	3
6588(MF)	3	3	0	3	3	3
3805(AV)	3	3	3	3	3	3
3805(LN)	3	3	3	3	3	3
4118(AV)	3	3	3	3	3	3
4118(MF)	3	2	2	3	3	3
5217(AV)	3	3	0	3	3	3
5217(MF)	3	3	1	3	3	3
6181(AV)	3	3	1	3	3	3
6181(MF)	3	3	3	3	3	3
3511(AV)	3	2	3	2	3	3
3511(MF)	3	2	3	3	3	3
1460(AV)	2	2	1	2	2	3
1460(MF)	3	2	0	1	1	3
1460(LN)	3	2	1	3	2	3

2195(AV)	3	2	1	2	2	3
2195(LN)	3	2	0	2	3	3
4106(AV)	3	2	1	2	2	3
4106(LN)	3	2	0	3	2	3
6301(AV)	2	2	1	3	3	3
6301(LN)	3	3	1	3	3	3
4850(AV)	3	3	1	2	3	3
4850(LN)	2	1	1	2	3	3
1912(AV)	3	3	0	2	3	3
1912(LN)	3	2	0	3	1	3
9059(AV)	3	3	1	3	3	3
9059(LN)	3	2	0	3	2	3
416(AV)	2	2	0	1	3	2
416(MF)	3	2	0	2	3	2

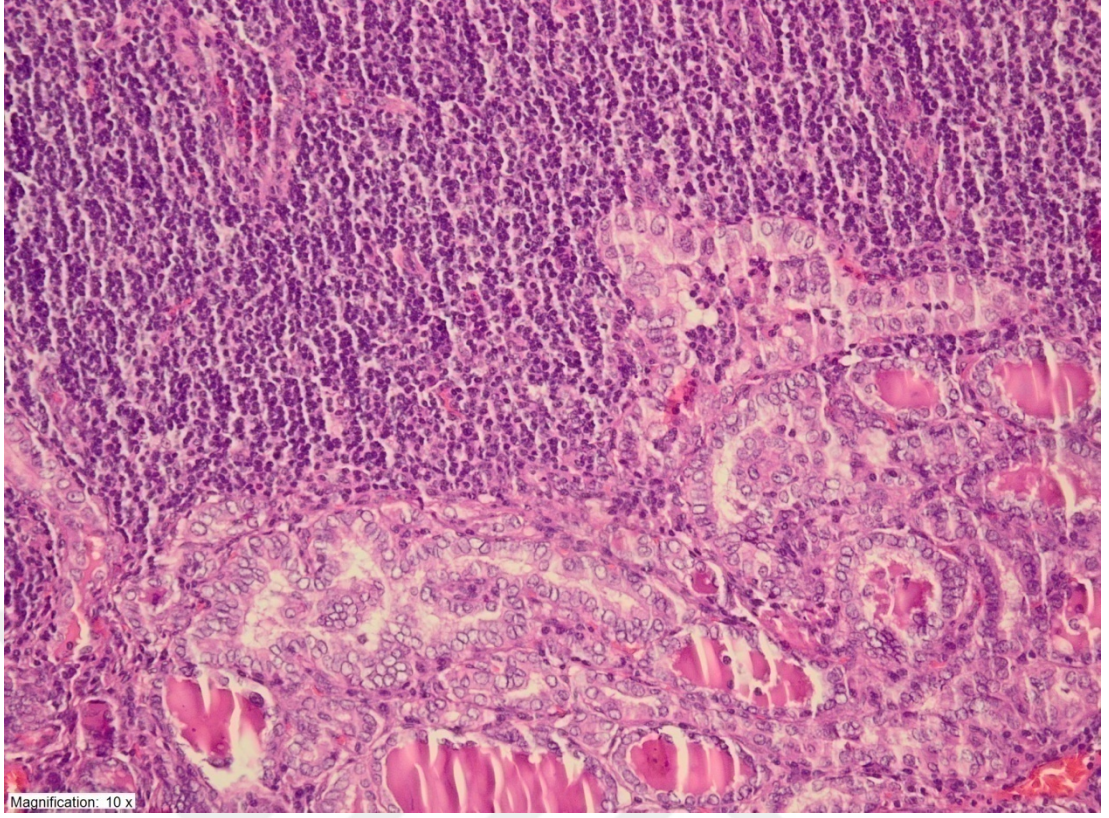




Resim 1. TPK' un papiller yapısal patern (H&E, X40)



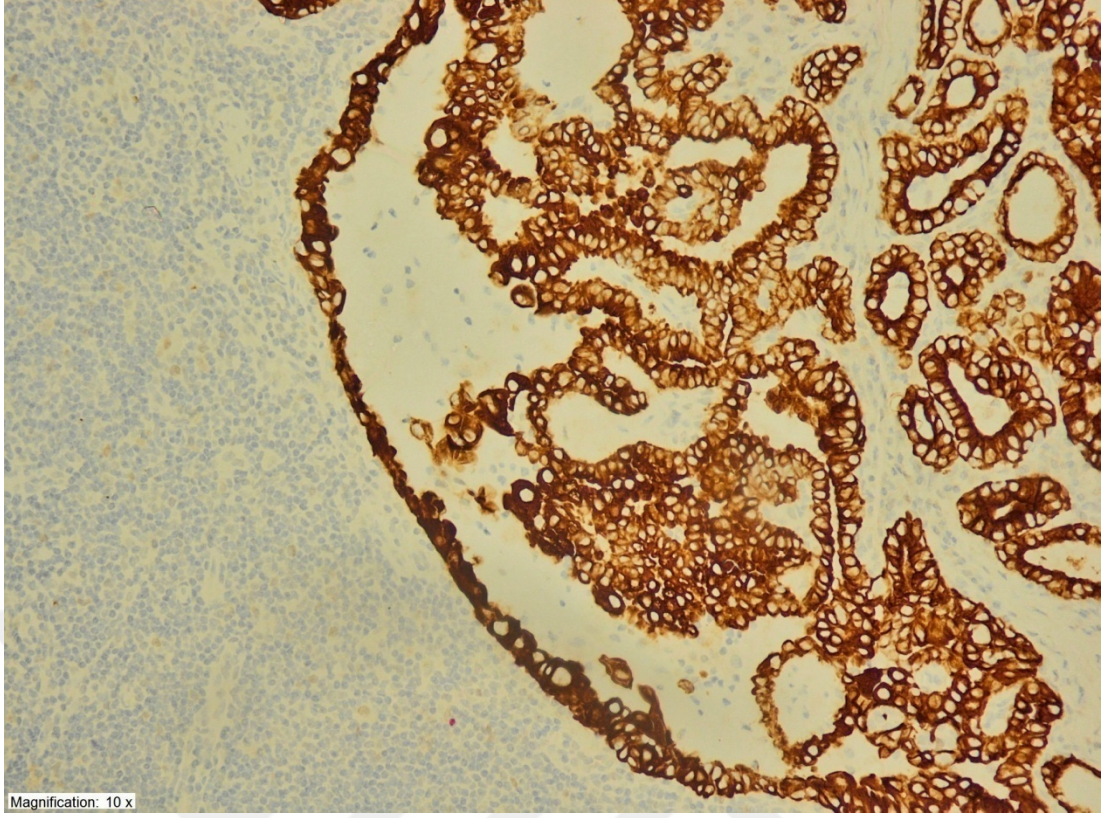
Resim 2. Papiller karsinomun nükleer özellikleri (H&E, X100)



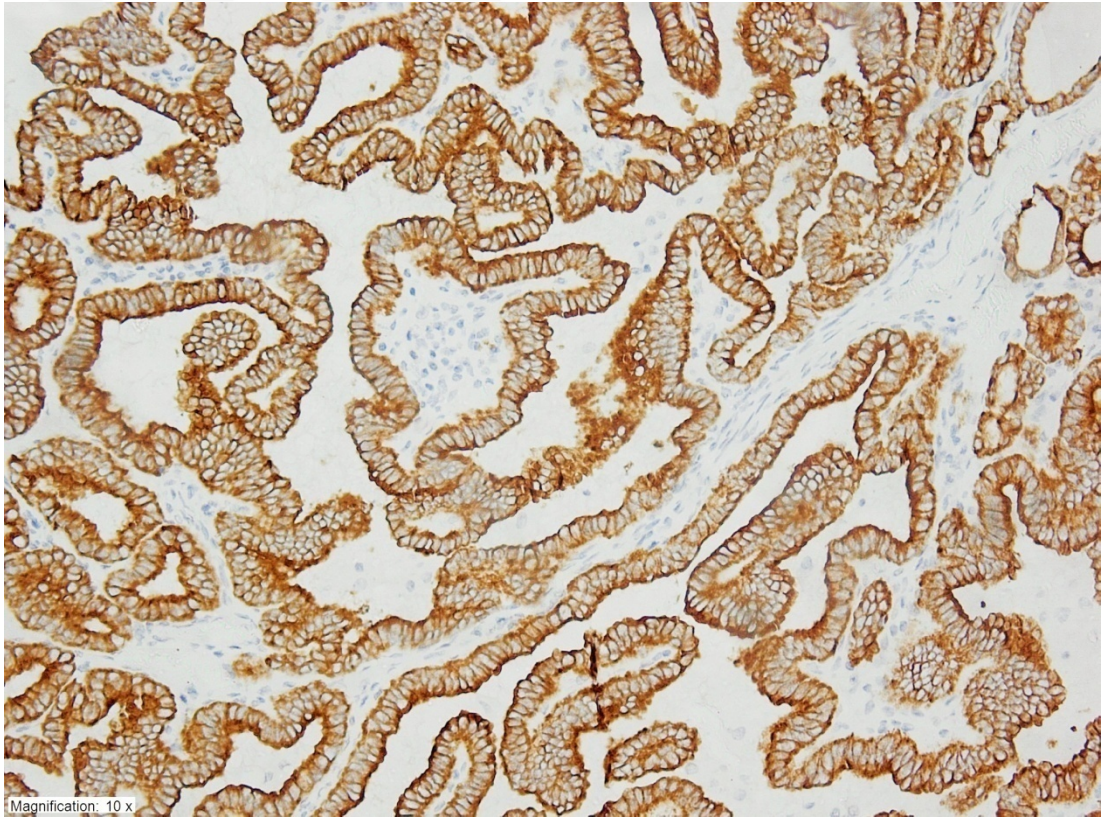
Resim 3. Papiller karsinom lenf nodu metastazı (H&E, X100)



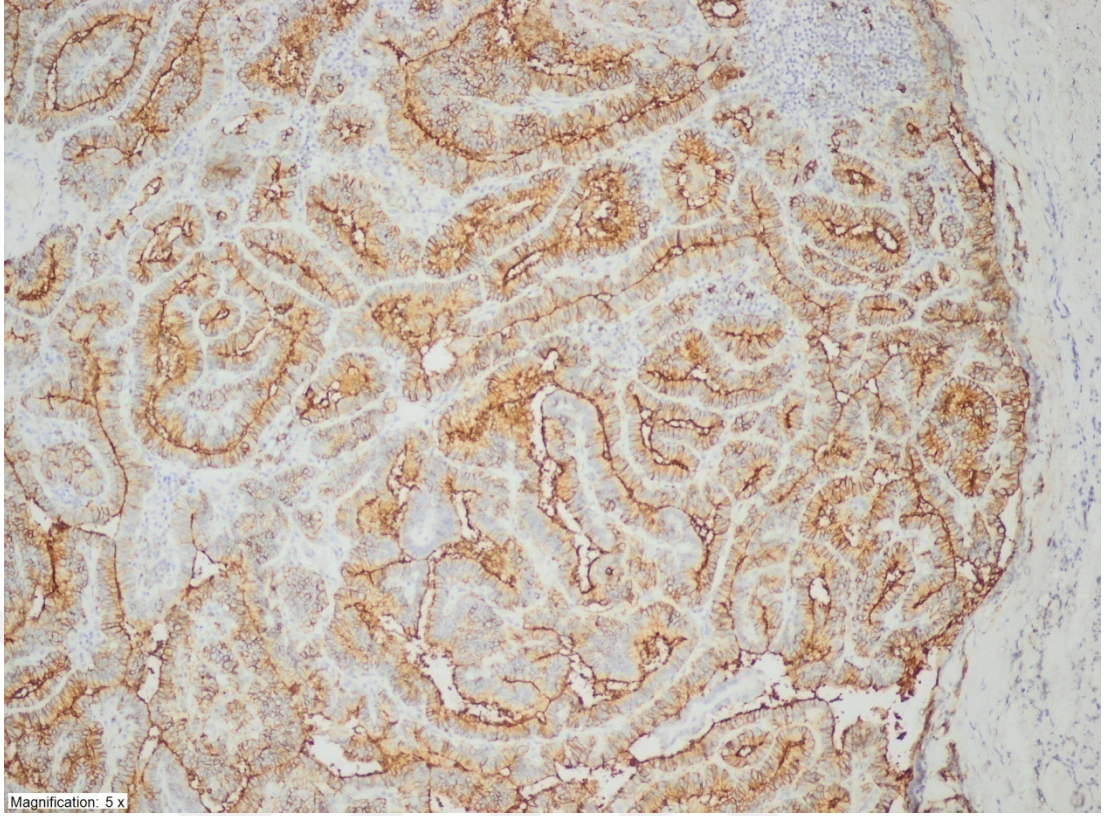
Resim 4. TPK-AV' de CK-19 boyanma skoru 12 olan olgu (X200)



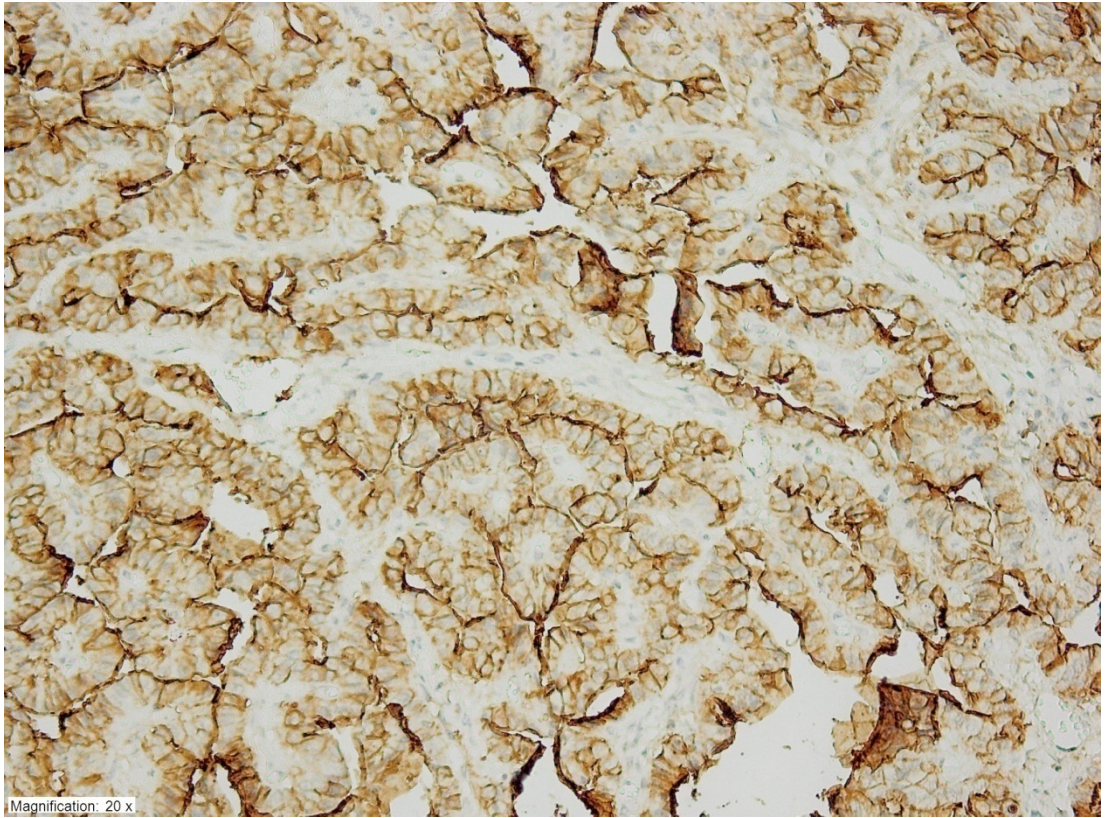
Resim 5. TPK-LN' de CK-19 boyanma skoru 12 olan olgu (X100)



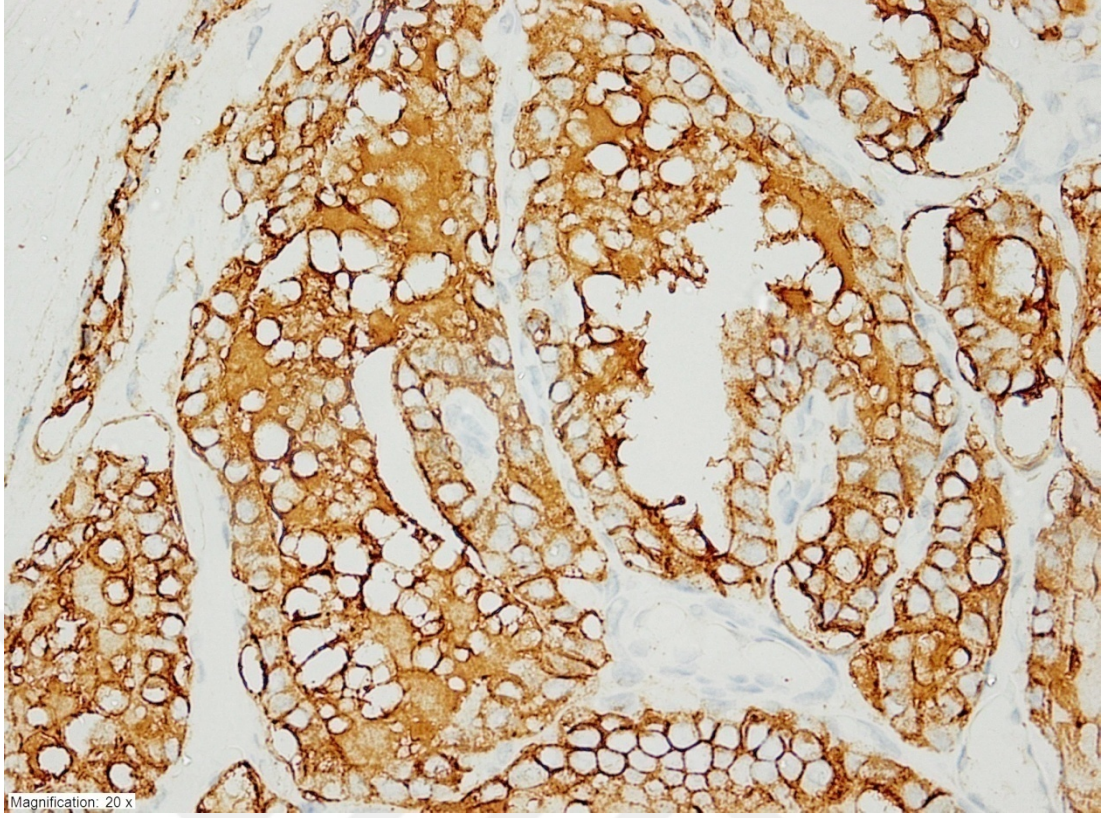
Resim 6. TPK-MF' de CK-19 boyanma skoru 9 olan olgu (X100)



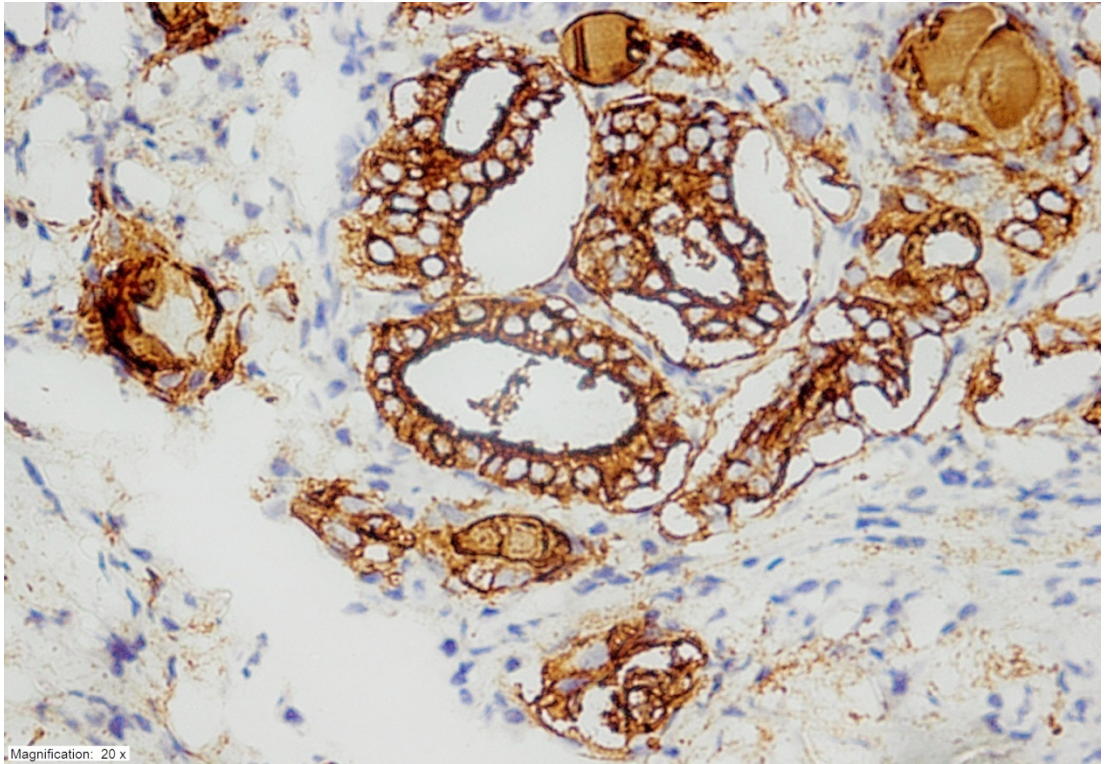
Resim 7. TPK-AV' de HBME-1 boyanma skoru 9 olan olgu (X40)



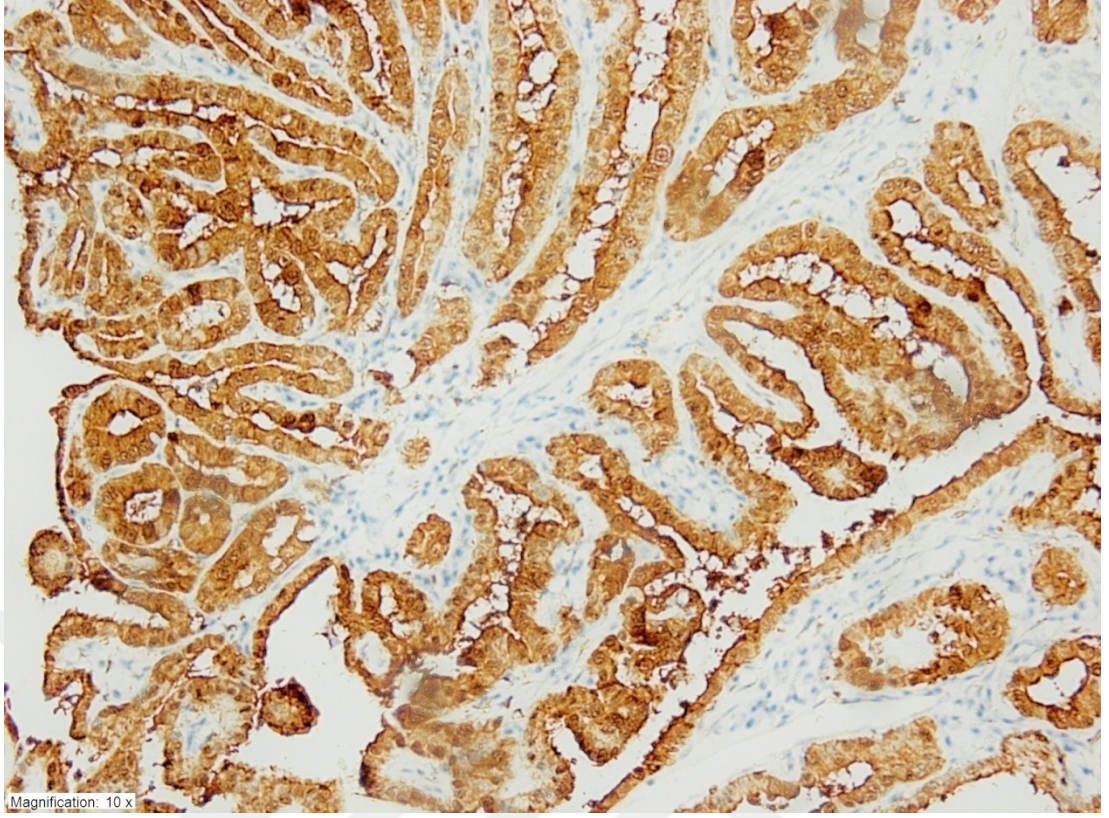
Resim 8. TPK-UF' de HBME-1 boyanma skoru 9 olan olgu (X200)



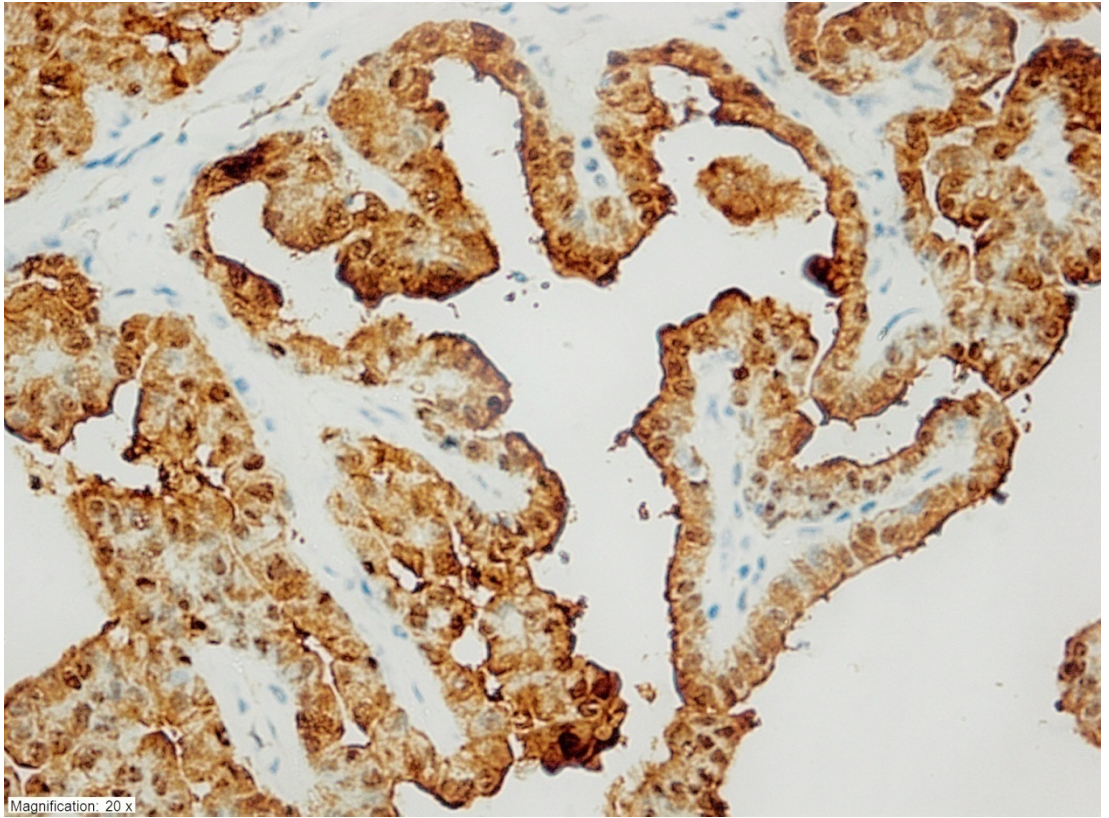
Resim 9. TPK-MF' de HBME-1 boyanma skoru 12 olan olgu (X200)



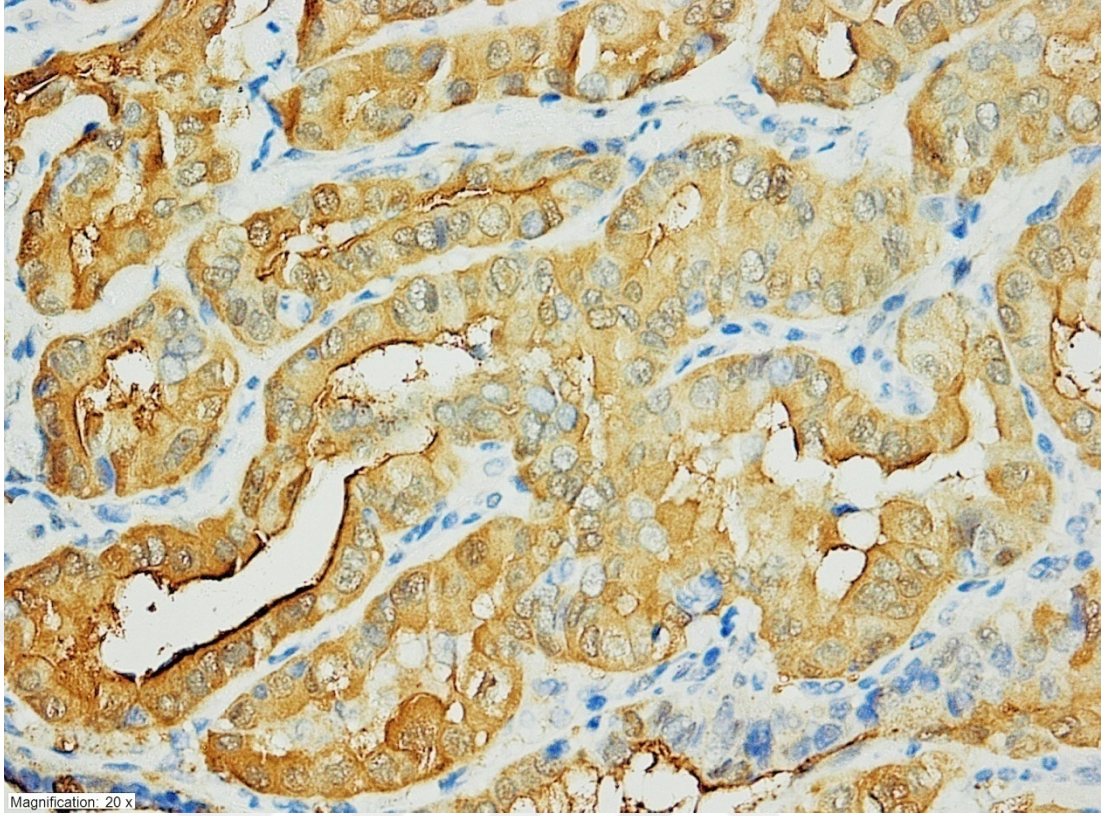
Resim 10. TPK-LN' de HBME-1 boyanma skoru 12 olan olgu (X200)



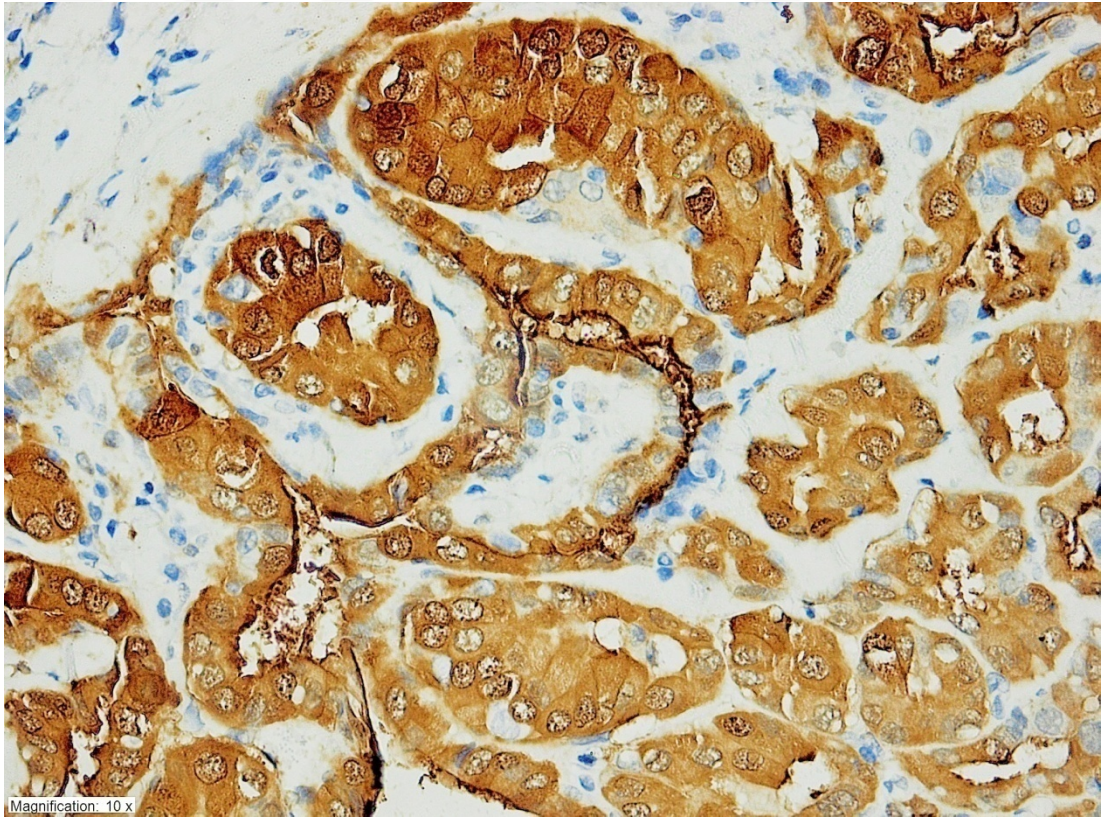
Resim 11. TPK-AV' de Gal-3 boyanma skoru 12 olan olgu (X100)



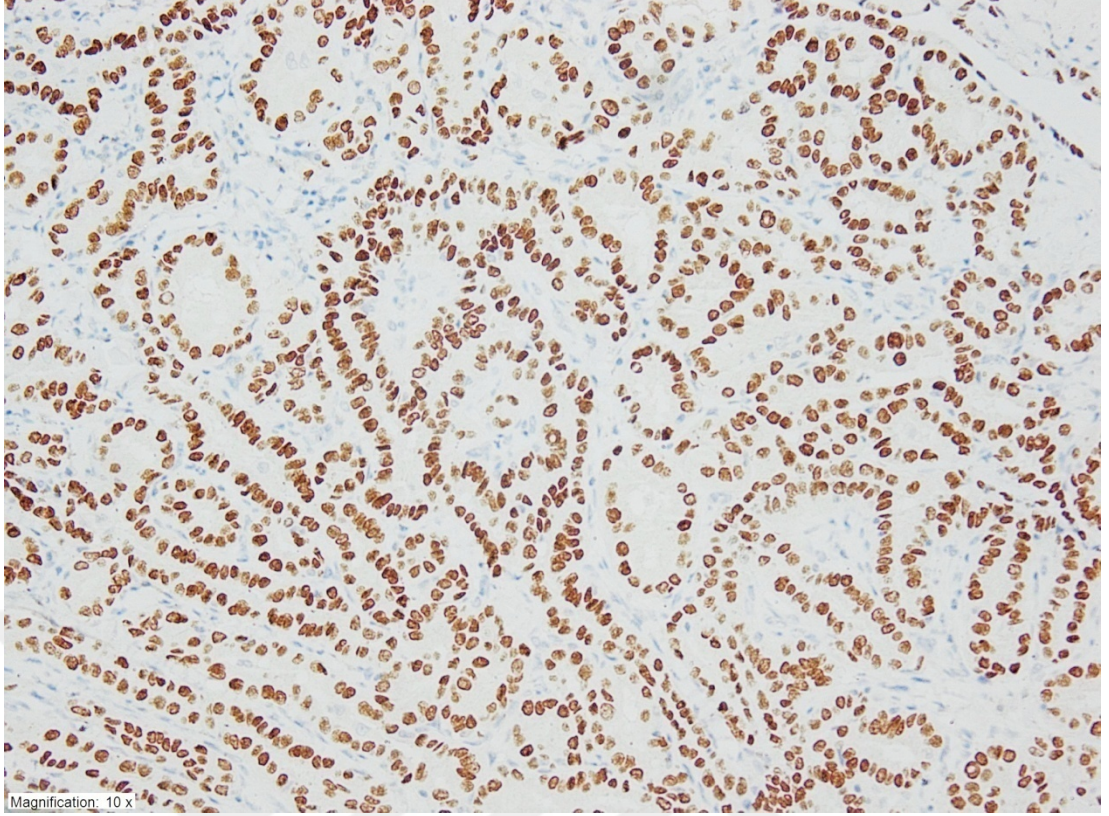
Resim 12. TPK-UF' de Gal-3 boyanma skoru 12 olan olgu (X200)



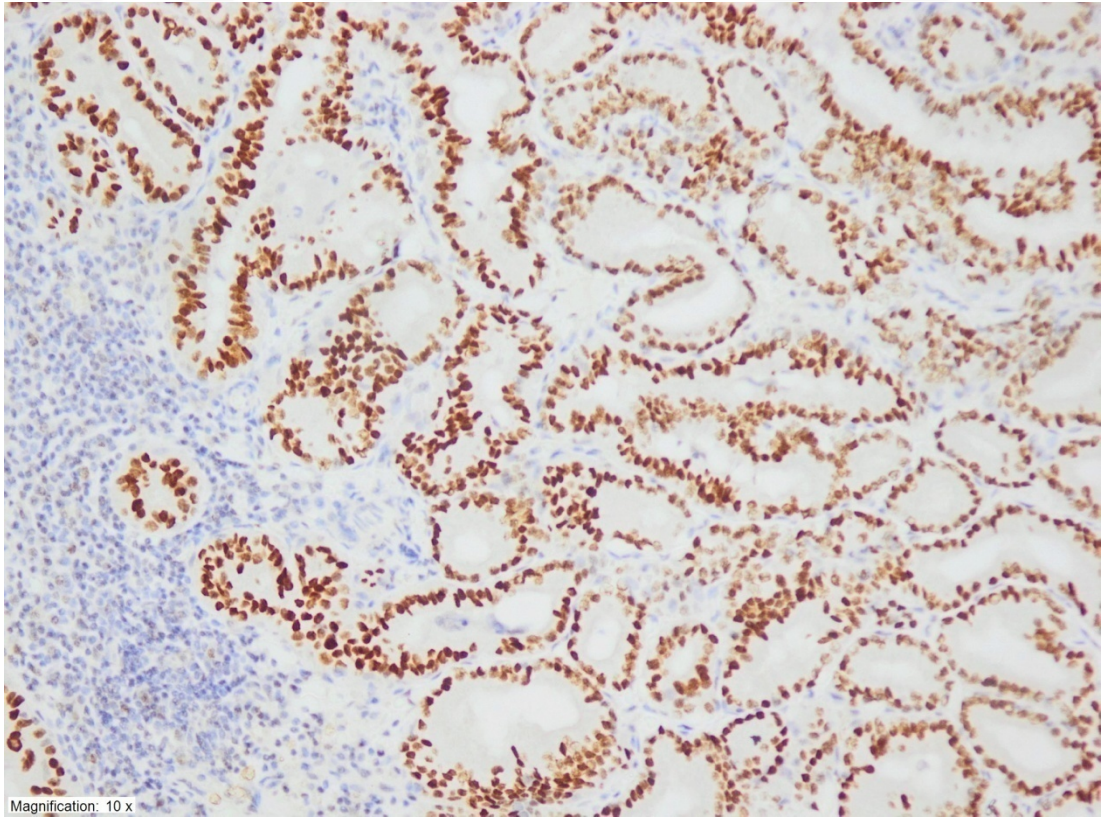
Resim 13. TPK-LN' de Gal-3 boyanma skoru 9 olan olgu (X200)



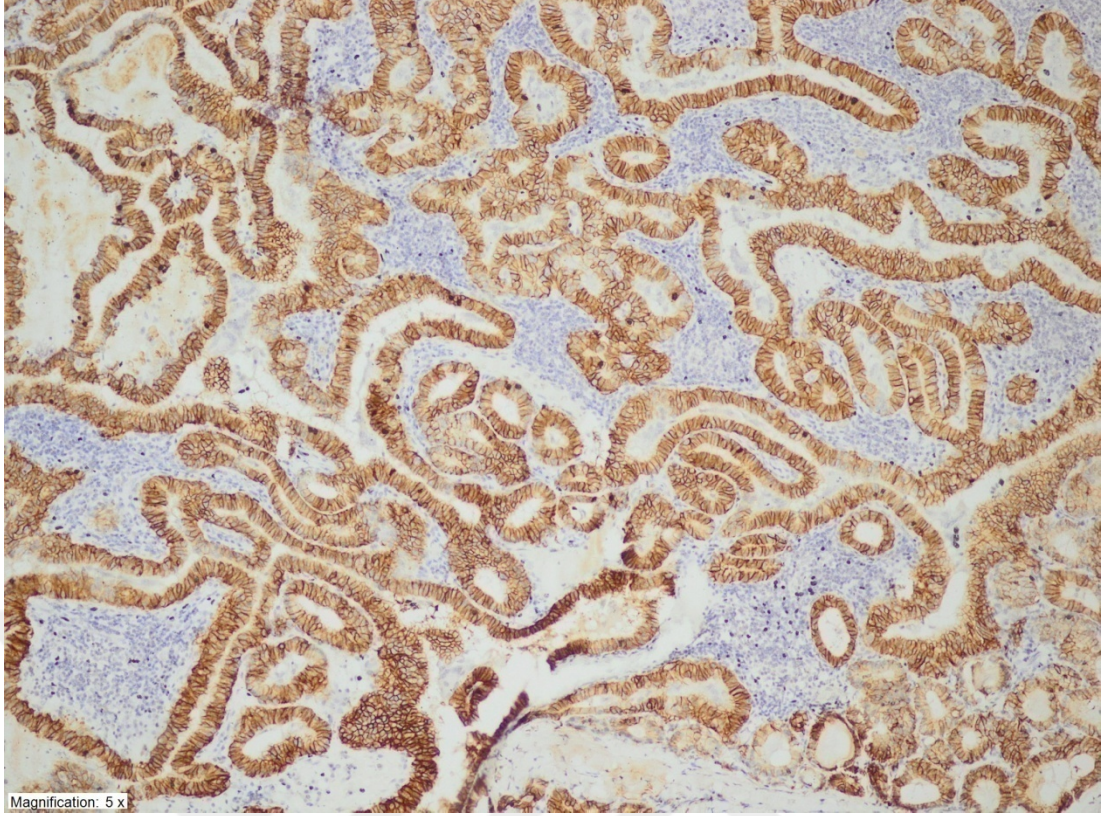
Resim 14. TPK-AV' de Gal-3 boyanma skoru 12 olan olgu (X200)



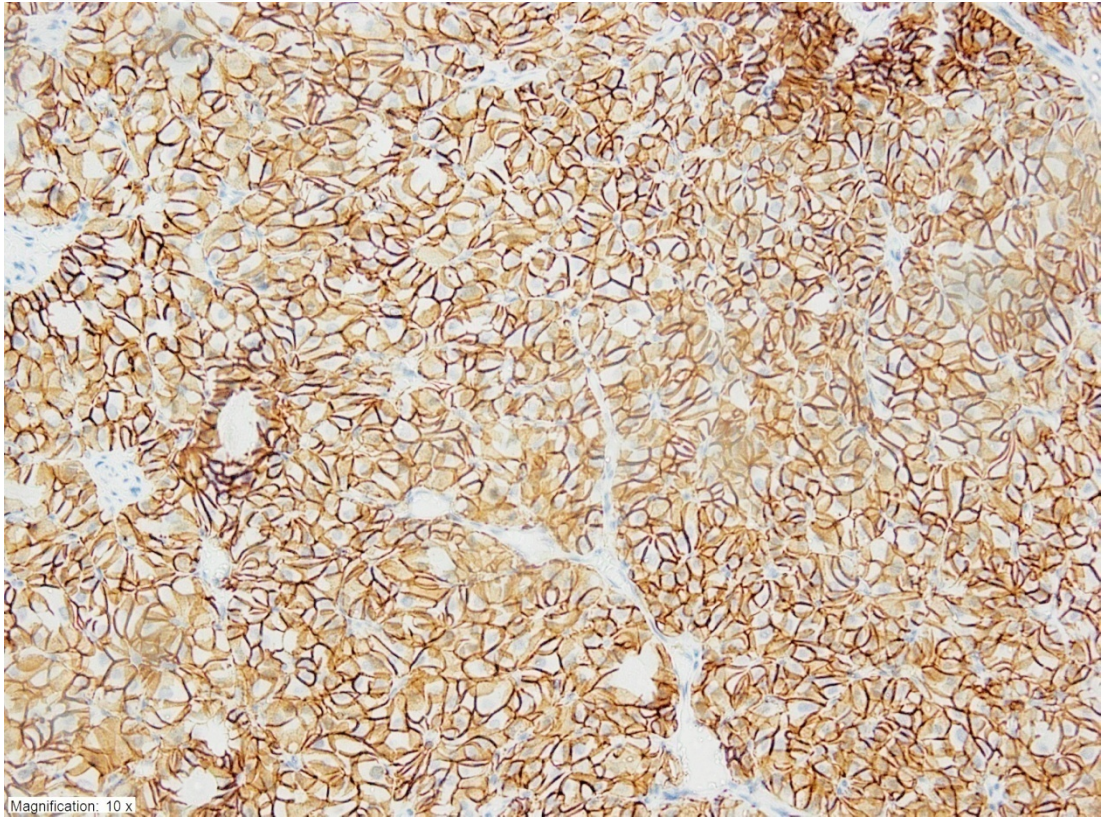
Resim 15. TPK-AV' de TTF-1 boyanma skoru 6 olan olgu (X100)



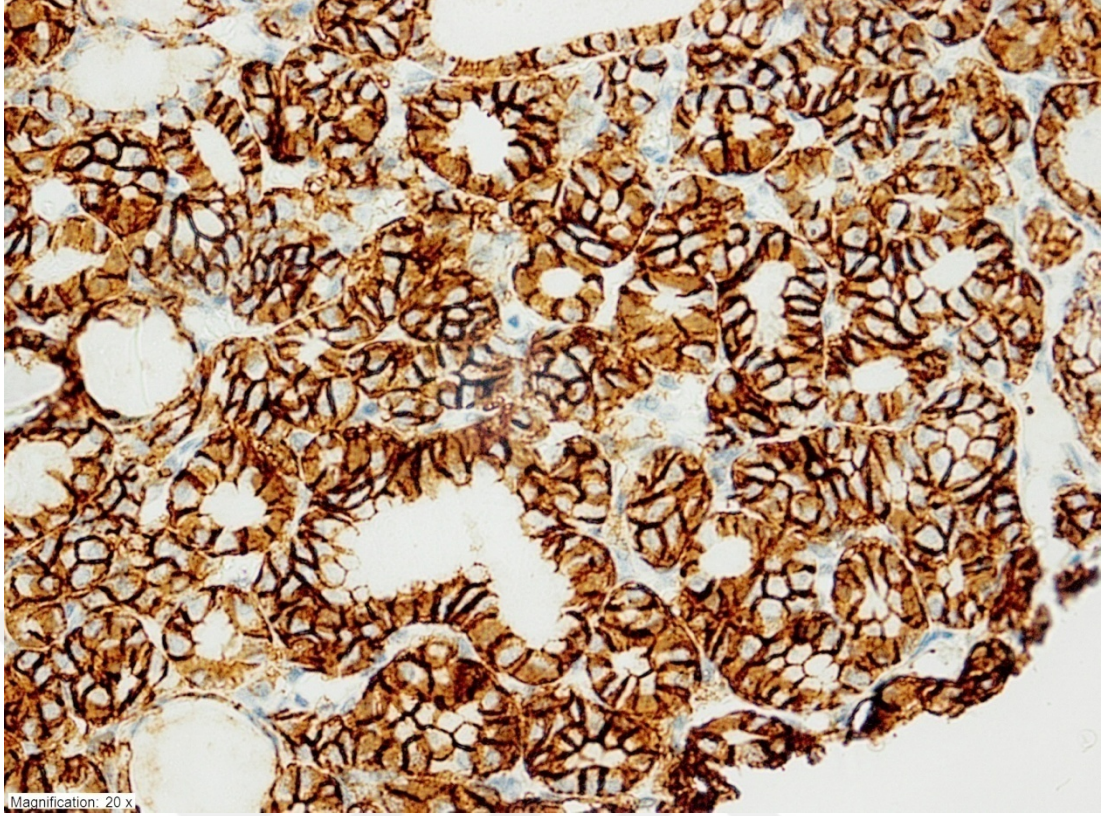
Resim 16. TPK-LN' de TTF-1 boyanma skoru 6 olan olgu (X100)



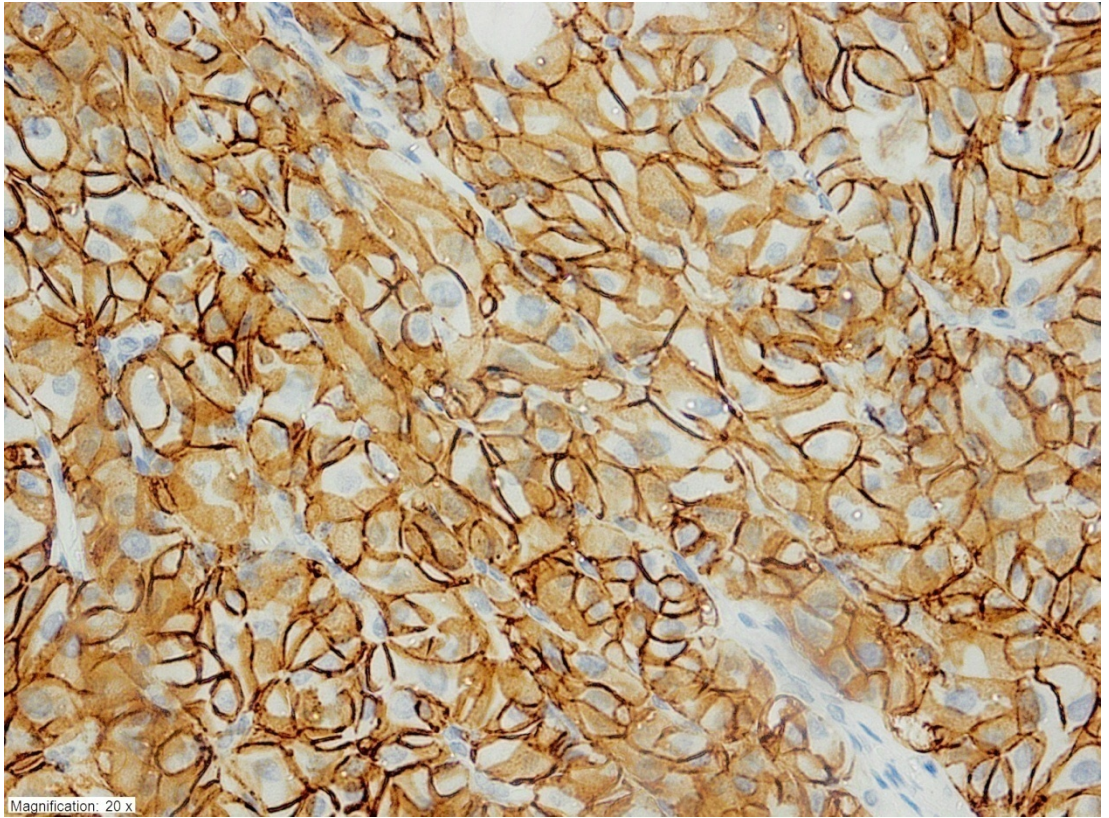
Resim 17. TPK-LN' de EpCAM boyanma skoru 6 olan olgu (X40)



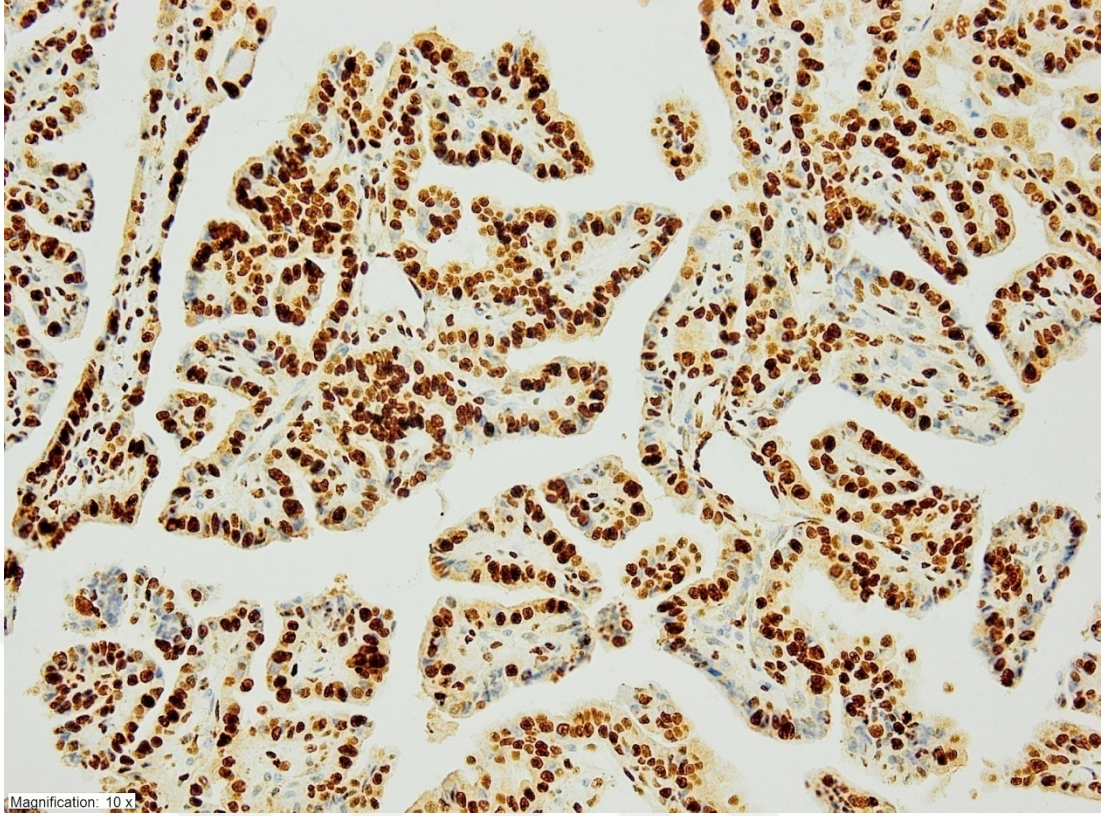
Resim 18. TPK-MF' de EpCAM boyanma skoru 6 olan olgu (X100)



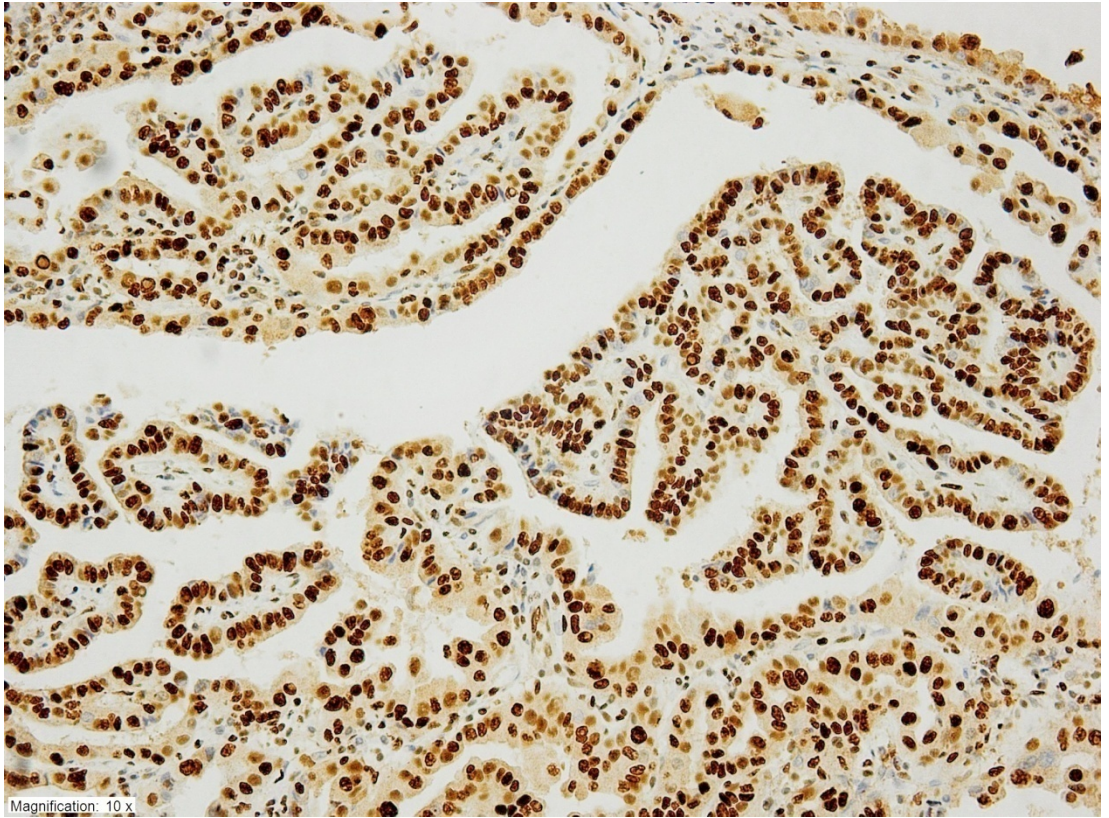
Resim 19. TPK-AV' de EpCAM boyanma skoru 7 olan olgu (X200)



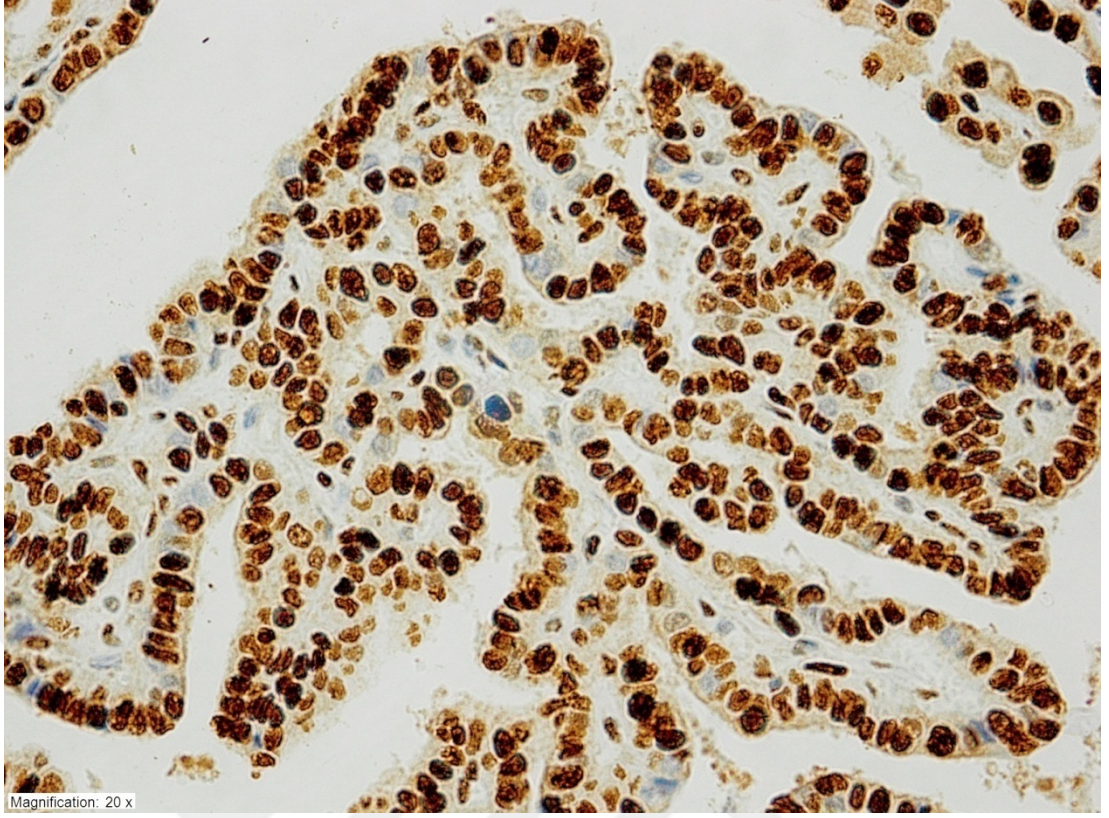
Resim 20. TPK-MF' de EpCAM boyanma skoru 6 olan olgu (X200)



Resim 21. TPK-UF' de PCNA boyanma skoru 6 olan olgu (X100)



Resim 22. TPK-MF' de PCNA boyanma skoru 6 olan olgu (X100)



Resim 23. TPK-LN' de PCNA boyanma skoru 6 olan olgu (X200)

5. TARTIŞMA

Tiroid karsinomları için tüm dünyada her yıl yaklaşık 122.000 yeni vaka bildirilmektedir (1). Kadınlarda erkeklere oranla 4 kat daha sık görülür ve ortalama görülme yaşı 20-50'dir (1,4).

Çalışmamızda tüm gruplarda kadınlar çoğunlukta olup tüm olguların 37 (%72.5)' i kadın, 14 (%27.5)' ü erkekti. Olgu gruplarında cinsiyet dağılımı, klasik bilgilerde tanımlanmış TPK'un cinsiyet dağılımı ile korelasyon göstermekteydi (1,2,4,12,36,43,73-78). Multifokalite odağı ve/ veya lenf nodu metastazı var olan olguların 15 (%60)' i kadın, 10 (%40)' u erkek olup olgu grupları ayrı ayrı ele alındığında TPK ile multifokalite odağı/ lenf nodu metastazı var olan TPK primer tümör olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi. Bu olguların çoğunluğunun kadın olması ile ilişkilendirildi.

Tiroid kanserlerinde yaş önemli prognostik bir faktör olup birçok çalışmada mortalitenin 45-50 yaş civarında arttığı bildirilmiştir (40,54). Çalışmamızda yaş ortalaması 53.8 olup olguların yaşları 37-76 arasında değişmekteydi. Yaş ortalaması literatür ile uyumlu izlenmiştir (1,2,4,12,36,43,73-78).

Çalışmamızda multifokalite odağı/ lenf nodu metastazı var olan TPK'lu olguların tümör boyutu 1.3cm iken, multifokalite ve lenf nodu metastazı içermeyen TPK' lu olguların tümör boyutu 2.2cm ile anlamlı farklılık gösterdi.

Bizim çalışmamızın aksine Carcangiu ve ark.'ı 1cm' den daha büyük tümörlerde 1cm' den küçük tümörlere oranla hastalıksız sağ kalımda belirgin bir azalma ve lenf bezi metastazlarında belirgin artma saptamışlardır (40). Aynı şekilde bazı çalışmalarda primer tümör boyutu 5 mm' nin altı ile 5-10 mm arasındaki gruplarda tümör boyutu arttıkça artan lenf nodu metastazı ile ilgili anlamlı sonuçlar bildirmişlerdir (79-81). Literatürle çalışmamız arasındaki bu uyumsuzluğun, bizim çalışmamızda kısıtlı olgu ele alınması sonucu oluştuğu düşünülmektedir.

Tiroid bezinin lezyonlarında kesin tanı için H&E boyalı lamların incelenmesi ile genellikle mümkündür. Bazı olgularda lezyonun kökeni ve malignite potansiyeli tespit edilemediğinden tanıya yardımcı yöntem olarak immünohistokimya kullanımı eklenebilir (6-15).

TPK olgularında immünohistokimyasal belirleyicilerin ekspresyonu karşılaştırılmalı olarak birçok çalışmada ele alınmıştır (6-15). Ancak TPK' larında, TPK primer tümörü ve multifokalite/ lenf nodu metastazı odaklarında ayrı ayrı CK-19, HBME-1, Gal-3, TTF-1, EpCAM ve PCNA ekspresyonun değerlendirildiği bir çalışma bizim yaptığımız literatür araştırmasında bulunamadı.

CK-19, 40 kDa ağırlığına sahip düşük molekül ağırlıklı bir sitokeratindir (7,57). Reaktif tiroid dokusu, kronik lenfositik tiroidit, ince iğne aspirasyon alanları, hiperplastik nodül ve foliküler adenomda boyanma izlenebilir. Fakat papiller karsinomda daha kuvvetli ve diffüz boyanma paterni gözlenir (6,13,56). Yapılmış çalışmalarda TPK olgularında CK-19 'un yüksek seçicilik ve daha düşük oranda duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir (6,7,15,61).

Liu ve ark.'nın çalışmasında 168 papiller tiroid kanserli olguda CK-19 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı arasında ilişki araştırılmış ve anlamlı sonuç elde edilememiştir (11).

Dencic ve ark. ise tiroid papiller karsinom olgularında şiddetli CK-19 ekspresyonu ile multifokalite arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir (7).

Bizim çalışmamızda TPK olguları, lenf nodu metastazı ve/ veya multifokalite odağı var olan TPK primer tümörü ile lenf nodu ve/ veya multifokalite odakları CK-19 total boyanma skoru açısından ayrı ayrı ele alındığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamadı.

HBME-1, mezotelyal hücrelerde bulunan mikrovillus yüzey antijenine karşı geliştirilmiş monoklonal bir antikordur. Normal tiroid dokusunda ve benign tiroid lezyonlarında negatif olmasına rağmen foliküler adenom ve nodüler guatr olgularında pozitif olduğu çalışmalar bildirilmiştir (8). HBME-1 bazı çalışmalarda, CK-19 ve Gal-3' e göre daha sensitif bir immünohistokimyasal belirleyici olarak bildirilmiştir (15,66).

Dencic ve ark. ise yüksek HBME-1 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı, pTNM evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bildirmişlerdir (59).

Bizim çalışmamızda TPK olguları, lenf nodu metastazı ve/veya multifokalite odağı var olan TPK primer tümörü ile lenf nodu ve/ veya multifokalite odakları HBME-1 total boyanma skoru açısından ayrı ayrı ele alındığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamadı. Bu boyanma farklılığının olmaması tanısal açıdan papiller karsinomlarında yararlı bir belirteç olduğu çalışmalarını desteklemektedir. Fakat neoplazik gelişim açısından bir yararlılığının olmadığını düşündürmektedir.

Gal-3, hücre adezyonu ve hücrenin diğer fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alan lektin bağlayıcı beta galaktozidaz ailesinin bir üyesidir (34,60). Tiroid stroması, fibroblastlar, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri, histiositler ve polimorf nüveli lökositler tarafından eksprese edildiği bilinmektedir (10).

Gal-3, son yıllarda tiroid tümörlerinin değerlendirilmesinde umut verici moleküler bir belirteç olarak bulunmuştur (9,14,15,56,61,82,83). Tiroid tümörü biyolojisindeki tam olarak rolü bilinmemekle birlikte siklin D1 ve c-myc ekspresyonunda beta katenin uyarımını kontrol ettiği ve böylece hücre döngüsünün düzenleyicisi olarak görev aldığı bildirilmiştir (9). Ayrıca aşırı ekspresyonunun malign transformasyon ve metastaza neden olduğu ileri sürülmektedir (19,60,82-85).

Torregossa ve ark.'ı ise Gal-3 ekspresyonu ile tiroid kanserlerinin çeşitli histolojik tiplerinin (Papiller tiroid karsinomları, folliküler tiroid karsinomları, anaplastik tiroid karsinomları) lenf nodu metastazı ile arasında anlamlı sonuç bulmuşlardır (86).

Faggiano ve ark.'ı Gal-3 ekspresyonu ile meduller tiroid karsinomunda lenf nodu metastazının varlığının korele olduğunu bildirmişlerdir (87).

Bizim çalışmamızda bu çalışmaların aksine, lenf nodu metastazı/ multifokalite odağı bulunan primer tümör odakları ile bulunmayan PTK odakları Gal-3 için ayrı ayrı ele alındığında anlamlı sonuç bulunamadı.

Cvejic ve ark.'ı bizim çalışmamızda olduğu gibi Gal-3'ün immünohistokimyasal ekspresyonunun, lokal metastatik yayılım veya ekstratiroidal invazyon ile ilişkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yalancı negatifliği sebebiyle teşhiste dikkatle kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır (88).

Çalışmamızda lenf nodu metastazı odağında, primer tümör odağına göre Gal-3 ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir. Kawachi ve ark.' 1 metastatik papiller karsinomların primer tümör odaklarında Gal-3 ekspresyon şiddetinin nonmetastatik olanlara göre daha yüksek olduğunu, fakat lenf nodlarındaki odaklarda Gal-3 seviyesinin düşük olduğunu bildirmiştir. Bu durumu değerlendirerek tiroid malignitelerinde Gal-3 miktarının azalmasının hücreler arası ve hücre-matriks arasındaki adhezyonu azaltarak karsinom hücrelerinin primer odaktan ayrılmasını ve dolayısıyla metastazı kolaylaştıracağını öne sürmüştür (89). Başka bir çalışmada aynı şekilde Türköz ve ark.' 1 tiroid papiller karsinomunun erken dönemlerinde Gal-3 ekspresyon yoğunluğunun tümörün ilerlemesi ile azaldığını bildirmiştir. Bu bulguyu Gal-3' ün matrikste hücre adezyonundaki rolü ile ilişkilendirmiştir (90).

TTF-1, transkripsiyon faktörlerinin NKx2 ailesinin bir üyesidir (62,91). Tiroid folikül hücreleri dışında akciğer tümörleri, küçük hücreli karsinomlar, medüller tiroid karsinomunda da pozitifdir (34).

Çalışmamızda TTF-1 ekspresyonu, multifokalite odağında ve buna ait tümörün primer odağında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi. Multifokalite odağında daha yoğun ekspresyon gösteren TTF-1' in literatürde bu konu ile çalışması çok azdı. Bejarano ve ark.' 1, TTF-1' in tiroglobuline göre tiroid neoplazmlarında kötü diferansiyasyon ve metastaz için daha duyarlı bir belirteç olduğunu ifade etmiştir (91). Öte yandan Barlesi ve ark.' 1 ile Li ve ark.' 1, TTF-1 ekspresyonu ile akciğer karsinomlarının prognozu arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (92,93). Bu bilgiler ve çalışmamızdaki TTF-1' in anlamlılığı daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiği sonucuna ulaşmamızı sağladı.

EpCAM, 289 aminoasit uzunluğunda hücre dışı alan(EpEX) ile 26 aminoasit uzunluğunda hücre içi alandan(Ep-ICD) oluşan 40 kDa' lık bir transmembran proteindir (63,68). Normal kök ve progenitör hücrelerde, meme, kolon, pankreas ve prostat karsinomlarında eksprese edilir (17). Son zamanlarda, Ep-ICD' nin nükleer ve sitoplazmik birikimi ve membranöz EpEX kaybı tiroid kanserlerinde kötü prognoz için belirteç olarak bildirilmiştir (17,18,68,69).

Çalışmamızda multifokalite odağı ile buna ait primer tümör odağında EpCAM ekspresyonu açısından anlamlı farklılık gözlemlendi. Multifokalite odağında EpCAM (EpEX) ekspresyonunun membranöz kaybı izlendi.

Ralhan ve ark.' ı düşük dereceli PTK' nin EpCAM ile membranöz ekspresyon gösterdiğini, nükleer ekspresyonun ise saptanabilir düzeyde olmadığını bildirmiştir. Öte yandan anaplastik tiroid karsinomlarında membranöz ekspresyon kaybı ile EpCAM' ın artmış nükleer birikimi gözlemlendiğini ileri sürmektedir (17).

He ve ark' ı agresif papiller tiroid karsinomunu agresif olmayan tiplerden ayırt etmek için EpCAM' ın hücre içi alanında nükleer birikiminin önemli bir belirteç olduğunu savunmuştur (69).

Kunavisarut ve ark' ı ise metastazlı papiller tiroid mikrokarsinom hastalarında nükleer ve sitoplazmik Ep-ICD immun boyaması metastazı olmayan hastalara oranla yüksek skorlu olduğunu bildirmiştir. Buna ek olarak membranöz EpEX skorları metastatik hastalarda daha düşük bulunmuştur. Bu parametrelerin birleştirilmesi ile belirteçlerin tanısal ve prognostik yararlarını arttırabileceğini düşünerek bir skor indeksi bildirmişlerdir. Ep-ICD subsellüler lokalizasyon indeksi (ESLI), nükleer ve sitoplazmik Ep-ICD birikimi ve membranöz EpEx kaybı için IHC skorlarının toplamı olarak tanımlandı; $ESLI = [Ep-ICD\ nuc + Ep-ICD\ sit + membranöz\ EpEx\ kaybı]$ (xx,yy) PTMC' de lenf nodu metastazı tahmininde ESLI' nın kullanılmasının tedaviyi yönlendirebileceği, rekürrens ve uzak metastazları bu şekilde önleyebileceği savunulmuştur (68).

Literatür taramaları ve bizim çalışmamız EpCAM için daha çok ve kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiğini göstermektedir.

PCNA, hücre döngüsünde replikasyon sırasında DNA sentezi için gerekli, DNA polimeraz-delta'nın kofaktörü olan 262 aminoasit sekanslı, 36 kDa ağırlığında bir nükleer proteindir (19-21). Tiroid kanseri, göğüs kanseri, pankreas kanseri ve astrositomlar gibi birçok kanserde aşırı eksprese edilir (22).

Yapılan çalışmalarda PCNA ekspresyonunun mide karsinomlarında, prostat kanserlerinde (94), mesane ürotelyal karsinomlarında (20,22), parotis tükürük bezi kanserlerinde (95) kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Scopelitou ve ark.' ı medüller tiroid karsinomlarında tümörün patolojik evresi ve derecesi ile PCNA ekspresyonu arasında pozitif ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir (96).

Aratake ve ark.' ı anaplastik tiroid karsinomlarında iyi diferansiye ve undiferansiye alanlarda PCNA ekspresyonu açısından farklılık izlendiğini, undiferansiye alanlarda diğer proliferatif belirteçlerle birlikte yüksek ekspresyon gösterdiğini bildirmiştir. Bu moleküllerin, tümörün agresif gidişini ve prognozunu değerlendirmek için yararlı olabileceğini ileri sürmüştür (84).

Shimizu ve ark.' ı PCNA/siklin pozitif çekirdek oranının tiroid tümörlerinin klinik davranışını yansıttığını bildirmişlerdir. Tiroid papiller karsinomlarının iyi ve kötü diferansiye gruplarında bir farklılık izlemezken, benign ve malign tiroid lezyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermişlerdir (97).

Çalışmamızda PCNA ekspresyonu metastatik ve nonmetastatik tümör odaklarında, mulifokalite/ lenf nodu metastazı odaklarında ayrı ayrı değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu çalışmada 26 unifokal TPK, 25 multifokalite/lenf nodu metastazı var olan TPK primer tümör, lenf nodu metastazı ve multifokalite odakları ele alındı.
- Tüm lezyonlara rutinde yaygın olarak kullanılan CK-19, HBME-1, Gal-3, TTF-1' e ek olarak EpCAM ve PCNA immünohistokimyasal çalışma uygulandı.
- CK-19 ve HBME-1 boyanma skoru açısından, olgu gruplarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç izlenmedi. Bu da CK-19 ve HBME-1' in, ayırıcı tanıda önemli belirteçler olmasına karşın lenf nodu metastazı ve multifokalite odaklarında tanısal açıdan bir farklılık olmadığını gösteren çalışmalarını destekledi.
- Gal-3 boyanma skoru açısından, lenf nodu metastazı odağında, primer tümör odağına göre Gal-3 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir. Tiroid malignitelerinde Gal-3 miktarının azalmasının lenf nodu metastazı ile korele olduğu gösterildi. Bu sonuç Gal-3' ün tiroid papiller karsinom progresyonunda etkili olduğunu düşündürmektedir.
- TTF-1 boyanma skoru açısından, multifokalite odağında, buna ait tümörün primer odağına göre istatistiksel olarak anlamlı sonuç verdi. Multifokalite odağında boyanma skoru daha yüksek olan TTF-1' in daha fazla olgu içeren çalışmalarla desteklenmesi daha doğru sonuç verecektir.
- EpCAM boyanma skoru açısından, multifokalite odağında, buna ait tümörün primer odağına göre istatistiksel olarak anlamlı sonuç izlendi. EpCAM' ın multifokalite odağında membranöz ekspresyon kaybı gözlemlendi. EpCAM tiroid malignitelerinde lenf nodu metastazı, multifokalite ve diğer prognostik faktörler için yararlı bir belirteç olabilir. Daha geniş kapsamlı çalışmalar ile desteklenebilir.
- PCNA boyanma skoru açısından, olgu gruplarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç izlenmedi.

KAYNAKLAR

1. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Endocrine Organs. Lyon, IARC Pres, 2004:50-66.
2. Thompson LDR, Malignant neoplasms of the thyroid gland. In: Thompson LDR, ed. Endocrine Pathology. Foundations in Diagnostic Pathology. Vol 5. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier, 2006: 77-144.
3. Dinets A, Hulchiy M, Sofiadis A, et al. Clinical, genetic, and immunohistochemical characterization of 70 Ukrainian adult cases with post-Chornobyl papillary thyroid carcinoma. Eur J Endocrinol. 2012; 166(6): 1049-1060.
4. Rosai J, Tallini G. Thyroid Gland. In: Rosai J, editor. Acherman's Surgical Pathology. 10th ed. Mosby, Inc 2011: 487-513.
5. Elsheikh TM, Asa SL, Chan JK, et al. Interobserver and intraobserver variation among experts in the diagnosis of thyroid follicular lesions with borderline nuclear features of papillary carcinoma. Am J Clin Pathol. 2008;130:736-744.
6. Barut F, Onak Kandemir N, Bektas S ve ark. Universal markers of thyroid malignancies: galectin-3, HBME-1, and cytokeratin-19. Endocr Pathol. 2010;21(2):80-9.
7. Isic Dencic T, Cvejic D, Paunovic I, et al. Cytokeratin19 expression discriminates papillary thyroid carcinoma from other thyroid lesions and predicts its aggressive behavior. Med Oncol. 2013;30(1):362.
8. Dunderovic D, Lipkovski JM, Boricic I, et al. Defining the value of CD56, CK-19, Galectin 3 and HBME-1 in diagnosis of follicular cell derived lesions of thyroid with systematic review of literature. Diagnosis pathology. 2015;10:196.

9. Park YJ, Kwak SH, Kim DC, et al. Diagnostic value of galectin-3, HBME-1, cytokeratin 19, high molecular weight cytokeratin, cyclin D1 and p27kip1 in the differential diagnosis of thyroid nodules. *J Korean Med Sci.* 2007;22(4):621-8.
10. Mataracı EA, Özgüven BY, Kabukçuoğlu F. Expression of cytokeratin 19, HBME-1 and galectin-3 in neoplastic and nonneoplastic thyroid lesions. *Pol J Pathol.* 2012;63(1):58-64.
11. Liu Z, Li X, Maimaiti Y, et al. Cytokeratin 19, thyroperoxidase, HBME-1 and galectin-3 in evaluation of aggressive behavior of papillary thyroid carcinoma. *International journal of clinical and experimental medicine.* 2014;7(8):2304-8.
12. Scognamiglio T, Hyjek E, Kao J, Chen YT. Diagnostic usefulness of HBME-1, galectin-3, CK-19, and CITED1 and evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma. *American journal of clinical pathology.* 2006;126(5):700-8.
13. Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, et al. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol.* 2001;14:338-42.
14. Ma H, Xu S, Yan J, et al. The value of tumor markers in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma alone and in combination. *Pol J Pathol.* 2014;65(3):202-9.
15. de Matos LL, Del Giglio AB, Matsubayashi CO, et al. Expression of CK-19, galectin-3 and HBME-1 in the differentiation of thyroid lesions: systematic review and diagnostic meta-analysis. *Diagn Pathol.* 2012;7:97.
16. Rosai J, Tallini G. *Special Techniques in Surgical Pathology.* In: Rosai J, editor. *Ackerman's Surgical Pathology.* 10th ed. Mosby, Inc 2011:43-65
17. Ralhan R, Cao J, Lim T, et al. EpCAM nuclear localization identifies aggressive thyroid cancer and is a marker for poor prognosis. *BMC Cancer.* 2010; 10:331.
18. Okada T, Nakamura T, Watanabe T, et al. Coexpression of EpCAM, CD 44 variant Isoforms and Claudin-7 in anaplastic thyroid carcinoma. *PLoS ONE.* 2014; 9(4): e94487.
19. Cvejic D, Savin S, Petrovic I, et al. Galectin-3 and Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) expression in papillary thyroid carcinoma. *Exp Oncol.* 2005;27(3): 210-4.

20. Hattori K, Uchida K, Akaza H, et al. Proliferating cell nuclear antigen cyclin in human transitional cell carcinoma. *Br J Urol.* 1995;75(2):162-6.
21. Shina H, Nagami H, Yagi H, et al. Immunohistological analysis of proliferating cell nuclear antigen, p53 protein and nm23 protein and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer.* 1996;78(8):1762-74.
22. Cvejic D, Selemetjev S, Savin S, et al. Changes in the balance between proliferation and apoptosis during the progression of malignancy in thyroid tumours. *Eur J Histochem.* 2009;53(2): 65-71.
23. Feng L, Li M, Zhang QP, et al. Utility of BRAF protein overexpression in predicting the metastasis potential of papillary thyroid carcinoma. *Oncol Lett.* 2011;2(1):59-63.
24. L.Carlos Junqueri, *Temel Histoloji.* Aytekin Y, Çev. Ed. 8.Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi, 1998:395-400
25. Sadler TW. *Langman' s Medical Embryology.* Çeviri: Başaklar AC. Langman Medical Embriyoloji. Ankara. Palme Yayıncılık. 2005;375-380.
26. Mills SE. *Histology for Pathologists.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007:1129-1148.
27. Nikiforov YE, Bittinger PW. Normal Anatomy and Histology. In: Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LDR. *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid.* 1 th Ed. Philadelphia: JB Lippincott 2009: 1-10
28. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Anatomy of the thyroid gland. In *Surgical Anatomy and Technique.* Springer-Verlag. New York. 1995;31-44.
29. Dere F. Glandula Thyroidea ve Parathyroidea. *Anatomi* 1990; 497-502
30. Imada M, Kurosumi M, Fujita H. Three-dimensional imaging of blood vessels in thyroids from normal and levothyroxine sodium-treated rats. *Arch Histol Jpn.* 1986;49(3):359-67.
31. Imada M, Kurosumi M, Fujita H. Three-dimensional aspect of blood vessels in thyroids from normal, low iodine diet-treated, TSH-treated, and PTU-treated rats. *Cell Tissue Res.* 1986;245(2):291-6.
32. Henry JF. Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and recürrent and external laryngeal nerves. Clark OH, Duh QY(ed). *Textbook of Endocrine Surgery.* Wb Saunders. Philadelphia. 1997;2:8-14.

33. Guyton AC, Hall JE. Medical Physiology. Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ. Tıbbi Fizyoloji. 11. Basım. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri. 2007:931-942.
34. Nikiforov YE, Bittinger PW. Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid. 1 th Ed. Philadelphia: JB Lippincott 2009: 60-214.
35. Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. Head Neck Pathol. 2011;5(1):51-6.
36. Albores-Saavedra J, Gould E, Vardaman C, Vuitch F. The macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma: a study of 17 cases. Hum Pathol. 1991;22(12):1195-205.
37. Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LDR. Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid: A Comprehensive Guide for Practicing Thyroid Pathology: Wolters Kluwer Health; 2012.
38. Kim TS, Asato R, Akamizu T, et al. A rare case of hyperfunctioning papillary carcinoma of the thyroid gland. Acta Oto-Laryngol 2007;127:55-7.
39. Mazzaferri EL, Kloss RT. Clinical review 128: Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2001;86(4):1447-63.
40. Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, et al. Papillary carcinoma of the thyroid. A clinicopathologic study of 21 cases treated at the University of Florence, Italy. Cancer 1985;55(4):805-28.
41. Lloyd RV. Pathology of thyroid gland. In: Khan A, Nose V, editors. Endocrine Pathology: Differential Diagnosis and Molecular Advances. 2th ed. New York: Springer Science+Business Media, LLC. 2010. 181-210
42. Ivanova R, Soares P, Castro P, Sobrinho-Simoes M. Diffuse (or multinodular) follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of ten cases of an aggressive form of differentiated thyroid carcinoma. Virchows Arch 2002;440(4):418-24.
43. Emad R, Maha A, Kfoury HK, et al. Three cases of macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma. Ann Saudi Med. 2011;31(6):644-7.
44. Albores-Saavedra J, Wu J. The many faces and mimics of papillary thyroid carcinoma. Endocr Pathol. 2006;17(1):1-18.

45. Wang X, Cheng W, Liu C, Li J. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: current evidence on clinicopathologic features and molecular biology. *Oncotarget*. 2016;7(26): 40792-799.
46. Wenig BM, Thompson LDR, Adair CF, et al. Thyroid papillary carcinoma of columnar cell type. *Cancer*. 1998; 82: 740-753.
47. Chikkamuniyappa S, Jagirdar J. Cribriform-morular variant of papillary carcinoma: association with Familial Adenomatous Polyposis - report of three cases and review of literature. *Int. J. Med. Sci*. 2004; 1(1): 43-49.
48. Lam AK-y, Saremi N. Cribriform-morular Variant of papillary thyroid carcinoma: a distinctive type of thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2017; 24: 109-121.
49. Apel RL, Asa SL, LiVolsi VA. Papillary hurthle cell carcinoma with lymphocytic stroma. "Warthin-like tumor" of the thyroid. *Am J Surg Pathol*. 1995;19(7):810-4.
50. Asioli S, Erickson LA, Sebo TJ, et al. Papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features: a new aggressive variant of moderately differentiated papillary carcinoma. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of 8 cases. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34(1):44-52.
51. Chan JK, Carcangiu ML, Rosai J. Papillary carcinoma of thyroid with exuberant nodular fasciit-like stroma. Report of three cases. *Am J Clin Pathol*. 1991;95(3):309-14.
52. Park SY, Park YJ, Lee YJ, et al. Analysis of differential BRAF V600E mutational status in multifocal papillary thyroid carcinoma: evidence of independent clonal origin in distinct tumor foci. *Cancer*. 2006;107(8):1831-8.
53. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(8):1256-64.
54. Erhan Y, Aydede H, Sakarya A. Tiroid kanserlerinde prognostik faktörler. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*. 1999;5(1-2):69-77.
55. Baloch ZW, LiVolsi VA. Cytologic and architectural mimics of papillary thyroid carcinoma. Diagnostic challenges in fine-needle aspiration and surgical pathology specimens. *Am J Clin Pathol*. 2006;125(Suppl 1):S135-44.

56. Wu G, Wang J, Zhou Z, et al. Combined staining for immunohistochemical markers in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: improvement in the sensitivity or specificity? *J Int Med Res.* 2013;41(4):975-83.
57. Rorive S, Eddafali B, Fernandez S, et al. Changes in galectin-7 and cytokeratin 19 expression during the progression of malignancy in thyroid tumors: diagnostic and biological implications. *Mod Pathol.* 2002;15(12):1294-1301.
58. Fischer S, Asa SL. Application of immunohistochemistry to thyroid neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(3):359-72.
59. Isic Dencic TM, Savin SB, Selemetjev SA, et al. Strong Expression of HBME-1 Associates with High-Risk Clinicopathological Factors of Papillary Thyroid Carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2015.
60. Tang W, Huang C, Tang C, et al. Galectin-3 may serve as a potential marker for diagnosis in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *OncoTargets and therapy.* 2016;9:455-60.
61. Rossi ED, Raffaelli M, Mule A, et al. Simultaneous immunohistochemical expression of HBME-1 and galectin-3 differentiates papillary carcinomas from hyperfunctioning lesions of the thyroid. *Histopathology* 2006, 48:795–800.
62. Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, et al. Thyroid transkripsiyon faktor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol* 2000;13(3):238-242.
63. Fong D, Seeber A, Terracciano L, et al. Expression of EpCAM and EpCAM variants in human carcinomas. *J Clin Pathol.* 2014;67(5):408-14.
64. Van Dierendonck JH, Vijsman SH, Keiuzer R, et al. Cell-cycle-related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. Comparison with Brdurd labeling and Ki-67 staining. *Am J Pathol.* 1991;138(5):1165-1172.
65. Sethi K, Sarkar S, Das S, et al. Expression of CK-19, NF-kappaB, E-cadherin, beta-catenin and EGFR as diagnostic and prognostic markers by immunohistochemical analysis in thyroid carcinoma. *J Exp Ther Oncol.* 2011;9(3):187-99.
66. Nechifor-Boila A, Borda A, Sassolas G, et al. Immunohistochemical markers in the diagnosis of papillary thyroid carcinomas: The promising role of

- combined immunostaining using HBME-1 and CD56. *Pathol Res Pract.* 2013;209(9):585-92. doi: 10.1016/j.prp.2013.06.012.
67. Bishop JA, Sharma R, Illei PB, Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid and malignant mesothelioma. *Hum Pathol.* 2010;41(1):20-5.
 68. Kunavisarut T, Kak I, MacMillan C, et al. Immunohistochemical analysis based Ep-ICD subcellular localization index (ESLI) is a novel marker for metastatic papillary thyroid microcarcinoma. *BMC Cancer.* 2012;12:523.
 69. He HC, Kaskat L, Kak I, et al. An Ep-ICD based index is a marker of aggressiveness and poor prognosis in thyroid carcinoma. *PLoS ONE.* 2012;7(9): e42893.
 70. Kuang RG, Wu HX, Hao GX, et al. Expression and significance of IGF-2, PCNA, MMP-7 and α -actin in gastric carcinoma with Lauren classification. *Turk J Gastroenterol.* 2013; 24(2):99-108.
 71. Aratake Y, Nomura H, Kotani T, et al. Coexistent anaplastic and differentiated thyroid carcinoma: An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 2006; 125:399-406.
 72. Czyz W, Joensuu H, Pylkkänen L, Klemi PJ. p53 protein, PCNA staining and DNA content in follicular neoplasms of the thyroid gland. *J Pathol.* 1994;174(4):267-74.
 73. Chem KT, Rosai J. Follicular variant of thyroid papillary carcinoma: a clinicopathologic study of six cases. *Am J Surg Pathol.* 1977;1(2):123-30.
 74. Nakamura T, Moriyama S, Nariya S, et al. Macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathol Int.* 1998;48(6):467-70.
 75. Lugli A, Terracciano LM, Oberholzer M, et al. Macrofollicular variant of papillary carcinoma of the thyroid: a histologic, cytologic, and immunohistochemical study of 3 cases and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2004;128(1):54-8.
 76. Yeo MK, Bae JS, Oh WJ, et al. Macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma with extensive lymph node metastases. *Endocr Pathol.* 2014;25(3):265-72.
 77. Değer Ö, Ersoy İH, Aksu O ve ark. Evaluation of demographic, histopathologic and radiological features of thyroid cancer patients. *J Turgut Ozal Med Cent.* 2013;20(3):202-7.

- 78.** Zaydfudim V, Feurer ID, Griffin MR, Phay JR. The impact of lymph node involvement on survival in patients with papillary and follicular thyroid carcinoma. *American Association of Endocrine Surgeon*. 2008;144(6):1070-7.
- 79.** Chow SM, Law SC, Chan JK, et al. Papillary microcarcinoma of the thyroid- prognostic significance of lymph node metastasis and multifocality. *Cancer*. 2003;98(1):31-40.
- 80.** Wada N, Duh Q-Y, Sugino K, et al. Lymph node metastasis from 259 papillary thyroid microcarcinomas: Frequency, pattern of occurrence and recurrence, and optimal strategy for neck dissection. *Ann Surg*. 2003;237(3):399-407.
- 81.** Kasai N, Sakamoto A. New subgrouping of small thyroid carcinomas. *Cancer*. 1987;60:1767-1770.
- 82.** Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, et al. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. 2001;357(9269):1644-50.
- 83.** Sumana BS, Shashidhar S, Shivarudrappa AS. Galectin-3 immunohistochemical expression in thyroid neoplasms. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(11):EC07-11.
- 84.** Xin M, Dong XW, Guo XL. Role of the interaction between galectin-3 and cell adhesion molecules in cancer metastasis. *Biomed Pharmacother*. 2015;69:179-85.
- 85.** Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, et al. Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *Am J Pathol*. 2010;176(5):2067-81.
- 86.** Torregrossa L, Faviana P, Camacci T, et al. Galectin-3 is highly expressed in noncapsulated papillary thyroid carcinoma but weakly expressed in encapsulated type; comparison with Hector Battifora mesothelial cell 1 immunoreactivity. *Hum Pathol*. 2007;38(10):1482-8.
- 87.** Faggiano A, Talbort M, Lacroix L, et al. Differential expression of galectin-3 in medullary thyroid carcinoma and C-cell hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57(6):813-9.
- 88.** Cvejic D, Savin S, Petrovic I, et al. Galectin-3 expression in papillary thyroid carcinoma: relation to histomorphologic growth pattern, lymph node

metastasis, extrathyroid invasion, and tumor size. *HEAD&NECK*. 2005;27(12):1049-55.

89. Kawachi K, Matsushita Y, Yonezawa S, et al. Galectin-3 expression in various thyroid neoplasms and its possible role in metastasis formation. *Hum Pathol*. 2000;31(4):428-33.
90. Türköz HK, Öksüz H, Yurdakul Z, Özcan D. Galectin-3 expression in tumor progression and metastasis of papillary thyroid carcinoma. *Endocr Pathol*. 2008;19(2):92-6.
91. Bejarano PA, Nikiforov YE, Swenson ES, Biddinger PW. Thyroid transcription factor-1, thyroglobulin, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in thyroid neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2000;8(3):189-94.
92. Barlesi F, Pinot D, LeGoffic A, et al. Positive thyroid transcription factor 1 staining strongly correlates with survival of patients with adenocarcinoma of the lung. *Br J Cancer*. 2005;93(4):450-2.
93. Li X, Wan L, Shen H, et al. Thyroid transcription factor 1 amplification and expressions in lung adenocarcinoma tissues and pleural effusions predict patient survival and prognosis. *J Thorac Oncol*. 2012;7(1):76-84.
94. Jain S, Filipe MI, Hall PA, et al. Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric cancer. *J Clin Pathol*. 1991;44(8):655-9.
95. Frankenthaler RA, El-Naggar AK, Ordonez NG, et al. High correlation with survival of proliferating cell nuclear antigen expression in mucoepidermoid carcinoma of the parathyroid gland. *Otolaryngology- Head and Neck Surg*. 1994;111(4):460-6.
96. Skopelitou A, Korkolopoulou P, Papanikolaou A, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in medullary thyroid carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1993;119:379-381.
97. Shimizu T, Usuda N, Yamanda T, et al. Proliferative activity of human thyroid tumors evaluated by proliferating cell nuclear antigen/cyclin immunohistochemical studies. *Cancer*. 1993;71(9):2807-2812.