

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN

**PAPİLLER TİROİD KARSİNOMLARINDA FOXE1,
IMP3 ve TERT EKSPRESYONU**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Nurtaç SARIKAŞ

EDİRNE-2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince destek ve katkılarını esirgemeyen ve tez çalışmamda özveri ile beni yönlendiren sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN'a, mesleki görgü, bilgi ve tecrübelerimi kazanmamda payları olan ve eğitimime katkı sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. A. Kemal KUTLU, Prof. Dr. Filiz ÖZYILMAZ, Prof. Dr. Ufuk USTA, Doç. Dr. Fulya ÖZ PUYAN, Doç. Dr. Tülin Deniz YALTA, Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŐTEKİN'e, tezin teknik ve immünohistokimyasal çalışmalarını yürüten Laboratuvar Teknisyeni Erdiñç ÖZER, Yüksek Biyolog Muzaffer TUDAN ve diğler teknisyen arkadaşlarıma, istatistiksel değerlendirme aşamasında yardımcı olan Biyoistatistik AD.'dan Prof. Dr. Necdet SÜT'e ve asistanlık sürecim boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
EMBRİYOLOJİ	3
ANATOMİ	4
TİROİD TÜMÖRLERİ	5
FOLİKÜLER KARSİNOM	7
PAPİLLER TİROİD KARSİNOMU	8
FOXE1	20
IMP3	21
TERT	21
GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
BULGULAR	25
TARTIŞMA	49
SONUÇLAR	57
ÖZET	59
SUMMARY	61
KAYNAKLAR	63
EKLER	

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AJCC:** American Joint Committee on Cancer (Amerikan Birleşik Kanser Komitesi)
- AKT:** Protein kinaz B aktivatörü
- AMP:** Adenozin monofosfat
- BRAF:** B-Raf proto-oncogene serine/threonine-protein kinase (B-Raf proto-onkogen serin/treonin-protein kinaz)
- CITED1:** CREB-binding protein/p300-interacting transactivator with Asp/Glu-rich C-terminal domain (CREB-bağlayıcı protein/ p300 ile etkileşime giren Aspartat/Glutamattan zengin C-terminal alanı)
- CREB:** Cyclic amp-response element binding protein (Siklik adenozin monofosfat-yanıtlı element bağlayıcı protein)
- DAB:** 3,3'diaminobenzidin
- DNA:** Deoksiribonükleik Asit
- FDG :** Florodeoksiglukoz
- FOXE1:** Forkhead box E1
- H&E:** Hematoksilen ve Eozin
- HBME-1 :** Human Bone Marrow Endothelial cell (İnsan kemik iliği endotelyal hücresi)
- HMGA2:** High-mobility group adenine-thymine-hook 2 (Yüksek-mobiliteye sahip adenin-tiamin-kanca 2 grubu)
- IGF-II:** İnsülin-benzeri büyüme faktörü- II
- IMP1:** Insulin-like growth factor-II messenger RNA (mRNA)-binding protein-1 (İnsülin-benzeri büyüme faktörü- II haberci RNA (mRNA)- bağlayıcı protein-1)

IMP2: Insulin-like growth factor-II messenger RNA (mRNA)-binding protein-2 (İnsülin-benzeri büyüme faktörü- II haberci RNA (mRNA)- bağlayıcı protein-2)

IMP3 Insulin-like growth factor-II messenger RNA (mRNA)-binding protein-3 (İnsülin-benzeri büyüme faktörü- II haberci RNA (mRNA)- bağlayıcı protein-3)

KOC: K-homology domain containing protein (K-homolog alanı içeren protein)

miRNA: Mikro Ribonükleik asit

mRNA: Messenger RNA (Haberci RNA)

NTRK: Neurotrophic tyrosine kinase receptor (Nörotropik tirozin kinaz reseptör)

PAX8: Paired box gene 8 (Eşli kutu geni 8)

PET/CT : Positron emission tomography / computed tomography (Pozitron emisyon tomografi/ Bilgisayarlı tomografi)

PI3K: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase (Fosfatidilinozitol-4-5-bisfosfat 3-kinaz)

PPAR-γ: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama)

PTEN: Phosphatase and tensin homolog (Fosfataz ve tensin homolog)

PTK: Papiller Tiroid Karsinomu

RAS: Rat sarcoma viral oncogene (Sıçan sarkomu viral onkogen)

RET/PTC: “Rearranged during transfection”/ Papillary Thyroid Carcinoma (“Transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş”/ Papiller Tiroid Karsinomu)

RT-PCR: Revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu

SCN : Solid cell nest (Solid hücre adası)

SNP: Single nucleotide polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)

TERT: Telomerase reverse transcriptase (Telomeraz revers transkriptaz)

TGB: Tiroglobulin

TNM: Tümör boyutu, etkilenen lenf nodu, metastazlar

TRK: Tirozin kinaz reseptör

TTF-1: Tiroid transkripsiyon faktörü-1

TTF-2: Tiroid transkripsiyon faktörü-2

UBB: Ultimobranchial body (Ultimobranşial cisimcik)

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin malignitedir ve insidansı dünya çapında bir çok ülkede son 30 yılda artış göstermektedir (1-4).

Papiller tiroid karsinomu (PTK) en sık görülen tiroid kanseridir ve tüm tiroid kanserlerinin yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır (5). Kadınlarda erkeklere göre görülme sıklığı yaklaşık 3:1'dir (6).

Son yıllarda PTK'nın ailesel olduğu kabul görse de, tümörlerin büyük çoğunluğu sporadik ve nonfamiliyal vakalardır. PTK etyolojisinde; iyonize radyasyon, iyottan zengin beslenme, daha önceden var olan benign tiroid hastalıkları (soliter nodül ve guatr), hormonal ve reproduktif faktörler, herediter faktörler yer alırken patogenez ve moleküler genetik zeminde; klonalite ve multifokalite, DNA plöidi, sitogenetik anormallikler, heterozigosite kaybı, somatik mutasyonlar (BRAF (B-Raf proto-onkogen serin/treonin-protein kinaz), RET/PTC ("Transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş"/ Papiller Tiroid Karsinomu), RAS(Sıçan sarkomu viral onkogen), TRK (Tirozin kinaz reseptör), PAX8/PPAR- γ (Eşli kutu geni 8/Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama), PI3K/PTEN/AKT (Fosfatidilinozitol-4-5-bisfosfat 3-kinaz/ Fosfataz ve tensin homolog/ Protein kinaz B aktivatörü) yolağı mutasyonları, onkositik varyant papiller karsinomundaki mutasyonlar), tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) yer almaktadır (7,8).

Transkripsiyon faktörleri arasında forkhead/winged helix ailesi üyesi olan Forkhead box E1 (FOXE1) geni, bir DNA-bağlama proteini olan Tiroid Transkripsiyon Faktörü-2'yi (TTF-2) kodlar (9). İnsanlarda FOXE1 tiroid organogenezisi ve tiroisit prekürsör migrasyonu ve diferansiyasyonu için anahtar rol oynar (10,11).

Son zamanlarda yapılan birçok genetik ilişki konusundaki genom bazlı (12,13) ya da aday gen yaklaşımı çalışmaları (14-17), FOXE1 gen lokusundaki proksimal bölgesinde (rs965513: G> A) ya da direkt olarak (rs1867277: c.-238G> A) tek nükleotid polimorfizmlerinin etnik çeşitliliği olan popülasyonlarda PTK'larında duyarlılık açısından bir genetik belirteç olabileceğini ortaya koymuştur (8).

İnsülin-benzeri büyüme faktörü- II (IGF-II) haberci RNA (mRNA)- bağlayıcı protein-3 (IMP3), IGF-II'nin transkripsiyonundan sorumlu mRNA bağlanma parametrelerinden biri olup (diğerleri IMP1 ve IMP2'dir), kromozom 7p11.2'de lokalizedir. IMP3 onkofetal bir proteindir ve embriyogenez esnasında fetal dokulardan (epitel ve kas dokusu) ve plasentadan eksprese olur. Son 5 yılda tamamlanan çalışmalar birçok yetişkin insan tümöründe (özellikle pankreas, karaciğer, böbrek, uterus, testis) ve nadiren benign dokularda IMP3'ün yeniden eksprese olduğunu göstermiştir (8). IMP3 ekspresyonunun ileri evre ve agresif tümör davranışı (tümör boyutu, lenfovasküler invazyon gibi) ile ilişkili olduğu saptanmıştır (18).

Telomeraz revers transkriptaz (TERT), telomerazın subunitidir. Bir integral RNA subuniti ve çeşitli türe spesifik proteinlerden oluşmaktadır. Görevi, kromozomların ucuna telomer (ard arda sıralı tekrarlayan TTAGGG sekansları) eklemek (19) ve böylece kromozom bütünlüğü ve genom stabilitesini sağlamaktır (20).

Telomeraz aktivasyonu kanser ile direkt ilişkili olduğu bilinen (21) ve malign tümörlerin yaklaşık %80'inde tanımlanmış bir ölümsüzlük enzimidir (22,23). Telomeraz revers transkriptaz (TERT) geni telomerazın katalitik bir subunitini kodlayarak telomerlerin uzunluğunu sabitler. TERT mutasyonları malign melanom, gliyal tümörler, mesane tümörleri, az diferansiye tiroid karsinomlarında ve yüksek riskli PTK'larda tanımlanmıştır (24-26).

Çalışmamızda, genellikle indolan klinik davranış gösteren, ancak bazı vakalarda agresif davranış gösterme potansiyeli olabilmesine rağmen tümör evresine dayalı olarak genel tedavi prosedürleri uygulanan farklı histolojik tipteki papiller tiroid karsinomlarında FOXE1, IMP3 ve TERT immünekspresyonunun immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirilmesi ve antikorların ekspresyon durumu ile klinik ve prognostik histopatolojik bulguların karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

GENEL BİLGİLER

EMBRİYOLOJİ

İnsan tiroidi ilk önce bir median ve iki lateral tomurcuktan (anlage) meydana gelir. Bu oluşum ilk başta sferik şekilli iken, gebeliğin 7. haftasında tiroid önünde yerleşerek bilobe hal alır. Aşağıya doğru olan bu göç sırasında tiroglossal duktus atrofiye uğrar ve bireylerin %40'ında bu yapının kalıntısı olarak piramidal lob oluşur (27,28).

Gestasyonun 9. haftasında foliküler hücreler kordonlar ve tabakalar oluşturmaya başlar. Küçük foliküller 10. haftada ortaya çıkar. Bu primitif foliküllerde hafif granüler materyal birikimi belirir ve bu materyal 20. haftada kolloidin morfolojik özelliklerini kazanır. 14. haftayla birlikte santral lümen kolloidi içeren tam gelişmiş foliküller oluşmaya başlar. Folikül hücrelerinin sitoplazmaları ve intralüminal kolloid tiroglobulin (TGB) ile pozitifdir (27,29,30). Tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1) median tiroid tomurcuğunda da eksprese edilir. Tiroidin iki lateral tomurcuğu, 4. ve 5. brankial poş kompleksinden köken alan ultimobrankial cisimlerden (UBB) gelişirler (11,31).

Lateral tomurcukların median tomurcukla füzyonundan sonra (terme 9 hafta kala) ultimobrankial cisimler dissolüsyon fazına girerler ve santral kalın duvarlı çok katlı epitelyal kist ve foliküller arasına dağılmış hücre gruplarından (C hücreleri) oluşan periferik komponent olarak ikiye ayrılırlar. Postnatal hayatta santral epitelyal kist büyük oranda ortadan kaybolur, kalıntıları solid hücre adaları (solid cell nests: SCNs) olarak adlandırılır (32,33).

C hücreleri nöral krestten köken alır ve UBB'lere göç ederler (34,35).

Fetal tiroid glandı intrautein 4. aya kadar hızla gelişir (vertikal uzunluğu 18 mm). Doğumdan sonra büyüme hızı vücutla orantılı olup yaklaşık 15 yılda normal yetişkin ağırlığa ulaşır (27).

ANATOMİ

Normal yetişkin tiroidinin, iki büyük lob ve bu lobları birleştiren ortadaki ince istmus ile kelebeği anımsatan bir şekli vardır. Her bir lateral lob 2-2.5 cm genişlikte, 5-6 cm uzunlukta ve 2cm derinliktedir. Üst ve alt kısımları; uca doğru sivrilen üst pol ve künt bir şekille biten alt pol olarak adlandırılır.

Tiroid glandı, anterior trakeaya gevşek bağ dokuyla tutunmuş halde boynun orta kısmında yerleşmiştir. İki lateral lob, larinks ve trakeayı ventral ve lateral taraflarından sarar, tiroid kartilajının alt yarısına kadar ulaşır ve 2., 3. ve 4. trakeal halkaları kaplar.

Yetişkin tiroidinin normal ağırlığı, non-guatröz bölgelerde 15-25 gram arasındadır. Bununla birlikte, cinsiyet, yaş, vücut ağırlığı, hormonal durum, glandın fonksiyonel durumu ve iyot alımı ile beligin varyasyonlar gösterebilir (36). Tiroid ince fibröadipoz bir psödokapsül ile sarılmıştır. Normal bir tiroidin rengi kırmızı-kahverengidir (8).

Tiroidin kanlanması primer olarak subklavyan arterin tiroservikal trunkusundan köken alan inferior tiroid arter ve eksternal karotid arterden köken alan süperior tiroid arter ile sağlanır. Thyroidea ima arteri, bazen bulunur ve inferior tiroid arterinden köken alır. Süperior ve medial tiroid venleri ve inferior ven drenajı (tiroid kapsülündeki venöz pleksus aracılığıyla) internal juguler ven ve brakiosefalik vene olur (37,38).

Tiroid glandına karmaşık bir lenfatik ağ dağılır, folikülleri çevreler ve istmus üzerinden iki lobu birbirine bağlar. Tiroid psödokapsülü içindeki venlerin komşuluğundaki subkapsüler kanallara boşalırlar. Superior kısım ve istmusun lenfatik damar drenajı internal juguler lenf nodlarına, inferior kısmın lenfatik damar drenajı pretrakeal, paratrakeal ve prelaringeal lenf nodlarına olur. Pretrakeal lenf nodu istmusa yakın yerde lokalizedir ve Delphian lenf nodu olarak da adlandırılır (39).

Vazomotor nonmedüller postganglionik nöral lifler süperior ve medial servikal sempatik gangliondan köken alır ve indirekt olarak tiroid glandının sekretuvar aktivitesini etkiler. Buna ek olarak, foliküler hücrelerdeki adrenerjik reseptörler ve folikül bazal membranında sonlanan adrenerjik liflerden oluşan bir ağ mevcuttur. Tiroid sekresyonu direkt nöral sinyaller ve indirekt vasküler sinir sinyalleri ile regüle edildiği hipotezi mevcuttur (40,41).

TİROİD TÜMÖRLERİ

Sınıflama

Tiroid tümörlerinin histolojik sınıflandırılması Tablo 1’de gösterilmiştir. Bu tablo Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) en güncel histolojik sınıflamasını içermektedir (42). Tiroid tümörleri kabaca primer, sekonder ve metastatik tümörler olarak üçe ayrılabilir. Metastatik tiroid tümörleri nadirdir. Primer tiroid tümörlerinin büyük çoğunluğu epitelyal hücrelerden, özellikle tiroid folikül hücrelerinden köken alır. Bu grup, tiroid neoplazilerinin en sık görülen tiplerini içerir (örneğin benign Foliküler Adenom ve Malign İyi Diferansiye Papiller ve Foliküler Karsinom). Az diferansiye ve anaplastik karsinomlar da folikül hücrelerinden köken alırlar, papiller veya foliküler karsinomların dediferansiyasyonu sonucu geliştiklerine inanılmaktadır. Medüller karsinomlar tiroidin C hücrelerinden köken alırlar (27).

Tablo 1. Tiroid tümörlerinin histolojik sınıflaması (6, 42)

I. Primer Tümörler
1.Epitelyal
A. Foliküler hücre kökenli
A.1. Benign Foliküler adenom (Konvansiyonel ve onkositik tip)
A.2. Malignite Potansiyeli Belirsiz
• Hyalinize trabeküler tümör
A.3. Malign
• Papiller karsinom
• Foliküler karsinom (Konvansiyonel ve onkositik tip)
• Az diferansiye karsinom
• Anaplastik (Andiferansiye) karsinom
B. C-hücre kökenli
• Medüller karsinom
C. Mikst foliküler ve C-hücre kökenli
• Mikst medüller ve foliküler karsinom
• Mikst medüller ve papiller karsinom

Tablo 1 (devamı). Tiroid tümörlerinin histolojik sınıflaması (6, 42)

D. Farklı ya da Belirsiz Hücre Kökenli
• Mukoepidermoid karsinom
• Eozinofilinin eşlik ettiği sklerozan mukoepidermoid karsinom
• Skuamöz hücreli karsinom
• Müsinöz karsinom
• Timus-benzeri diferansiyasyonlu işsi hücreli tümör (SETTLE)
• Timus-benzeri diferansiyasyonlu işsi hücreli tümör (CASTLE)
• Ektopik timoma
2. Non-epitelyal
• Pirmer lenfoma ve plazmasitom
• Anjiyosarkom
• Teratom
• Düz kas hücreli tümörler
• Periferik sinir kılıfı tümörleri
• Paraganglioma
• Soliter fibröz tümör
• Foliküler dendritik hücreli tümör
• Langerhans hücreli histiyositoz
• Rosai-Dorfman hastalığı
• Granüler hücreli tümör
II. Sekonder (Metastatik)

İnsidans ve Epidemiyoloji

Tiroid kanserleri en sık görülen endokrin malignitedir. Birleşmiş Milletler’de ve birçok ülkede yeni tanı alan kanserlerin yaklaşık %1.5’ini oluşturmaktadırlar (43). Tiroid kanserinin kadınlardaki insidansı, erkeklere oranla 2 ila 3 kat daha fazladır. Dünya çapında coğrafik bölgelere göre insidansı değişkenlik göstermekte, ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde insidansı artmaktadır. En yüksek oran Kuzey Amerika, Pasifik Adaları (özellikle Hawaii), İzlanda ve Orta Doğu’da görülmektedir (44). Tiroid kanserlerinin insidansı etnik gruplara göre de değişkenlik gösterir; Amerika’da beyaz ırkta, siyah ırka göre iki kat daha sık görülmektedir (6).

Tiroid kanserleri çocuklarda nadir görülür. İnsidans; hayatın ikinci dekatında keskince yükselir ve kadınlarda geç reproduktif dönemde, erkeklerde ise hayatın altıncı dekatında bir pik yapar. Bu yaş dağılımı en sık görülen üç tiroid kanserinin insidansını yansıtmaktadır: PTK (ki tüm tiroid kanserlerinin %80'ini teşkil eder), Foliküler Karsinom (FK) (%15) ve Medüller Karsinom (MK) (%3) (45). Anaplastik karsinom, tiroid tümörlerinin %2'sinden azını oluşturmaktadır ve tipik olarak daha geç yaş gruplarında ortaya çıkar (6).

Tiroid karsinomlarının insidansı dünya çapında bir çok ülkede son 30 yılda artış göstermektedir (1-3). İnsidanstaki bu artış, özellikle PTK'da görülmekte olup, foliküler, medüller ve anaplastik karsinomlarda belirgin bir artış kaydedilmemiştir. İnsidanstaki bu artışta, ultrasonografi (USG) ve İnce İğne Aspirasyonu (İİA) ile kanser tespit edilmesinin büyük rolü bulunmaktadır (46,47). Tiroid USG 1980'lerden beri kullanılmakta olup 0.2 cm boyutlarındaki tiroid nodüllerini bile tespit edebilmektedir. USG rehberliğindeki İİA tekniği ile çok küçük nodüllerden bile örnekler elde edilebilmekte ve sitolojik olarak incelenebilmektedir (48). Bu ilerlemeler sonucunda asemptomatik kanser nodülleri tespit edilebilmektedir. İnsidansın artmasındaki diğer neden ise, Foliküler Varyant PTK'larının (FVPTK) daha iyi tanınmaya başlanmasıdır. Günümüzde FVPTK tanısı almış birçok tümör, daha önceleri FK olarak yorumlanırdı. FVPTK nun, PTKun bazı nükleer özelliklerini taşımakta olduğunun 1990'ların başında saptanmasıyla, geçmişte benign lezyon olarak tanı alan bazı nodüllerin artık malign olarak yorumlanması da insidansın artışının sebepleri arasındadır (6).

FOLİKÜLER KARSİNOM

Foliküler karsinom, papiller karsinomdan sonra ikinci en sık görülen tiroid kanseridir(49).

Foliküler karsinom, tiroid folikül hücrelerinin papiller karsinomdaki tanısal nükleer özelliklerini taşımayan, iyi diferansiye malign bir tümördür. Onkositik (Hürtle) hücreli foliküler karsinomlar, foliküler karsinomların ana histolojik varyantını temsil ederler (6).

Foliküler karsinomda etyolojik nedenler arasında iyot eksikliği, radyasyon maruziyeti, daha önceden var olan benign tiroid hastalıkları (soliter nodül ve guatr), Cowden Hastalığı, Werner Sendromu ve Carney Kompleksi gibi ailesel sendromlar yer almaktadır (49-56).

Foliküler karsinom patenezinde sitogenetik anormallikler (kromozom kayıpları (kromozom 7 (en sık), 8,11,17 ve 18) ve translokasyonları [t(2;3)(q13;p25) =PAX8/PPARGama (Paired box gene 8/ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) füzyonuna neden olur]), DNA anöploidisi, heterozigosenin kaybı, somatik mutasyonlar (RAS, PAX8/PPARGama

yeniden düzenlenmesi, PI3K/PTEN/AKT yolak mutasyonları, onkositik karsinomlarda görülen mitokondri-ilişkili mutasyonlar) bulunmaktadır (57-62).

Foliküler karsinomlar tipik olarak iyi gelişmiş ve bütün bir kapsüle sahiptir (63). Çok kalın bir kapsül varlığı, malignensi yönünde fikir vericidir. Nadir vakalarda karsinomlarda ince ya da inkomplet bir kapsül bulunmaktadır (8).

Yapısal paterni foliküler adenomlara benzer, ancak foliküler karsinomlarda daha selüler bir büyüme paterni görülmektedir.

Hücreler tipik olarak küboidal, açık eozinofilik/amfofilik sitoplazmalıdır. Nükleusu genellikle yuvarlak küçük-orta boylu olup düzgün kontürlüdür, koyu ya da daha veziküler kromatindir. Nükleer kontür düzensizliği papiller karsinom şüphesi uyandırır da papiller tiroid karsinomundaki diğer nükleer özellikler bulunmaz (6).

Tek odakta kapsüller ya da vasküler invazyonun bulunması foliküler karsinom için tanısaldır. İnvazyonun büyüklüğü, tümörün davranışını belirlediği için önemlidir. Bu nedenle foliküler karsinomlar minimal invaziv (enkapsüle) ve geniş invaziv olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Foliküler karsinomun mikroskopik varyantları:

- Onkositik (Hürtle Hücreli) Foliküler Karsinom,
- Foliküler Karsinomun Berrak Hücreli Varyantı,
- Foliküler Karsinomun Müsinöz Varyantı,
- Taşlı-Yüzük Hücreli Foliküler Karsinom,
- Diğer nadir görülen varyantlar (iğsi hücreli, hiperfonksiyone, mikst medüller-foliküler karsinomlar)(6)

PAPİLLER TİROİD KARSİNOMU

Papiller tiroid karsinomu, tiroid folikül hücrelerinin iyi diferansiye malign bir tümörü olup, bir takım karakteristik nükleer özellikler göstermektedir. Papiller büyüme paterni sıklıkla görülse de, tanı için gerekli değildir (6).

İnsidans ve Epidemiyoloji

Papiller tiroid karsinomu en sık görülen tiroid kanseridir. İnsidansı ve diğer tiroid kanserleri arasındaki payı dünya çapında artış göstermektedir (1-3,64). Dünya çapında coğrafik bölgelere göre insidansı değişkenlik göstermekte olup ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde insidansı artmaktadır. Tümörün insidansındaki bu artış, özellikle papiller tiroid

karsinomunda (PTK), görülmekte olup, foliküler, medüller ve anaplastik karsinomlarda belirgin bir artış kaydedilmemiştir (6).

Birleşmiş Milletler'de 1973 yılında 100,000 kişiden 2.7'sinde görülürken 2003 yılında 100,000 kişiye karşılık 7.9'unda görülmeye başlanmıştır (65). PTK, tüm tiroid kanserlerinin %74'ünü oluşturmaktayken, 2003'te bu oran %87'ye yükselmiştir. Kadınlarda erkeklere göre görülme sıklığı yaklaşık 3:1 dir(6,44).

Çocukluk çağında sık görülmemesine rağmen, bu çağda görülen en sık tiroid karsinomu Papiller karsinomdur (66). Ortalama tanı yaşı 46'dır (Foliküler Karsinomlarda 50 yaş iken, Anaplastik (Andiferansiye) Karsinomlarda 71 yaştır.) (65).

Etyolojik Faktörler

Son yıllarda Papiller karsinomun ailesel olduğu kabul görse de, tümörlerin büyük çoğunluğu sporadik, nonfamiliar vakalardır (8). Etyolojik faktörler iyonizer radyasyon, iyottan zengin beslenme, daha önceden var olan benign tiroid hastalıkları (soliter nodül ve guatr), hormonal ve reproduktif faktörler, herediter faktörler olarak sıralanabilir.

Patogenez ve Moleküler Genetik

Papiller karsinom patogenezinde klonalite ve multifokalite, DNA plöidi, sitogenetik anormallikler, heterozigosite kaybı ve somatik mutasyonlar (BRAF, RET/PTC, RAS, TRK, PAX8/PPAR- γ , PI3K/PTEN/AKT yolağı mutasyonları ve onkositik varyant papiller karsinomdaki mutasyonlar rol oynar (6,8).

Klinik Özellikler ve Görüntüleme

Hastalar tipik olarak ağrısız bir nodülle prezente olurlar. Diğer lokal semptomlar; disfaji, ses kısıklığı, nefes darlığı hastaların %20'sinde görülmekte olup vokal kord paralizisi ya da trakeal kompresyonun göstergesidir (49). Servikal lenf nodlarında büyüme, bazen hastalığın ilk belirtisi olabilir. Bazı vakalar tamamen asemptomatik olup, başka nedenlerden ötürü yapılan ultrasonografik ya da başka görüntüleme yöntemleri ile tiroiddeki nodül rastlantısal olarak belirlenebilir. Tiroid fonksiyon testleri tipik olarak normaldir (8).

Tiroid radyoizotop taramalarında tipik olarak "soğuk" nodül olarak görülürler. (67). USG'de, papiller karsinom tipik olarak belirsiz sınırlı hipoekik ya da izoekoik solid nodül olarak görünür. Kistik değişiklikler olabilir ve nadiren geniş alanda görülür. Noktasal mikrokalsifikasyonlar (ki bunlar psammom cisimciklerine karşılık gelir) (68,69). Ultrasonda

servikal lenf nodlarında internal nodülerite, kistik değişiklikler ve mikrokalsifikasyon izlenmesi papiller karsinom için şüphe uyandırıcıdır (8).

Diğer görüntüleme modaliteleri, Bilgisayarlı Tomografi, Manyetik Rezonans Görüntüleme ve Florodeoksiglukoz (FDG)- Pozitron Emisyon Tomografi/Bilgisayarlı Tomografi (PET/CT) substernal kitleleri değerlendirmek ve ekstratiroidal yayılımı belirlemek için kullanılabilir (70,71).

İnce iğne aspirasyonu, neredeyse tüm soliter tiroid nodüllerine yapılır. İİA materyalinin sitolojik değerlendirmesi, cerrahi için referans sağlayarak papiller karsinom tanısının konma olasılığını sağlar, en azından bu olasılığı artırır (8).

Makroskopik Özellikler

Makroskopik incelemede papiller karsinom tipik olarak ayrı ama düzensiz konturlu bir nodül olarak izlenir. Kapsül tipik olarak yoktur. Bazı tümörler, bilhassa FVPTK'lar iyi sınırlı ya da enkapsüle olabilirler. Tümör boyutu skalası geniş ve değişkendir ama genellikle 1 ila 3 cm arasındadır (49). Kesit yüzü bronz-kahverengi ya da gri-beyaz, irregüler, sıkı ve solid ya da küçük veya büyük kistik değişiklik gösteren alanlarıyla daha gevrek kıvamda olabilir. Papiller yapılar kesit yüzünde tespit edilebilir ya da granüler veya pürüzlü dokusu nedeniyle şüphe oluşturabilirler. Fibrozisin neden olduğu irregüler şekilli beyaz alanlar sıklıkla görülür. Tümörde spontan kanama ve nekroz nadir olsa da, yakın zamanda geçirilmiş İİA prosedürü nedeniyle kanama odakları ya da nekroz izlenebilir. Kalsifikasyonlar bazen görülebilir. Fokal kistik değişiklikler birçok tümörde gözlenebilir, ve bazı tümörler masif kistik değişiklik sergileyebilir ve belirsiz sınırlı multikistik lezyon olarak prezente olabilirler. Tümör multifokalitesi oldukça yaygındır. Nadir örneklerde, ayrı bir nodül olmaksızın tiroide diffüz değişiklikler izlenebilir. Bu prezentasyon, diffüz sklerozan varyant papiller karsinom için geçerlidir (8).

Papiller karsinomun fibrotik alanlarla sıklıkla ilişki göstermesi nedeniyle, makroskopik inceleme sırasında beyazımsı, fibrotik-görünümlü odakların tümünün bulunması ve mikroskopik inceleme için örneklenmesi gerekmektedir (8).

Peritiroidal lenf nodları tiroidektomi spesimeniyle birlikte gönderilebilir. Metastatik hastalıkta lenf nodları bariz büyümüş solid olurlarken, kahverengimsi, hemorajik sıvıyla dolu kistik alanlar da içerebilirler (8).

Mikroskopik Özellikler

Mikroskopik incelemede papiller karsinom tipik olarak irregüler, invaziv bir sınırla infiltratif büyüme gösterir. Bazı vakalarda tümör itici bir sınıra sahiptir. Enkapsülasyon, foliküler varyant papiller karsinom dışında nadir görülür. Papiller karsinomun karakteristik mikroskopik özellikleri; büyüme paterni, nükleer özellikler, psammom cisimcikleri ve tümör fibrozisidir, ancak sadece “nükleer özellikler” tanı için gereklidir (8).

1)Yapısal Patern: En karakteristik yapısal patern papiller paternidir, ancak nadiren pür papiller yapıdadır, tipik olarak değişken oranlarda neoplastik folikül yapılarının karışımı şeklinde izlenirler. Yaklaşık olarak tümörlerin üçte ikisinde papiller büyüme paterni baskındır, diğer üçte birlik kısımda foliküler patern baskındır. Diğer büyüme paternleri solid ve trabeküler olup %20 vakada görülmekte olup, nadiren baskın paterni oluştururlar (72).

Papillalar, ince fibrovasküler stroma çevresinde sarılı epitelyal hücrelerden oluşmuş parmak-benzeri çıkıntılardır. Papillalar genellikle selüler fibröz doku ve kapiller kan damarlarından oluşan iyi-gelişmiş korlar içerir ve düzensiz, dallanan, çatallanan yapılar şeklinde olurlar (8).

Papiller büyüme paterni değerli bir tanısal özelliktir. Ancak unutulmamalıdır ki, tüm papiller karsinomlar papiller büyüme paternine sahip değildir ve papiller paterndeki tüm tiroid lezyonları papiller karsinom değildir (8).

2)Tümör Hücreleri: Hücreler tipik olarak küboidal ya da alçak-kolumnar şekilli olup papiller sapınve neoplastik foliküllerin sınırladığı bazal membran üzerinde uzanırlar. Hücreler komşu nonneoplastik tiroisitlerden daha büyüktür ve genellikle bol miktarda, açık renkli, eozinofilik sitoplazma içerirler. Nükleus, papiller karsinom tanısı için önemli karakteristik özellikler gösterir. Başlıca tanısal nükleer özellikler aşağıda tarif edilmektedir.

a)Nükleer irileşme/büyüme: Papiller karsinom hücrelerinin nükleusları, tipik olarak nonneoplastik tiroid hücre nükleuslarından 2 ila 3 kat daha büyüktürler. Nükleus boyutları 30-50 mikronmetrekareden 97-110 mikronmetrekareye çıkar (73,74).

b)Nükleer kalabalıklaşma ve üst üste binme (“overlapping”): Nükleusların neoplastik papilla boyunca ya da folikül içinde üst üste binmesi sıktır. Tanjansiyel kesitlerde papilla uçları, üst üste binmiş hücreler nedeniyle “taç” ya da “göller” şeklinde görünür. Bu görünüm, “yumurta sepeti” şeklinde de tarif edilir (75).

c) Kromatin berraklaşması: Nükleer kromatinin nükleus sınırları boyunca dağılması mikroskopik olarak berrak nükleus ve kalınlaşmış nükleer membran şeklinde gözlenir. Bu bulgu boş, soluk, berrak, su berraklığında, buzlu cam görünümü ya da “Orphan Annie gözü” nükleusu olarak da adlandırılır (76,77). Bu nükleer görünümün açığa çıkması için bir doku fiksasyon basamağına gerek vardır, bu nedenle frozen kesitlerde ya da ince iğne aspirasyonu yaymalarında gözlenmez (76). Formalin, bu berrak nükleus görünümünü en iyi sağlayan fiksatördür. Ayrıca Bouin, Zenker ve B5 solüsyonları ile de görülebilir (75).

d) Nükleer kontur düzensizliği: Normal tiroid folikül epitel hücrelerindeki ve foliküler lezyonlardaki yuvarlak, yumuşak-konturlu nükleusların aksine papiller karsinom nükleusları; 1) elonge, oval şekilli, 2) asimetrik, irregüler konfigürasyonda, açılı, hilal ve üç köşeli şekillerde ve 3) oldukça düzensiz, pürüzlü ve girintili, “fare-yeniği” şekilli nükleer membrana sahiptir. Bu ışık mikroskopu bulguları, nükleer konturların ultramikroskopik düzeydeki belirgin düzensizliğinin yansımasıdır (8).

e) Nükleer Katlantı (“Groove”): Bu görünüm, nükleer konturların belirgin irregüleritesinin direkt bir sonucu olup nükleusun uzun aksı boyunca ayırık bir katlantı şeklinde izlenir (78). Bu katlantı lineer ve düzenli (“kahve çekirdeği” görünümü) olabildiği gibi, eğimli ve düzensiz (“patlamış mısır parçası” görünümü) de olabilir. Elektron mikroskopundaki karşılığı, nükleer membranda derin bir invajinasyon şeklindedir (8).

f) İntranükleer pseudoinklüzyonlar: Bu da nükleer membran irregüleritesinin bir başka sonucudur. Bir intranükleer sitoplazmik pseudoinklüzyon, nükleer membrandaki invajinasyon sırasında nükleer membranın bir parça sitoplazmayı da nükleus içerisine sürüklemesiyle oluşur. Bu pseudoinklüzyon, nükleus içinde belirgin kalın bir nükleer membranla sınırlandırılmış, sitoplazma ile aynı görünümde yuvarlak ya da düzensiz bir alan şeklinde izlenir (79,80). Nükleer pseudoinklüzyonlar, papiller karsinomlarda en az sıklıkta görülen nükleer özelliktir, vakaların sadece %50’sinde tespit edilmiştir (78,81).

3) Psammom cisimcikleri: Psammom (Yunanca’dan köken alır ve “Tuz-benzeri” anlamındadır.) cisimcikleri, papiller karsinomların %40-50’sinde gözlenen belirgin kalsifikasyonlardır (72,81). Bir kalsifikasyonun, psammom cisimciği olarak nitelendirilmesi için şu karakteristik özelliklere sahip olması gerekir:

- Yuvarlak ya da sferik şekilli olmalı,
- Kalsiyum birikimi konsantrik olmalı ve
- Tümör hücreleri ile yakın ilişkide; tümör stromasında ya da lenfatik kanal içinde bulunmalı, bir folikülün lümeninde bulunmamalıdır (8).

Gerçek psammom cisimciklerinin tek ya da küçük bir grup nekrotik tümör hücrelerinin santralinde kalsiyumun birikmesi için bir nidus oluşturarak başarılı bir şekilde katmanlaşması sonucu oluştuğu düşünülmektedir (75,82). Hücre nekrozları, papilla sapındakivasküler tromboz ya da intralenfatik tümör agregatları sonucunda gelişebilir (82). Psammom cisimcikleri izole olarak, civarında hiç tümör hücresi olmadan da görülebilir; daha önceden var olan tümör hücrelerini işaret ettiği için bunun bir “mezar taşı” temsil ettiği düşünülmektedir (83).

4) Tümör fibrozisi: Papiller stalktaki fibröz stromaya ek olarak, papiller karsinomlarda ayrıca tümöre has fibrozis alanları sıklıkla görülür. Bu fibrozis genellikle “pauci-selüler” hücreden fakir (sklerotik tip) ve daha az sıklıkla selüler olabilir (desmoplastik tip) (84). Fibrozis, tüm tümörlerin %50 ila %90’ında görülür (72,81,85). Yoğun eozinofilik fibrozis papiller karsinom için spesifik olmamakla birlikte, tiroidin diğer foliküler neoplazilerine göre daha sık gözlenen bir özelliktir. Bu da tanı için iki özel durumda yardımcı olur: 1) makroskopik incelemede; beyazımtırak, fibrotik görünümlü tüm bölgelerin örneklenmesi ve bu alanların papiller karsinom açısından incelenmesi gereklidir, 2) kapsüllü foliküler paterndeki nodüllerde belirgin fibrozis görülmesi, dejenerasyon ya da ince iğne aspirasyonu sonrası etki olarak ilişkilendirilmeyip, tanıyı foliküler adenomdan çok foliküler varyant papiller karsinom lehine desteklemektedir (8).

5) Diğer Mikroskopik Özellikler: Neoplastik foliküller içindeki kolloid, komşu nonneoplastik foliküllere göre daha yoğun, koyu eozinofilik görünümündedir (86). Multinükleer dev hücreler ve köpüksü makrofajlar neoplastik lümen içinde ya da papillalar arasında görülebilir (8).

Skuamöz metaplazi, papiller karsinomların %20’sinde görülür(72,87). Diffüz sklerozan varyantta klasik papiller büyüme paterni yanı sıra skuamöz metaplazi daha sık izlenir. Bu odaklar tiroglobulin ile boyamada genellikle negatiftir (88).

Kistik değişiklikler sıktır, ancak genellikle yaygın değildir. Yaklaşık olarak tümörlerin %10’unda değişken miktarlarda kistik değişiklik izlenir (72).

Mitotik figüre sık rastlanılmaz. Tipik olarak her 10 büyük büyütme alanında <1-2 mitoz görülür (89,90). Atipik mitoz son derece nadirdir. Eğer yüksek mitotik indeks mevcutsa, az diferansiye tiroid karsinomu olma ihtimalini artırır (8).

Belirgin lenfositik infiltrasyon, vakaların %25-40'ında tümör stromasında ya da tümör çevresinde izlenmektedir (72,81,87). Bariz stromal infiltrasyon, Warthin-benzeri varyantta karakteristik bir özelliktir (8).

Yayılım ve Metastaz

1) Multisentrisite ve İntraglandüler Yayılım: Papiller karsinom vakaların %22-35'inde multifokal olarak prezente olur (72,91). Bu odaklar, birbirinden bağımsız multipl primer tümörler ya da tek primer tümörün intraglandüler disseminasyonu ile olabilir (92,93).

2) Lenfatik ve Kan Damar İnvazyonu: Papiller karsinomda sıklıkla tiroid parankimi içindeki lenfatik damarlara invazyon görülür. Bunun aksine, tiroid içindeki ya da çevre yumuşak dokudaki kan damarlarına invazyon vakaların %10'dan azında izlenir (72,94,95).

3) Ekstratiroidal Yayılım: Ekstratiroidal yayılım, tümörün tiroid gland psödokapsülünü penetre ederek, komşu dokulara yayılımını ifade eder. Bu, AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNM (T(tümör), N(nod=lenf nodu) ve M(metastaz))-bazlı tümör evreleme sisteminde önemli bir parametredir (Tablo.2)(8). Tümör evrelemesinde ekstratiroidal yayılım minimal ve yaygın olarak iki alt gruba ayrılır. Minimal yayılım, tümörün peritiroidal yumuşak dokuya yayılımını ifade ederken (T3 evresine karşılık gelir); yaygın yayılım, tümörün subkutanöz yumuşak dokular, larink, trakea, özefagus ya da rekürren laringeal sinire invazyonunu temsil eder (T4 evresine karşılık gelir) (8,42).

Tablo 2. AJCC/TNM Bazlı Tiroid Kanseri Evrelemesi (8, 42)

Primer Tümör (T)
Tx= Primer tümör değerlendirilemedi
T0= Primer tümör kanıtı yok
T1= Tümörün en geniş çapı 2 cm veya altında, tiroide sınırlı
T1a= Tümörün en geniş çapı 1 cm veya altında, tiroide sınırlı
T1b= Tümörün en geniş çapı 1 cm'in üstünde, 2 cm'nin altında, tiroide sınırlı
T2= Tümörün en geniş çapı 2 cm'in üstünde, 4 cm'nin altında, tiroide sınırlı
T3= Tümörün en geniş çapı >4 cm, tiroide sınırlı veya minimal ekstratiroidal yayılım mevcut (örn. sternohyoid kasa ya da peritiroid yumuşak dokulara yayılım)
T4a= Orta derecede ilerlemiş hastalık
<ul style="list-style-type: none">Herhangi bir boyuttaki tümörün tiroid kapsülünü aşmış subkutanöz yumuşak dokulara, larinkse, trakeaya, özofagusu veya rekürren laringeal sinire invazyonu
T4b= İleri evre hastalık
<ul style="list-style-type: none">Tümörün prevertebral fasyaya invazyonu veya karotis arterini ya da mediastinal damarların invazyonu
<i>Tüm anaplastik karsinomlar T4 olarak kabul edilir.</i>
<ul style="list-style-type: none">T4a= İntratiroidal anaplastik karsinomT4b= yaygın ekstratiroidal yayımlı ekstratiroidal anaplastik karsinom
Bölgesel Lenf Nodları (N)
Nx= Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi
N0= Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1= Bölgesel lenf nodu metastazı mevcut
N1a= Level VI'daki lenf nodlarına metastaz mevcut (pretrakeal, paratrakea ve prelaringeal/Delphian lenf nodları)
N1b= unilateral, bilateral veya kontralateral servikal lenf nodlarına (I,II,III,IV veya V) veya süperior mediastinal lenf nodlarına metastaz (Level VII)
Uzak metastaz (M)
M0= Uzak metastaz yok
M1= Uzak metastaz var

4) Lokal ve Uzak Metastaz: Servikal lenf nodlarına yayılım, PTKlarda sık rastlanan bir durumken, hematojen yolla tümörün uzak bölgelere yayılımı nadirdir. İlk tanı anında, bölgesel lenf nodu metastazı tümörlerin %30-50'sinde bulunmuşken, uzak metastaz %2-5 oranında saptanmıştır (70,71,96).

Derecelendirme

Papiller karsinomlar, iyi diferansiye tümörler oldukları için derecelendirme yapılmamalıdır. Az diferansiye tiroid kanserleri solid, trabeküler ya da insuler büyüme paterni göstermekte olup, papiller karsinoma has karakteristik nükleer özellikleri kaybederler ve tümöre sıklıkla tümör nekrozu ve artmış mitotik aktivite eşlik eder (97).

Mikroskopik Varyantlar

1) Papiller Mikrokarsinom: Papiller mikrokarsinom, 2004 WHO sınıflandırmasında 1) 1 cm ya da daha küçük çaplı ve 2) rastlantısal olarak bulunan papiller karsinomlar olarak tanımlanmıştır (42). Papiller mikrokarsinoma sık rastlanmakta olup, papiller karsinomlar insidansı en çok artış gösteren altgrup olma özelliğindedir (tüm papiller karsinomların %40'ı). Benign tiroid nodülleri nedeniyle yapılan tiroidektomilerin %5-17'sinde insidental olarak papiller mikrokarsinom saptanmıştır (98-100).

2) Foliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinomu: Bu grup tüm papiller karsinomların %20-30'unu kapsamaktadır. Tanı kriterleri: 1) gerçek papilla içermemeleri, 2) geniş alanda ya da baskın olarak foliküler patern göstermeleri ve 3) papiller karsinomun karakteristik nükleer özelliklerini taşımaları.

a) Enkapsüle Foliküler Varyant: Bu alttip, total enkapsülasyonla karakterize FVPTK'dur (8).

b) Diffüz (Multinodüler) Foliküler Varyant: Nadiren agresif olan, tipik olarak genç kadınlarda görülen ve tek loba ya da ikisine birden multifokal yayılımla karakterize olan bir alttiptir (101). Bazı vakalarda tümör glandı diffüz olarak tutar. Vasküler invazyon ve ekstratiroidal yayılım genellikle vardır, lenf nodu ve uzak metastaz sık olarak izlenir (8).

c) Makrofoliküler Varyant: En nadir alttip olup, oldukça geniş tümör folikülleri içerirler (102,103). Bu makrofoliküller (>200 mikrometre çapta) tümörün %50'sinden

fazlasını oluştururlar. Bu alttipin önemi, ince iğne aspirasyonlarında saptanan bol kolloidin ve papiller karsinom nükleer özelliklerinin fokal olarak izlenmesi yanlış negatif sonuca yönlendirebilecek olması ve sonrasındaki cerrahi materyalde mikroskopik incelemede (karakteristik nükleer özellikler dikkatlice incelenmezse) makrofolikül varlığı ile nodüler guatr ya da makrofoliküler adenom yanlış tanısı alma riski nedeniyledir (8).

3) Yüksek kolumnar hücreli varyant (Tall Cell) Varyant: Bu varyant, genişliklerinin en az üç katı yüksekliğe sahip uzun kolumnar tümör hücrelerinin baskınlığı (>%50) ile karakterizedir (42). Birçok çalışma, yüksek kolumnar hücreli varyant tümörlerin daha ileri yaşta görüldüğü, daha büyük boyutlarda tümörler olduğu, daha sık ekstrasitroidal yayılım ve klasik varyanta göre daha sık uzak metastaz yaptığı saptanmıştır (77,104,105).

4) Solid Varyant: Bu varyant, geniş alanda ya da baskın olarak (>%50) solid, trabeküler ya da nested (insuler) patern içermesi ile karakterizedir. Bu varyanttaki tümörlerin prognozu nispeten daha az olumludur (8).

5) Diffüz Sklerozan Varyant: Bu varyanta gençlerde daha sık rastlanır. Mikroskopik olarak bu varyantın karakteristik özellikleri; tümörün glanda diffüz yayılımı, dens, sklerotik fibrozis, yaygın lenfositik infiltrasyon, çok sayıda psammom cisimcikleri, skuamöz metaplaziye sık rastlanmasıdır (8).

6) Kolumnar Hücreli Varyant: Bu nadir görülen alttipin özelliği, nükleer stratifikasyon gösteren kolumnar hücrelerin baskınlığıdır (106).

7) Onkositik (Hürtle Hücreli) Varyant: Onkositik varyant papiller karsinom nadir görülür. Tümör hücreleri, onkositik hücre (Hürtle) karakteristiği olarak; belirsiz sınırlı, dens eozinofilik granüler opak sitoplazmalı hücrelerdir ve papiller karsinom nükleer özelliklerini taşırlar (8).

8) Warthin-Benzeri Varyant: Bu nadir görülen varyant, onkositik papiller karsinomun bir subtipi olarak kabul edilebilir. Onkositik sitoplazmalı ve papiller karsinom nükleer özellikleri taşıyan tümör hücrelerinin, dens lenfositik infiltrasyonla birlikte papiller yapılar şeklinde dizilim göstermesiyle karakterizedir (107). Bu mikroskopik görünümün, tükürük bezinin Warthin tümörüyle benzerlik göstermesi nedeniyle bu ismi almıştır (8).

9) Berrak Hücreli Varyant: Bu varyanttaki hücreler baskın olarak (>%50) berrak sitoplazmalı, papiller karsinom nükleer özellikleri taşıyan nükleuslu hücrelerden oluşmaktadır (8).

10) Kribriiform-Moruler Varyant: Bu varyant, ilk olarak familiyal adenomatöz polipozis (FAP) tanılı hastalarda tanımlanmıştır. Multipl, iyi-sınırlı ya da enkapsüle tümör nodülü şeklinde prezente olup kribriiform, trabeküler, solid, papiller ve foliküler büyüme paterni gösterirler ve karakteristik olarak girdaplar ve içsi hücrelerden oluşmuş morül yapıları içerirler. Morüler hücreler keratinizasyon göstermezler (8).

11) Belirgin Kabara Çivisi (Hobnail) Özellikleri Gösteren Papiller Karsinom: Yeni tanımlanan bu varyant papiller karsinomların yaklaşık %0.2'sini oluşturmaktadır (108). Kabara çivisi görünümdeki hücrelerin baskınlığı ile karakterizedir (8).

12) Fasiit-Benzeri Stroma İçeren Papiller Karsinom: Bu nadir görülen varyant, nodüler fasiiti taklit eden bol miktarda selüler stroma ile karakterizedir (109). Stroma, papiller karsinom epitelyal adalarını saran içsi hücreli liflerden oluşmaktadır (8).

İmmünohistokimyasal Özellikler

1)Tiroid folikül hücre belirteçleri: Tiroglobulin, sadece tiroid folikül hücreleri tarafından üretilir ve tiroid folikül hücre orijini açısından en spesifik belirteçtir (8).

Tiroid transkripsiyon faktörü-1, nükleer bir transkripsiyon faktörü olup, tüm vakalarda kuvvetli ve diffüz nükleer reaksiyon gösterirler. Ancak tiroid folikül hücrelerine spesifik olmayıp, aynı zamanda akciğer tümörleri, farklı lokalizasyonlardaki küçük hücreli karsinomlar, medüller tiroid karsinomunda ve diensefalon tümörlerinde de boyanma gösterirler (110,111).

Diğer iki transkripsiyon faktörü olan PAX8 ve TTF2 (FOXE1), papiller karsinomda kuvvetli diffüz nükleer reaksiyon gösterirler ve foliküler hücre orijinini belirlemede faydalı olabilirler (112).

Tiroid folikül hücreleri sitokeratin 7, sitokeratin CAM5.2, pansitokeratin AE1/AE3 ile pozitif reaksiyon gösterirken, sitokeratin 20 ile reaksiyon göstermezler. Ayrıca kalsitonin, karsinoembriyonik antijen ve nöroendokrin belirteçlerle de reaksiyon vermezler (8).

2) Tanısal immünohistokimyasal belirteçler: PTK ile benign tiroid lezyonlarının ayırıcı tanısına yardımcı olmak için birçok immünohistokimyasal boyalar kullanılmaktadır. Bunlar içinde en fazla deneyim sahibi olunanlar; Galectin-3, HBME-1, Sitokeratin 19 ve CITED1 antikorları ile pozitif immün reaksiyondur (8).

Moleküler Tanı

1) BRAF: BRAF mutasyonu papiller karsinomun ve ilişkili habasetinin güvenilir bir belirteçidir. V600E *BRAF* mutasyonu, tiroidte en sık izlenen *BRAF* değişikliği olup, papiller karsinomların %45'inde ve daha az sıklıkla papiller karsinomdan köken alan az diferansiye ve anaplastik tiroid karsinomlarında saptanmıştır (113-117).

Diğer bir *BRAF* mutasyonu olan K601E, papiller karsinomlarda daha az sıklıkta izlenmekte olup (%1), bu mutasyonu taşıyan tümörler genellikle foliküler ya da solid varyant PTKlarıdır (118-120).

2) RET/PTC: RET/PTC yeniden düzenlenmesi (rearrangement), papiller karsinomun diğer bir tanısal belirteci olarak görev yapabilir. Ancak bu mutasyonun saptanması daha zor ve tümör içindeki RET/PTC yeniden düzenlenmesinin değerlendirilmesi karmaşıktır (121,122).

3) RAS: RAS mutasyonları papiller karsinomla sınırlı olmayıp, diğer malign ve benign tiroid neoplazilerinde de saptanabilmektedir. NRAS kodon 61 ve HRAS kodon 61 mutasyonları en sık saptanan RAS mutasyonlarıdır. Papiller karsinomlar arasında bu mutasyonlar sıklıkla foliküler varyantlarda görülmekte ve bu tümörlerin de %45'inde saptanmaktadır (123,124).

4) Diğer potansiyel tanısal belirteçler: TRK açık yeniden düzenlenmeleri (NTRK1 genini de içeren), papiller karsinomların %5'inden azında bulunmuştur (125,126). miRNA ekspresyonlarının benign tiroid lezyonlarında ve papiller karsinomlar arasındaki fark, iki hastalık arasında ayırım yapmaya yardımcı olmaktadır (127-130).

Revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemiyle tespit edilebilen HMGA2 ve IMP3 (Insulin-like growth factor-II messenger RNA (mRNA)-binding protein-1) de papiller karsinomda rol oynamakta olup, bu belirteçlerin tanısal amaçlı kullanımları günümüzde sınırlıdır (131,132).

FOXE1

Transkripsiyon faktörleri arasında forkhead/winged helix ailesi üyesi olan FOXE1 geni, 9. kromozomun uzun kolunda 22. pozisyonda yerleşmiştir (9q22) ve bir DNA-bağlanma proteini olan Tiroid Transkripsiyon Faktörü-2'yi (TTF-2) kodlar (9). İnsanlarda FOXE1 tiroid organogenezi ve tiroisit prekürsör migrasyonu ve diferansiyasyonu için anahtar rol oynar (10, 11). Yetişkinlikte FOXE1 epidermisin bazal keratinositlerinde, kıl folikülünde ve testiküler seminifer tubullerin ekzokrin hücrelerinde saptanabilir (133-135). Resesif kalıtılan FOXE1'i inaktive eden mutasyon sonucunda; tiroid agenezisine bağlı konjenital hipotiroidizm, yarık damak, koanal atrezi ve dik saçla karakterize olan Bamforth-Lazarus sendromu meydana gelmektedir (133). FOXE1'in, cildin bazal ve skuamöz hücreli karsinomu (135,136), meme kanseri (137) ve pankreas kanserlerinde (138) karsinogeneze katkısı olduğu kanıtlanmıştır.

Forkhead box E1, tiroperoksidaz ve tiroglobulin genlerinin transkripsiyonel aktivatörüdür (139,140).

Revers-transkripsiyon RT-PCR veya in situ hibridizasyon ile Sequeira ve ark. (141) insan tiroidinde %60 oranında FOXE1 ekspresyonu saptamışlardır. Benign tiroid lezyonlarında FOXE1 ekspresyonu vakaların %43-%100'ünde gözlenmiştir. Tiroid malignensilerinde foliküler karsinomların %44'ünde, PTK'ların %65'inde FOXE1 ekspresyonu bildirilmektedir. Nonaka ve ark. (142), PTK, foliküler adenom, foliküler karsinom ve az diferansiye tiroid karsinomlarında %50-%100 oranında kuvvetli diffüz pozitiflik bildirmişlerdir. Medüller tiroid karsinomlarında vakaların %75'inde zayıf pozitiflik ifade edilmekte iken anaplastik karsinomların tamamı negatif bulunmuştur. Zhang ve ark. (143), FOXE1'in nükleer ekspresyonunda foliküler adenomlardan foliküler karsinoma gidişte tümör dediferansiyasyonu orantılı olarak kademeli bir düşüş tespit etmişlerdir (144).

Son zamanlarda yapılan birçok genetik ilişki konusundaki genom bazlı (12,13) ya da aday gen yaklaşımı çalışmaları (14-17), FOXE1 gen lokusundaki proksimal bölgesinde (rs965513: G> A) ya da direkt olarak (rs1867277: c.-238G> A) tek nükleotid polimorfizmlerinin etnik çeşitliliği olan popülasyonlarda PTK'larında duyarlılık açısından bir genetik belirteç olabileceğini ortaya koymuştur. Genetik çalışmalarla FOXE1'in PTK'lardaki rolü kuvvetli olarak desteklenmiş olsa da tümör gelişimine olan katkısı halen bilinmemektedir (144).

Bychkov ve ark. (144), 48 PTK tanılı vakada yaptıkları çalışmada, FOXE1'in tümör dokusunda normal dokuya karşılık olarak sitoplazmik ekspresyon artışı gösterdiği görülmüştür (p< 0.001). FOXE1'in tümör hücrelerindeki ekspresyon artışı ve sitoplazmaya translokasyonu, FOXE1'in PTK'nın patogeneziinde yer aldığını düşündürmektedir (144).

IMP3

IMP3 (Insulin-like growth factor-II messenger RNA (mRNA)-binding protein-3), İnsülin-benzeri büyüme faktörü II'nin transkripsiyonundan sorumlu Messenger RNA bağlanma parametrelerinden biri olup (diğerleri IMP1 ve IMP2'dir), kromozom 7p11.2'de lokalizedir. IMP3 onkofetal bir proteindir ve embriyogenez esnasında fetal dokulardan (epitel ve kas dokusu) ve plasentadan eksprese olur. Son 5 yılda tamamlanan çalışmalar birçok yetişkin insan tümöründe (özellikle pankreas, karaciğer, böbrek, uterus, testis) ve nadiren benign dokularda IMP3'ün re-eksprese olduğunu göstermiştir. IMP3 eksprese olduğunda ileri evre ve agresif tümör davranışı (tümör boyutu, lenfovasküler invazyon gibi) ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Tiroid kansinomlarının IMP3 ile ilişkisi son yıllarda ilgi odağı olmaya başlamışsa da, halihazırda literatürde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (145-147).

Yörükoğlu ve ark. (18) yaptığı çalışmada tiroid papiller mikrokarsinomların %47'sinde, tiroid papiller kansinomların %32'sinde IMP3 ekspresyonu saptanmıştır. Benign dokularda ise ekspresyonun olmadığı saptanmıştır.

TERT

Telomeraz aktivasyonu kanser ile direkt ilişkili olduğu bilinen (21) ve malign tümörlerin yaklaşık %80'inde tanımlanmış bir ölümsüzlük enzimidir (22,23). Telomeraz revers transkriptaz (TERT) geni telomerazın katalitik bir subunitini kodlayarak telomerlerin uzunluğunu sabitler. TERT mutasyonları malign melanom, glial tümörler, mesane tümörleri, az diferansiye tiroid kansinomlarında ve yüksek riskli PTK'larında tanımlanmıştır (24-26). Melo ve ark. (148) yaptığı çalışmada; TERT mutasyonlarının artan yaşla ($p<0.001$), diferansiye tiroid kansinomlarında daha büyük tümör boyutuyla ($p=0.002$), uzak metastazla ($p<0.001$) ve yüksek tümör evresi ($p<0.001$) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Teze konu olan çalışmamız için alınan Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onay yazısı ektedir (Protokol Kodu: TÜTF-BAEK 2015/223, Karar No:22/07, Tarih:02.12.2015) (Ek 1). Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından 26/2016 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. Çalışmamızda 01.08.2007 ile 01.08.2015 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilen, PTK tanısı alan total tiroidektomi/lobektomi ve/veya santral/boyun diseksiyonu yapılmış olan olgulara ait laboratuvarımız arşivinde yer alan biyopsi materyalleri kullanıldı. Bu kriterleri taşıyan toplam 204 olgu çalışmaya alındı. 54'ünde klasik varyant PTK, 150'sinde foliküler varyant PTK tanıları olan bu materyallere ait arşivde yer alan lamalar Hematoksilen&Eozin (H&E) kesitleri ışık mikroskopunda tekrar incelenerek tümöre ait özellikleri en iyi temsil eden uygun nitelikte lamalar seçildi. İnceleme sırasında PTK varyantlarının (klasik varyant/foliküler varyant) yanı sıra tümörlerin boyutu (≤ 1 santimetre (cm))/ >1 cm), fokalitesi (unifokal/multifokal), ekstratiroidal yayılımı (ETY var/ ETY yok), lenfovasküler invazyonu (var/yok), lenf nodu diseksiyonlu olgularda lenf nodu metastazı varlığı (var/yok), tümör dışı tiroiddeki lenfositik tiroidit varlığı (var/yok) değerlendirildi. Olguların yaş (≤ 45 yaş/ >45 yaş) ve cinsiyet (kadın/erkek) bilgileri kaydedildi. Bu lamlara ait parafin blokları blok arşivinden çıkarıldı. Bu bloklardan polizimli ve pozitif şarjlı lamalar üzerine 4 mikron kalınlığında her bloktan üçer lama kesitler alındı. Kesit alınmış bu lamalar 70°C sıcaklıktaki etüvde 1 saat bekletilerek deparafinizasyonu sağlandı. Lamalar Benchmark Ventana marka immünohistokimya cihazına alınarak her olguya ait kesitlere FOXE1, IMP3 ve TERT immünohistokimyasal antikorları uygulandı.

Çalışmada FOXE1 antikoru için Bioss marka bs-8446R katalog numarasına sahip, klonu poliklonal IgG tavşan kiti (Seri numarası: 9C10M1, dilüsyon:1/100); IMP3 antikoru için Bioss marka bs-1312R katalog numarasına sahip, klonu poliklonal IgG tavşan kiti (Seri numarası: AD1110901, dilüsyon:1/1050); TERT antikoru için Bioss marka bs-1411R katalog numarasına sahip, klonu poliklonal IgG tavşan kiti (Seri numarası: ADO21901, dilüsyon: 1/100) kullanıldı (Tablo 3). Her kit için literatürde (18, 144, 148) belirtilen kontrol dokularını içeren biyopsi örnekleri ile kontrol çalışması yapıldı.

İmmünohistokimya boyama sırasında şu işlem basamakları takip edildi:

- 1) Parafin bloklardan kesitler 4 mikron kalınlığındaki pozitif şarjlı lamlara alındı.
- 2) 70°C'lik etüvde 1 saat bekletildi.
- 3) Lamlar Benchmark Ventana marka immünohistokimya cihazına alındı.
- 4) Antijen retrieval yapıldı.
- 5) Antikor inkübasyonu yapıldı.
- 6) Primer antikor elle uygulandı.
- 7) Amplifier uygulandı
- 8) Arka plan boyama için Harris Hematoksilen 20 dakika uygulandı.
- 9) Bluing Reagent (mavileştirme solüsyonu) 4 dakika uygulandı.
- 10) Lamlar deterjanlı suyla yıkandı.
- 11) Lamlar absöü alkolde 2 kez çalkalandı.
- 12) Lamlar kurutulup ksilol bazlı kapatıcıyla kapatıldı.

Tablo 3. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçler

ANTİKOR	CİNS	KAYNAK/KOD
FOXE1	Poliklonal, tavşan, IgG	Bioss (bs-8446R)
IMP3	Poliklonal, tavşan, IgG	Bioss (bs-1312R)
TERT	Poliklonal, tavşan, IgG	Bioss (bs-1411R)

Antijen retrieval işlem basamağında FOXE1 ve IMP3 için CC1 (Cell Conditioning 1, Citrate Buffer) 60 dakika, TERT için CC2 (Cell Conditioning 2, EDTA Buffer) 90 dakika uygulandı. Antikor inkübasyonu basamağında ise FOXE1 72 dakika, IMP3 60 dakika, TERT 92 dakika inkübe edildi.

Blok arşivinde bulunan parafin bloklardan alınan kesitlerde 38 olguya ait immünohistokimyasal boyama lamlarında tümör dokusu tükendiği için bu vakalara

değerlendirme yapılamadı ve bu olgular çalışma dışı bırakıldı, 166 olgu çalışmaya dahil edildi.

DEĞERLENDİRME

Bütün kesitler önce tez araştırmacısı tarafından, daha sonra ise tez yöneticisi ile birlikte değerlendirildi. Kontrol dokulardaki boyanma paterni ve literatürdeki boyanma özelliklerine göre (18, 144, 148) FOXE1, IMP3 ve TERT için sitoplazmik boyanma durumları değerlendirildi. Dokularda incelenen sitoplazmik boyanma özellikleri ve yaygınlıklarına göre skorlama yapıldı. Boyanma oranı olarak tümörün %10'unu aşan boyanma pozitif kabul edildi.

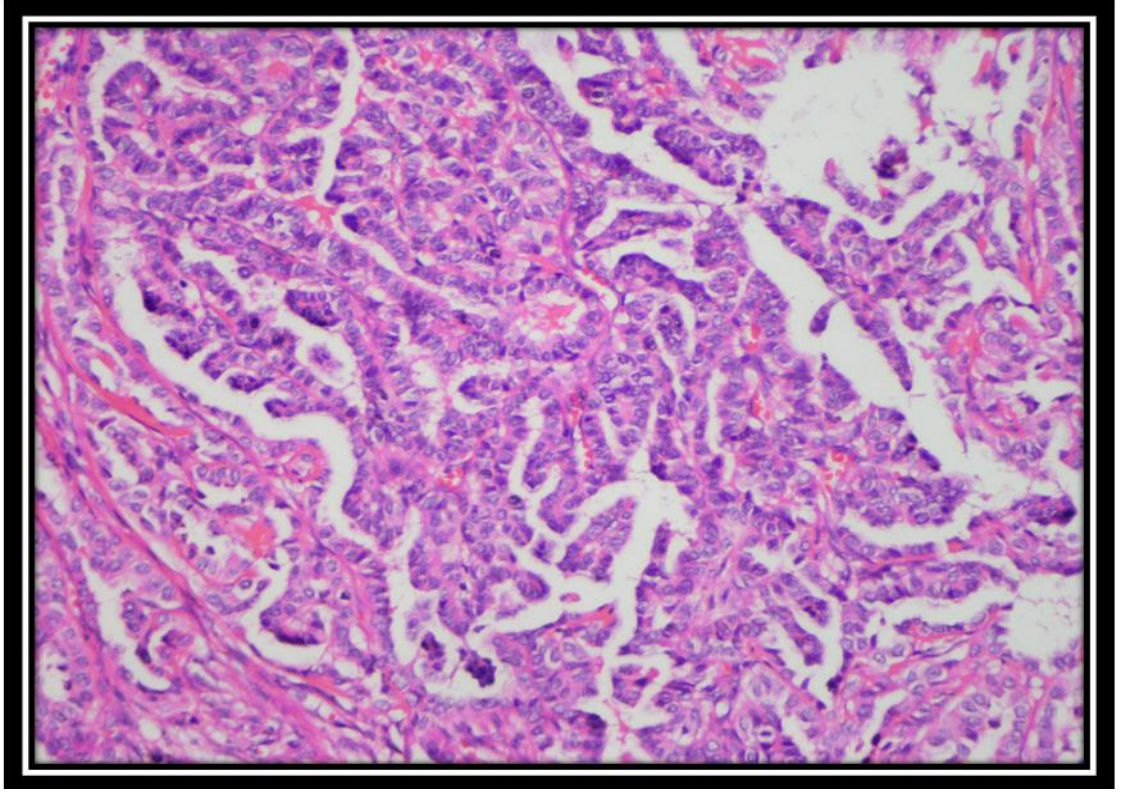
İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma, medyan minimum-maksimum olarak gösterildi. Yaş, cinsiyet, tümör varyantı, tümör boyutu, tümör fokalitesi, tümörün ekstratiroidal yayılımı (ETY), tümörde lenfovasküler invazyon varlığı, lenf nodu metastazı varlığı, tümör dışı tiroiddeki lenfositik tiroidit varlığı kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. İstatistiksel analizler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı.

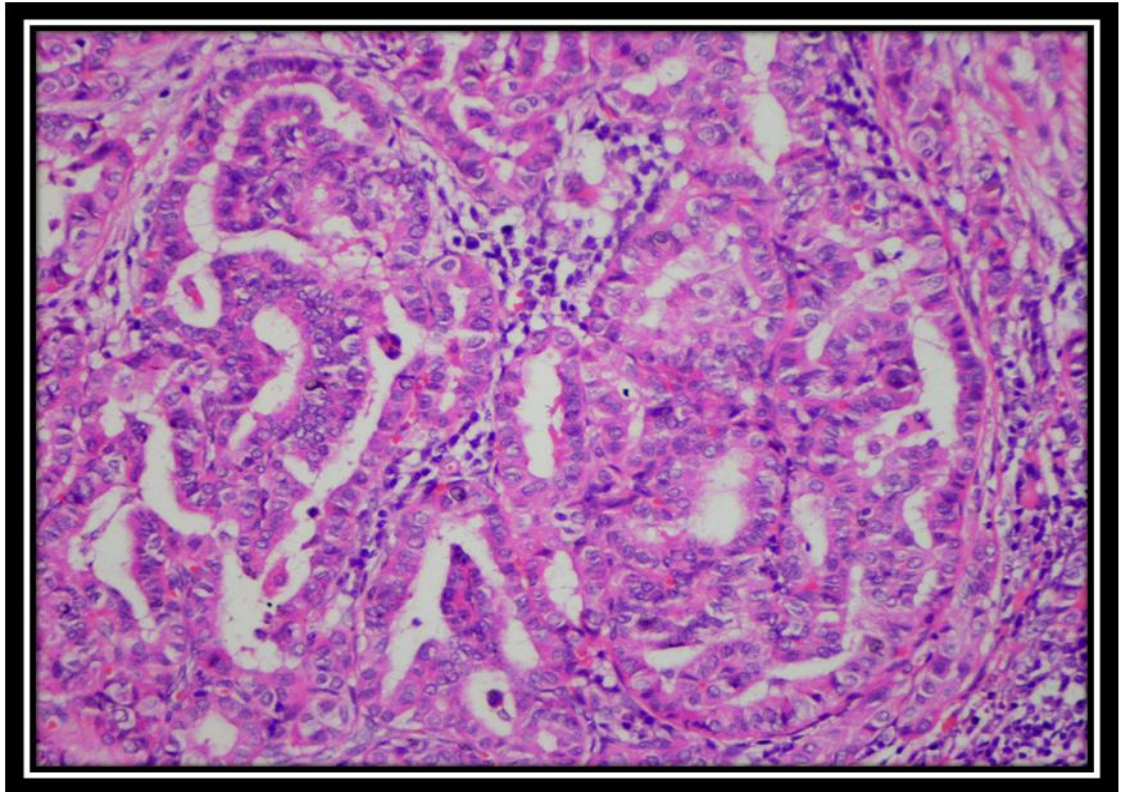
BULGULAR

Çalışmamızda papiller tiroid karsinomu içeren dokularda, TTF-2'yi kodlayan FOXE1, onkofetal bir protein olan IMP3 ve TERT antikorlarının immünohistokimyasal ekspresyon düzeyleri ve bulguların yaş, cinsiyet, tümör varyantı, tümör boyutu, tümör fokalitesi, tümörün ekstratiroidal yayılımı (ETY), lenf nodu metastazı, tümörde lenfovasküler invazyon, tümör dışı tiroiddeki lenfositik tiroidit varlığı ile ilişkilerini incelemek amaçlandı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı arşivinde yer alan papiller tiroid karsinomu tanısı almış toplam 204 materyal incelendi. Blok arşivindeki parafin bloklardan alınan kesitlerde 38 olguya ait immünohistokimyasal boyama lamalarında tümör dokusu tükendiği için bu vakalara değerlendirme yapılmadı ve çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak toplam 166 vaka değerlendirmeye alındı.

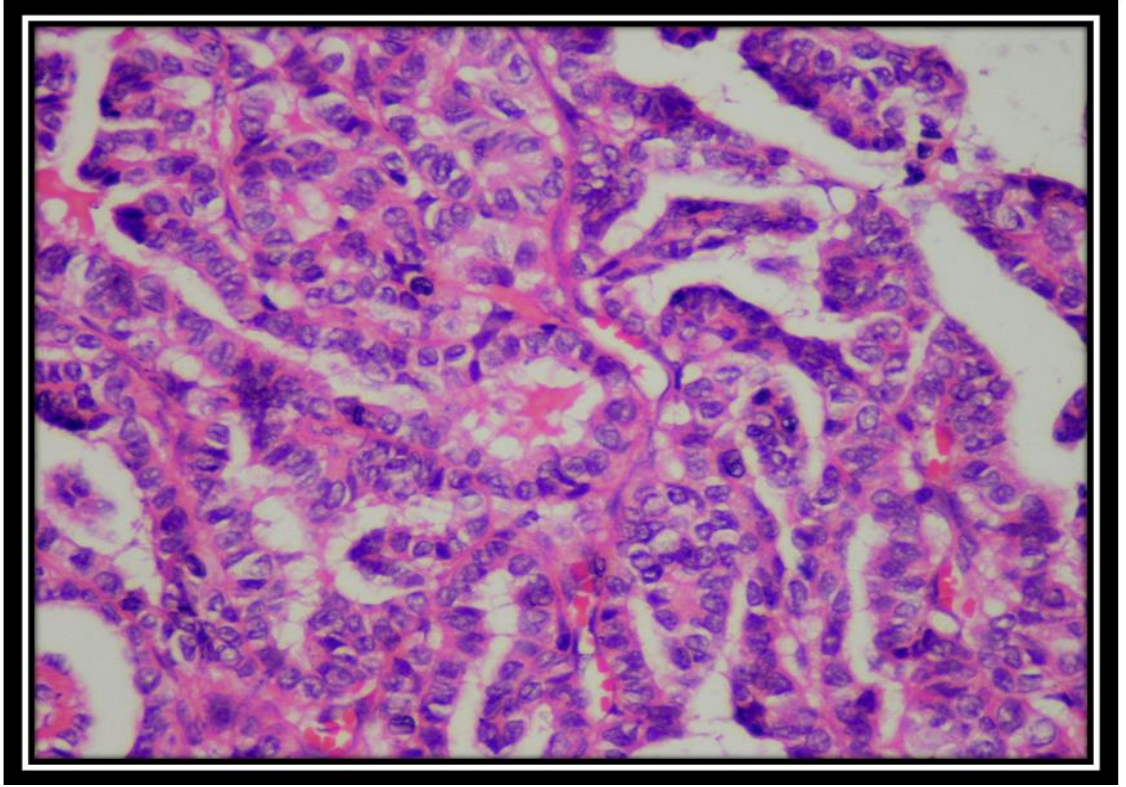
Olgularımızın yaş dağılımı incelendiğinde; 63'ü (%38,0) 45 yaşın altındayken, 103'ü (%62,0) 45 yaşın üzerindeydi. Olgularımızın 107'si (%64,5) kadın, 59'u (%35,5) erkekti. 41 (%24,7) vaka klasik varyant papiller tiroid karsinomu (Şekil 1,2,3), 125 (%75,3) vaka foliküler varyant papiller tiroid karsinomuydu (Şekil 4-5). 41 (%24,7) vakada tümör boyutu 1 cm'ye eşit veya altındayken, 125 (%75,3) vakada 1 cm'nin üzerinde idi. Olguların 78'inde (%47,0) multifokal tümör izlendi. Ekstratiroidal yayılım (ETY), 108 (%65,1) olguda mevcuttu. Lenf nodu diseksiyonu yapılmış olan 135 olgunun 62'sinde (%45,9) lenf nodu metastazı varlığı izlendi. Tümörlerin 69'unda (%41,6) lenfovasküler invazyon mevcutken, 50 (%30,1) olguda tümör çevresinde lenfositik tiroidit varlığı izlendi. Olgulara ait klinikopatolojik parametreler Tablo 4'te gösterilmektedir.



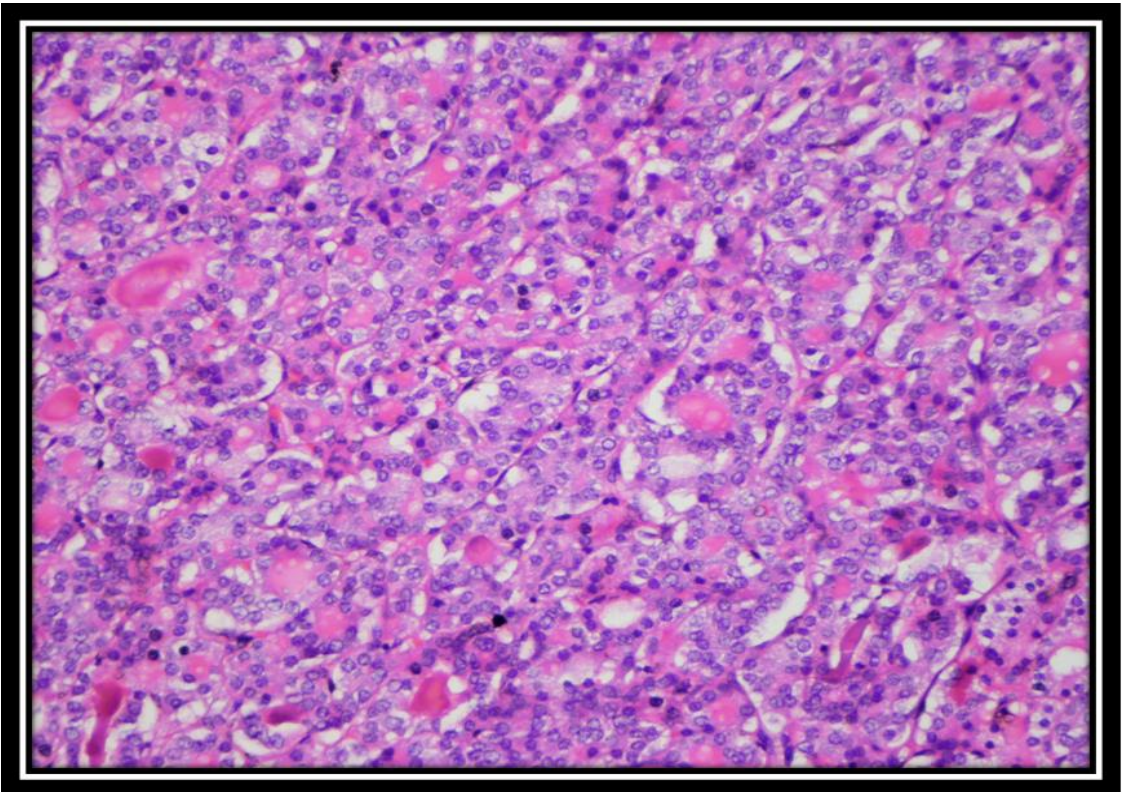
**Şekil 1. Klasik varyant papiller tiroid karsinomunun mikroskopik görünümü.
(H&E boyama, X200)**



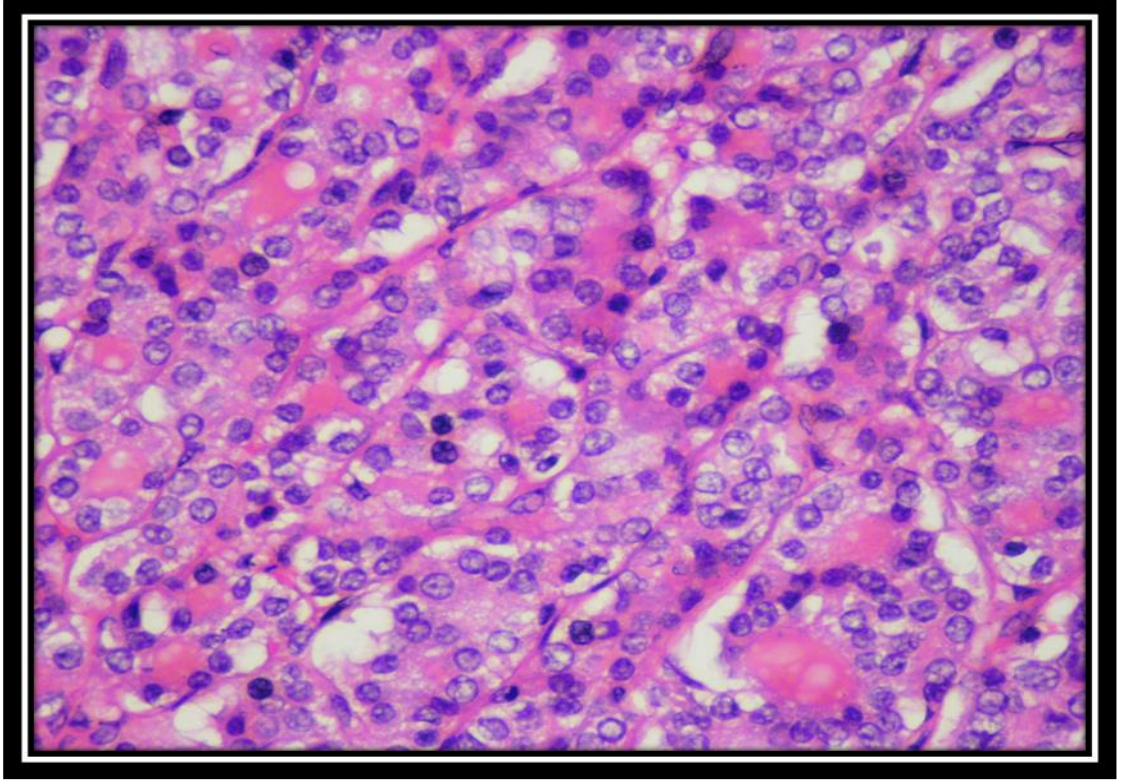
**Şekil 2. Klasik varyant papiller tiroid karsinomunun mikroskopik görünümü.
(H&E boyama, X200)**



**Şekil 3. Klasik varyant papiller tiroid karsinomunun mikroskopik görünümü.
(H&E boyama, X400)**



**Şekil 4. Foliküler varyant papiller tiroid karsinomunun mikroskopik görünümü
(H&E boyama, X200)**



Şekil 5. Foliküler varyant papiller tiroid karsinomunun mikroskopik görünümü. Tümör foliküler yapılanma sergilemekte olup, tümör hücreleri papiller tiroid karsinomunun karakteristik nükleer özelliklerini taşımaktadır. (H&E boyama, X400)

Tablo 4. Olgulara ait klinikopatolojik özellikler

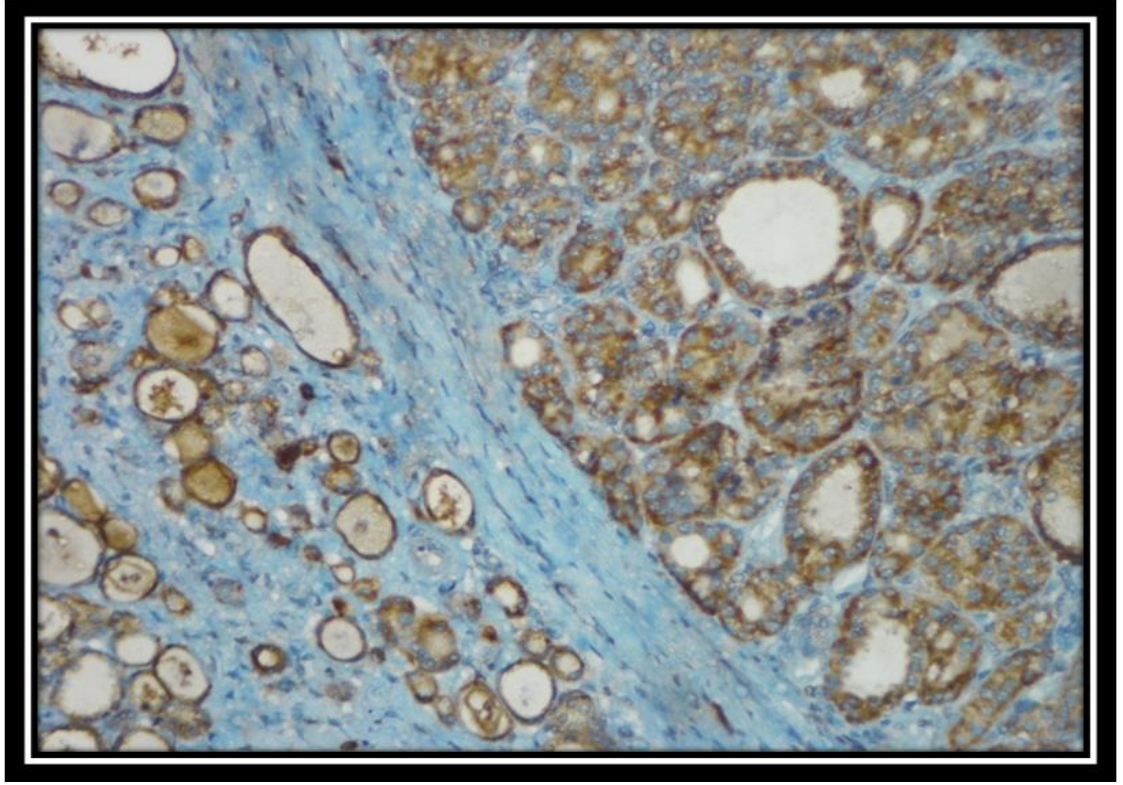
Klinikopatolojik parametre		n (%)
Yaş	≤45	63 (38,0)
	>45	103 (62,0)
Cinsiyet	Kadın	107 (64,5)
	Erkek	59 (35,5)
Histolojik Varyant	Klasik	41 (24,7)
	Foliküler	125 (75,3)
Tümör Boyutu	≤1 cm	41 (24,7)
	>1 cm	125 (75,3)
Tümör Fokalitesi	Unifokal	88 (53,0)
	Multifokal	78 (47,0)
Ekstratiroidal Yayılım	Yok	108 (65,1)
	Var	58 (34,9)
Lenf Nodu Metastazı	Var	62 (45,9)
	Yok	73 (54,1)
	Gönderilmedi	31
Lenfovasküler İnvazyon	Var	69 (41,6)
	Yok	97 (58,4)
Lenfositik Tiroidit	Yok	50 (30,1)
	Var	116 (69,9)

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

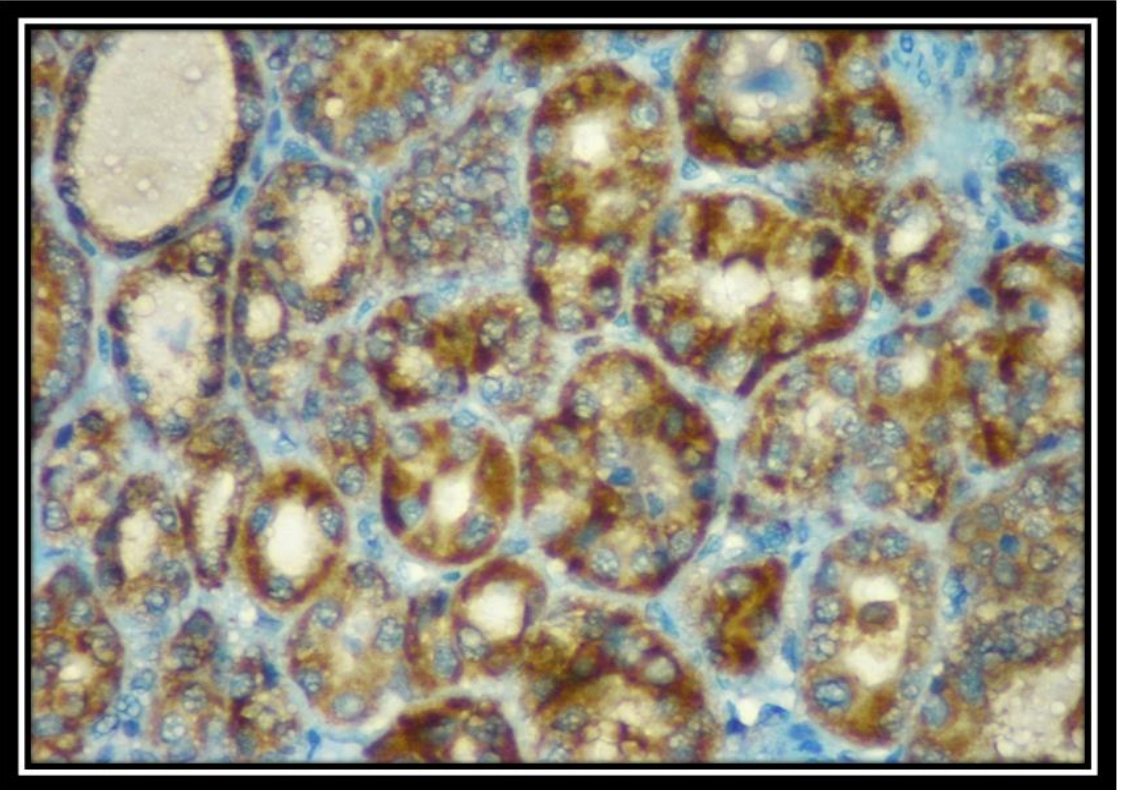
İmmünohistokimyasal ekspresyonların değerlendirilmesi sonucunda, olguların 96'sında (%57,8) FOXE1 ile, 25'inde (%15,1) IMP3 ile, 35'inde (%21,1) TERT ile pozitif reaksiyon oluşmuştur.

PAPİLLER TİROİD KARSİNOMLARINDA FOXE1 ANTİKORUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL EKSPRESYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

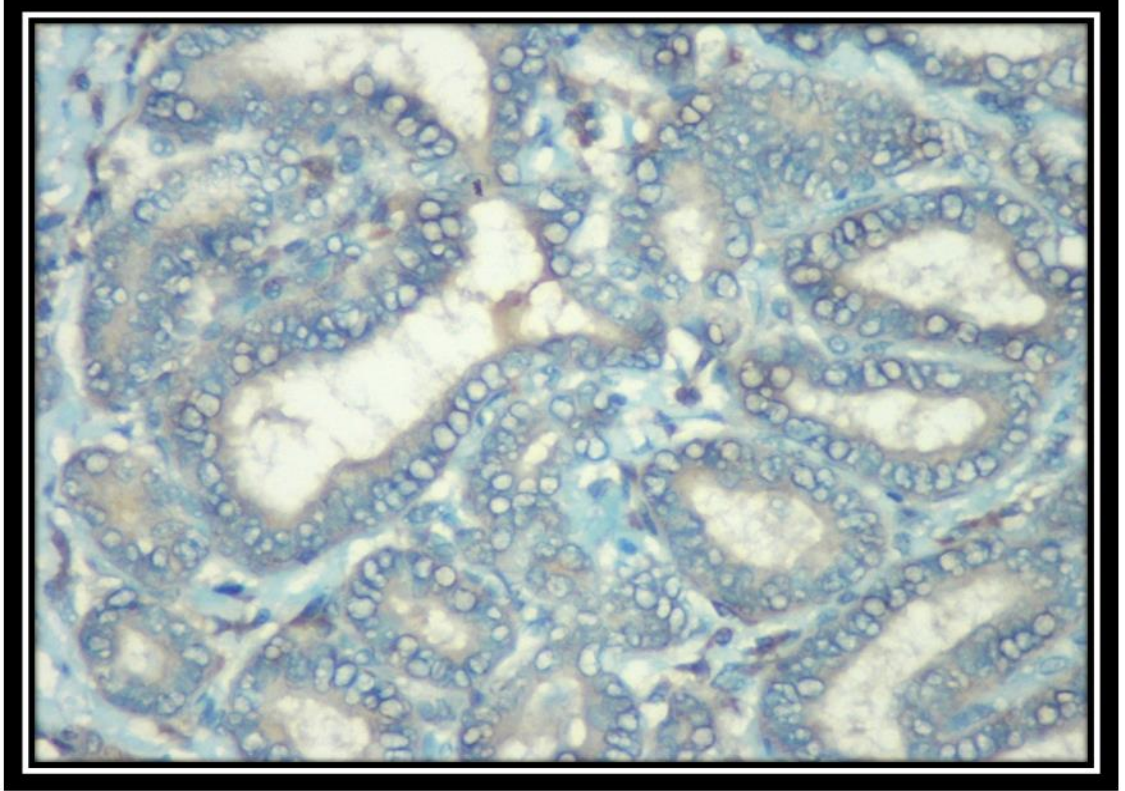
Olguların 96'sında (%57,8) FOXE1 antikoru ile pozitif reaksiyon izlenirken (Şekil 6-7), 70'inde (%42,2) FOXE1 antikoru ile reaksiyon izlenmedi (Şekil8). 45 yaş ve altındaki 63 hastanın 31'inde (%49,2), 45 yaşın üzerindeki 103 hastanın 65'inde (%63,1) FOXE1 antikoru ile pozitiflik tespit edildi. 107 kadın hastanın 62'sinde (%57,9), 59 erkek hastanın 34'ünde (%57,6) FOXE1 antikoru ile pozitiflik tespit edildi. 41 adet klasik varyant PTK olgusunun 29'unda (%70,7), 125 adet foliküler varyant PTK olgusunun 67'sinde (%53,6) FOXE1 antikoru ile pozitiflik tespit edildi (Şekil 9). 1 cm ve 1 cm'den küçük boyutlu toplam 41 olgunun 24'ünde (%58,5), 1 cm'den büyük boyutlu toplam 125 adet olgunun 72'sinde (%57,6) FOXE1 antikoru ile pozitiflik tespit edildi (Şekil 10). Toplam 88 adet unifokal tümör olgusunun 50'sinde (%56,8), toplam 78 adet multifokal tümör olgusunun 46'sında (%59,0) FOXE1 antikoru ile pozitiflik izlendi. Ekstratiroidal yayılım (ETY) yapan 58 olgunun 33'ü (%56,9), ekstratiroidal yayılım (ETY) yapmayan 108 olgunun 63'ünde (%58,3) FOXE1 antikoru pozitif boyandı(Şekil 11). Lenf nodu metastazı yapmış 62 vakanın 42'sinde (%67,7), lenf nodu metastazı yapmamış 73 vakanın 40'ında (%54,8) FOXE1 antikoru ile pozitiflik görüldü (Şekil 12). Tümör çevresi tiroid dokusunda lenfositik tiroidit varlığı tespit edilen 116 vakanın 65'inde (%56,0), tümör çevresi tiroid dokusunda lenfositik tiroidit izlenmeyen 50 vakanın 31'inde (%62,0) FOXE1 ile boyanma izlendi. Tümörde lenfovasküler invazyon izlenen 69 vakanın 49'unda (%71), lenfovasküler invazyon izlenmeyen 97 vakanın 47'sinde (%48,5) FOXE1 antikoru ile pozitif boyanma saptandı. FOXE1 antikorunun boyanma özelliklerinin klinikopatolojik parametrelerle istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sadece lenfovasküler invazyon varlığı ile FOXE1 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki olduğu ($p=0,004$) ve FOXE1 immünekspresyonuna sahip tümörlerin lenfovasküler invazyon riskinin eksprese etmeyen tümörlere göre 2,6 kat daha fazla olduğu gösterildi (**Odds Ratio (%95 Confidence Interval) =2,6 (1,35-5,02)**). Diğer parametreler ile istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı. FOXE1 antikorunun boyanma özelliklerinin klinikopatolojik parametrelere göre durumu Tablo 5'te gösterilmektedir.



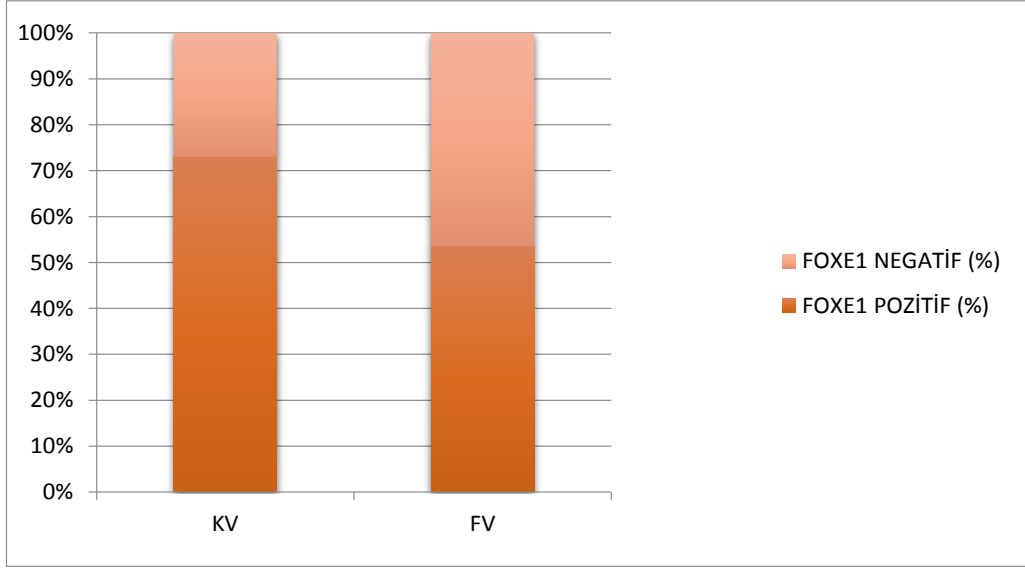
Şekil 6. FOXE1'in tümör ve tümör çevresindeki pozitifliği (İmmünperoksidaz, X100).



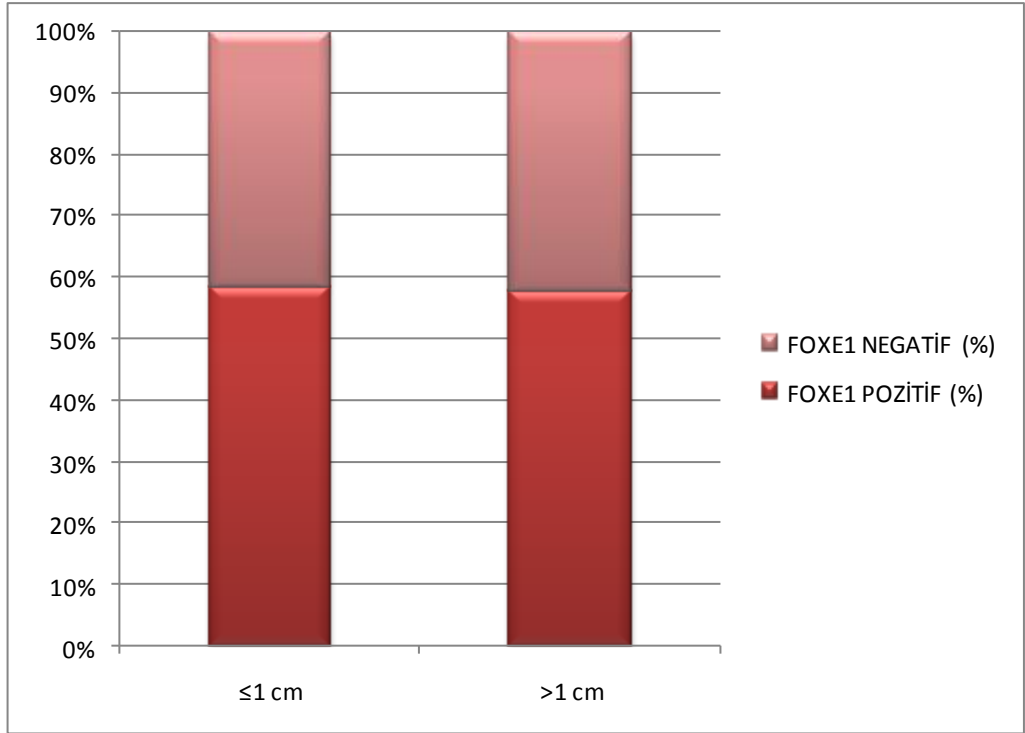
Şekil 7. Kuvvetli sitoplazmik FOXE1 pozitifliği (İmmünperoksidaz, X400).



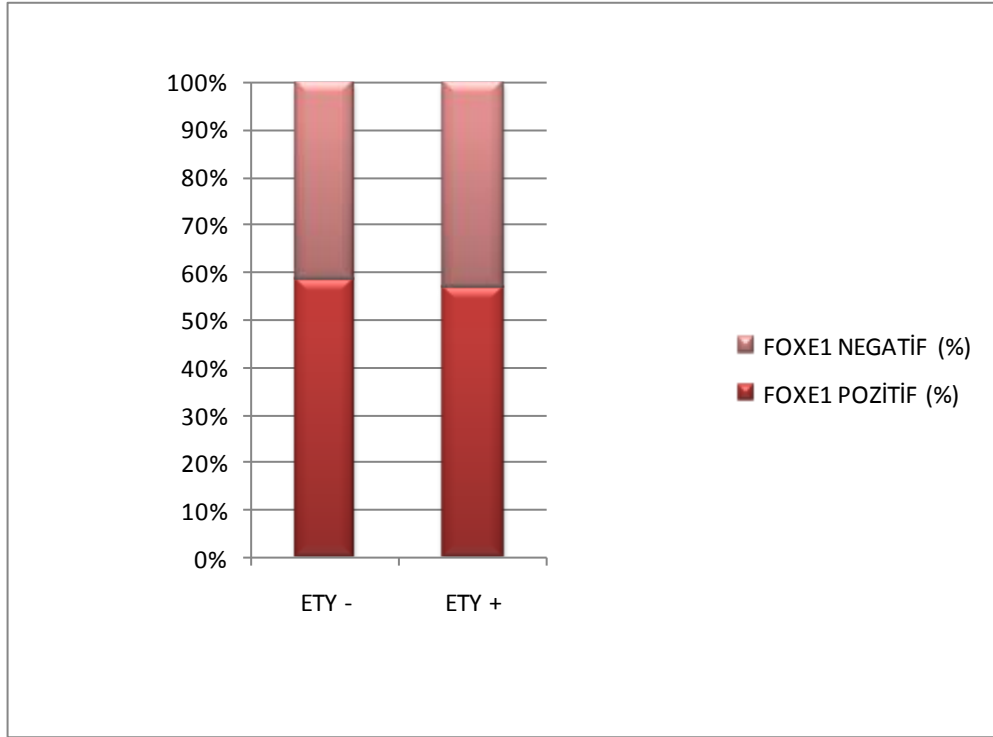
Şekil 8. FOXE1 negatifliği (İmmünperoksidaz, X400).



Şekil 9. FOXE1'in PTK varyantlarına göre pozitiflik ve negatiflik oranları
 KV: Klasik varyant, FV: Foliküler varyant.

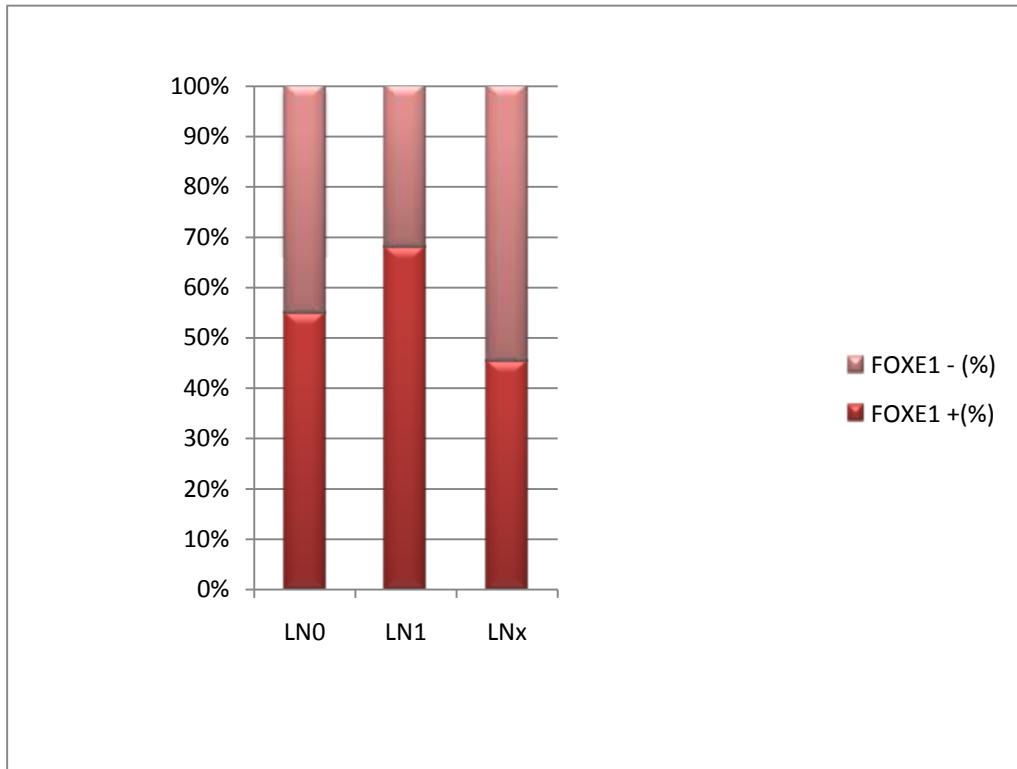


Şekil 10. FOXE1'in tümör boyutlarına göre pozitiflik ve negatiflik oranları



Şekil 11. FOXE1'in tümörde ekstratiroidal yayılım durumuna göre pozitif ve negatiflik oranları

ETY - : Ekstratiroidal yayılım yok, **ETY + :** Ekstratiroidal yayılım var



Şekil 12. FOXE1'in lenf nodu metastazına göre pozitif ve negatiflik oranları

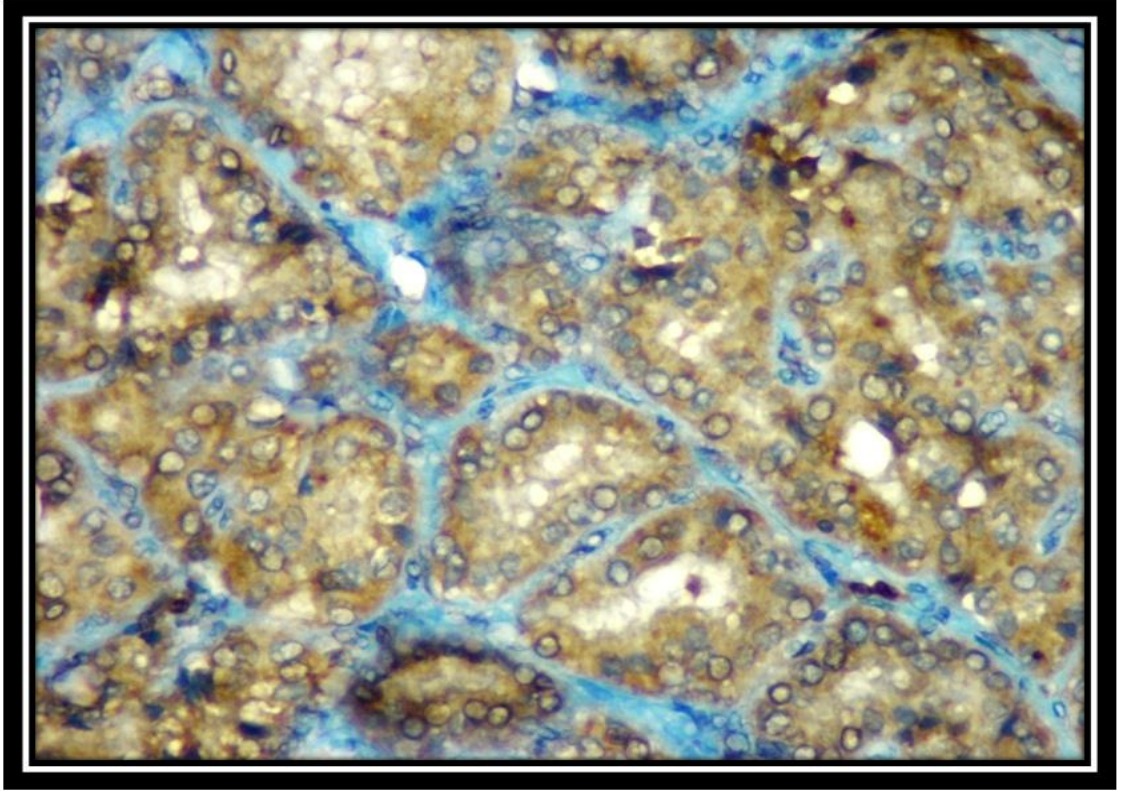
LN0: Lenf nodu metastazı yok, **LN1:** Lenf nodu metastazı var, **LNx:** Lenf nodu gönderilmedi.

Tablo 5. FOXE1 immünoekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

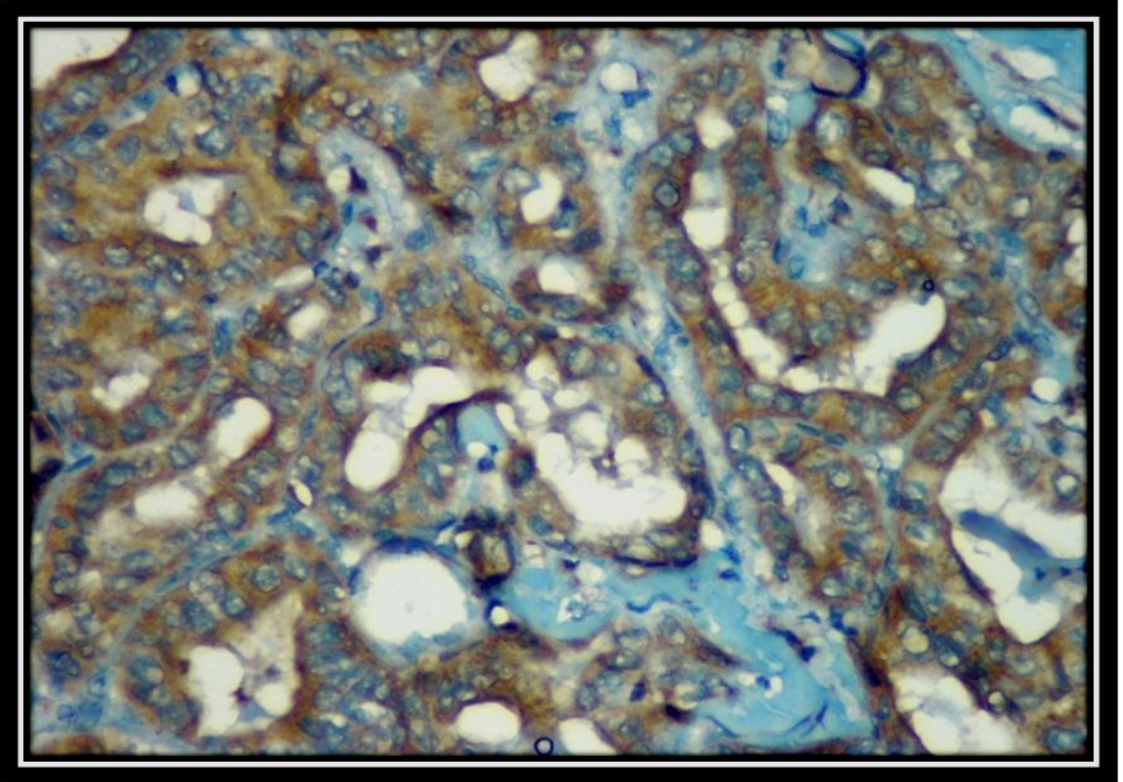
Klinikopatolojik parametre		FOXE1		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤45	32 (%50,8)	31 (%49,2)	63(%100)	0,105
	>45	38 (%36,9)	65 (%63,1)	103(%100)	
Cinsiyet	Kadın	45 (%42,1)	62(%57,9)	107(%100)	1,000
	Erkek	25(%42,2)	34(%57,6)	59(%100)	
Histolojik Varyant	Klasik	12(%29,3)	29(%70,7)	41(%100)	0,118
	Foliküler	58(%46,4)	67(%53,6)	125(%100)	
Tümör Boyutu	≤1 cm	17(%41,5)	24(%58,5)	41(%100)	1,000
	>1 cm	53(%42,4)	72(%57,6)	125(%100)	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	38(%43,2)	50(%56,8)	88(%100)	0,875
	Multifokal	32(%41,0)	46(%59,0)	78(%100)	
Ekstratiroidal Yayılım	Yok	45(%41,7)	63(%58,3)	108(%100)	0,870
	Var	25 (%43,1)	33(56,9%)	58(%100)	
Lenf Nodu Metastazi	Var	20(%32,3)	42(%67,7)	62(%100)	0,900
	Yok	33 (%45,2)	40(%54,8)	73(%100)	
	Gönderilmedi	17 (%54,8)	14(%45,2)	31(%100)	
Lenfositik Tiroidit Varlığı	Yok	19(%38,0)	31(%62,0)	50(%100)	0,498
	Var	51(%44)	65(%56)	116(%100)	
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	50(%51,5)	47 (%48,5)	97(%100)	0,04
	Var	20(%29)	49(%71)	69(%100)	

PAPİLLER TİROİD KARSİNOMLARINDA IMP3 ANTİKORUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL EKSPRESYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

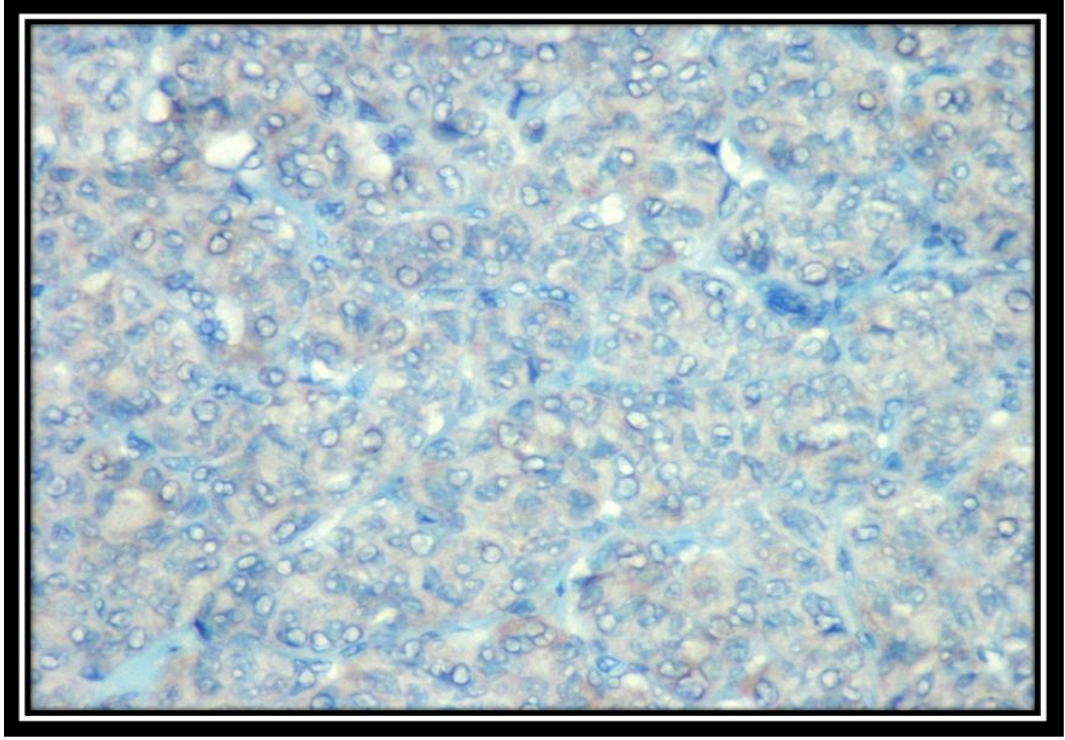
Olguların 25'inde (%15,1) IMP3 antikoru ile pozitif immün reaksiyon izlenirken, 141'inde (%84,9) IMP3 antikoru ile reaksiyon izlenmedi (Şekil 13-15). Tümör dışı normal tiroid parankiminde boyanma görülmedi. 45 yaş ve altındaki 63 hastanın 7'sinde (%11,1), 45 yaşın üzerindeki 103 hastanın 18'inde (%38,8) IMP3 antikoru ile pozitiflik tespit edildi . 107 kadın hastanın 15'inde (%14,0), 59 erkek hastanın 10'unda (%16,9) IMP3 antikoru ile pozitiflik tespit edildi. 41 adet klasik varyant PTK olgusunun 8'inde (%19,5) , 125 adet foliküler varyant PTK olgusunun 17'sinde (%13,6) IMP3 antikoru ile pozitiflik tespit edildi (Şekil 16). 1 cm ve 1 cm'den küçük boyutlu toplam 41 olgunun 5'inde (%12,2), 1 cm'den büyük boyutlu toplam 125 adet olgunun 20'sinde (%16,0) IMP3 antikoru ile pozitiflik tespit edildi (Şekil 17). Toplam 88 adet unifokal tümör olgusunun 16'sında (%18,2), toplam 78 adet multifokal tümör olgusunun 9'unda (%11,5) IMP3 antikoru ile pozitiflik izlendi. Ekstratiroidal yayılım yapan 58 olgunun 9'u (%15,5), ETY yapmayan 108 olgunun 16'sında (%14,8) IMP3 antikoru pozitif boyandı (Şekil 18). Lenf nodu metastazı yapmış 62 vakanın 11'inde (%17,7), lenf nodu metastazı yapmamış 73 vakanın 12'sinde (%16,4) IMP3 antikoru ile reaksiyon görüldü (Şekil 19). Tümör çevresi tiroid dokusunda lenfositik tiroidit varlığı tespit edilen 116 vakanın 18'inde (%15,5), tümör çevresi tiroid dokusunda lenfositik tiroidit izlenmeyen 50 vakanın 7'sinde (%14,0) IMP3 ile boyanma izlendi. Tümörde lenfovasküler invazyon izlenen 97 vakanın 13'ünde (%13,4), lenfovasküler invazyon izlenmeyen 69 vakanın 12'sinde (%17,4) IMP3 antikoru ile pozitif boyanma saptandı. IMP3 antikorusunun boyanma durumunun klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı Tablo 6'da gösterilmiştir.



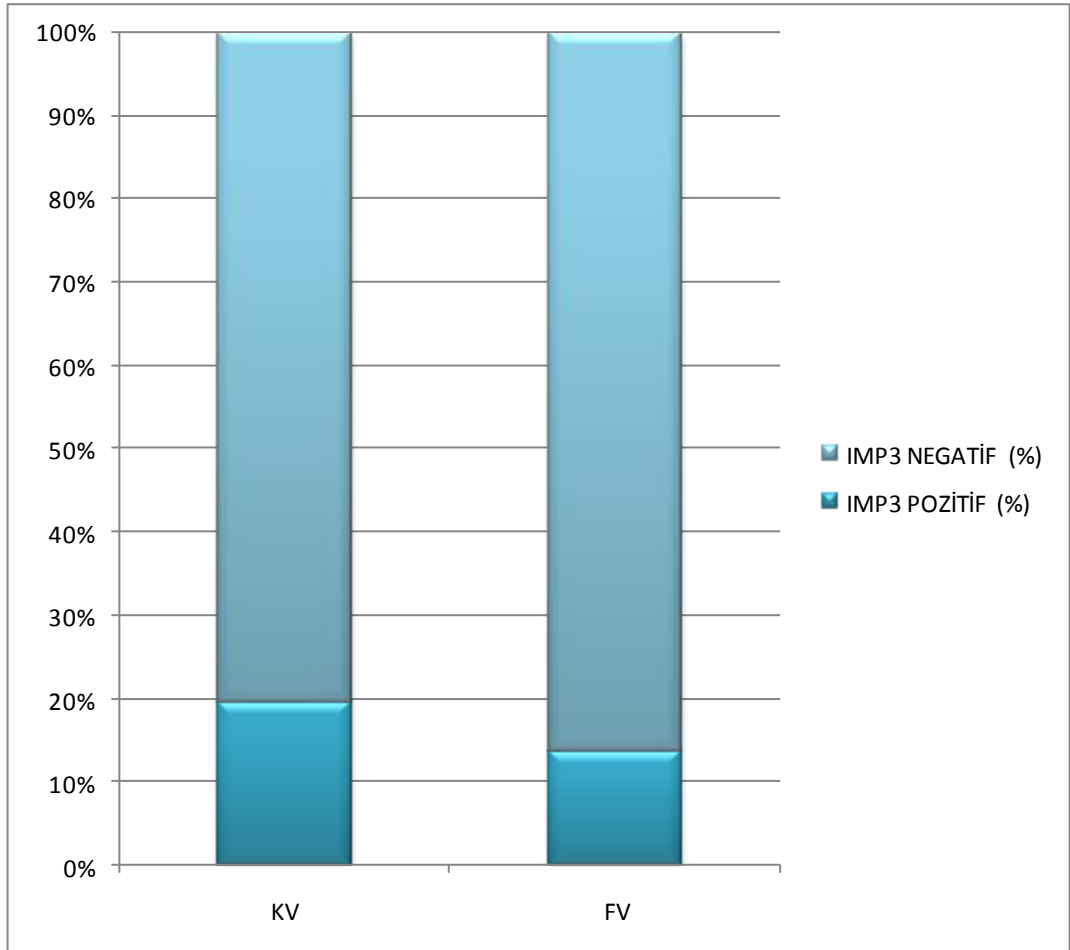
Şekil 13. Kuvvetli sitoplazmik IMP3 pozitifliği (İmmünperoksidaz, X400).



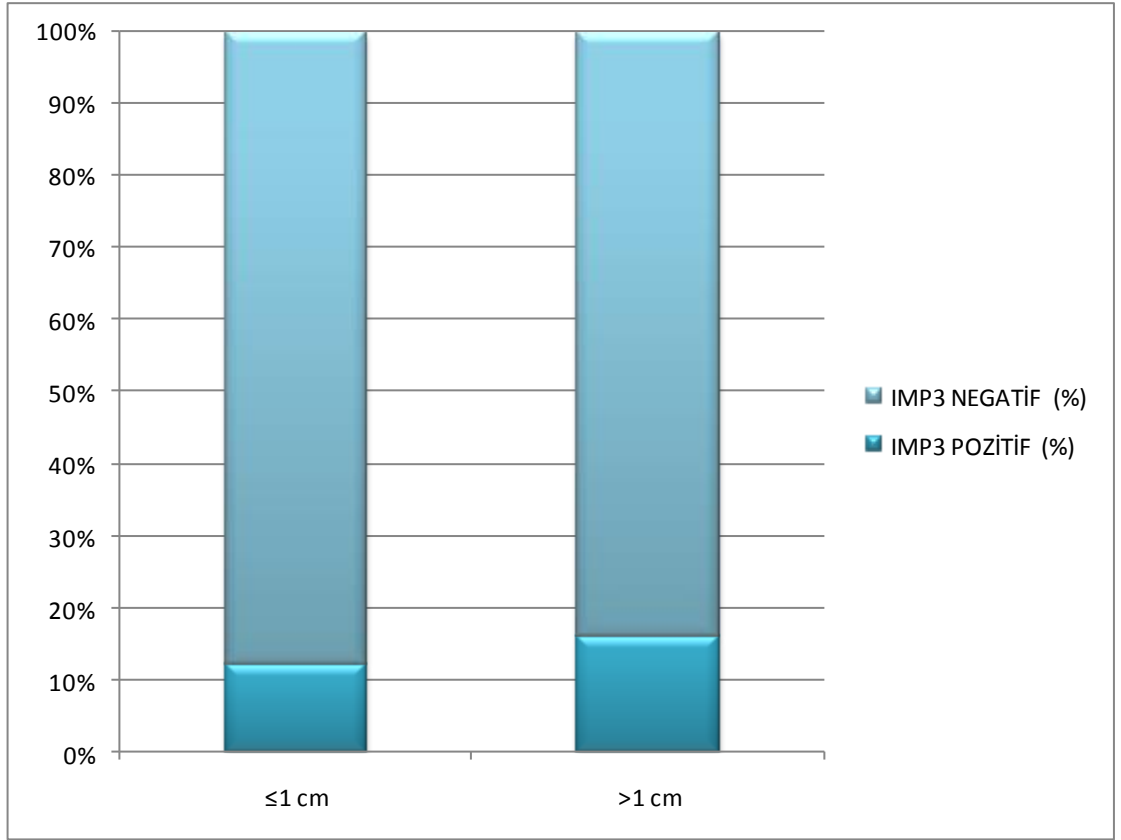
Şekil 14. Kuvvetli sitoplazmik IMP3 pozitifliği (İmmünperoksidaz, X400).



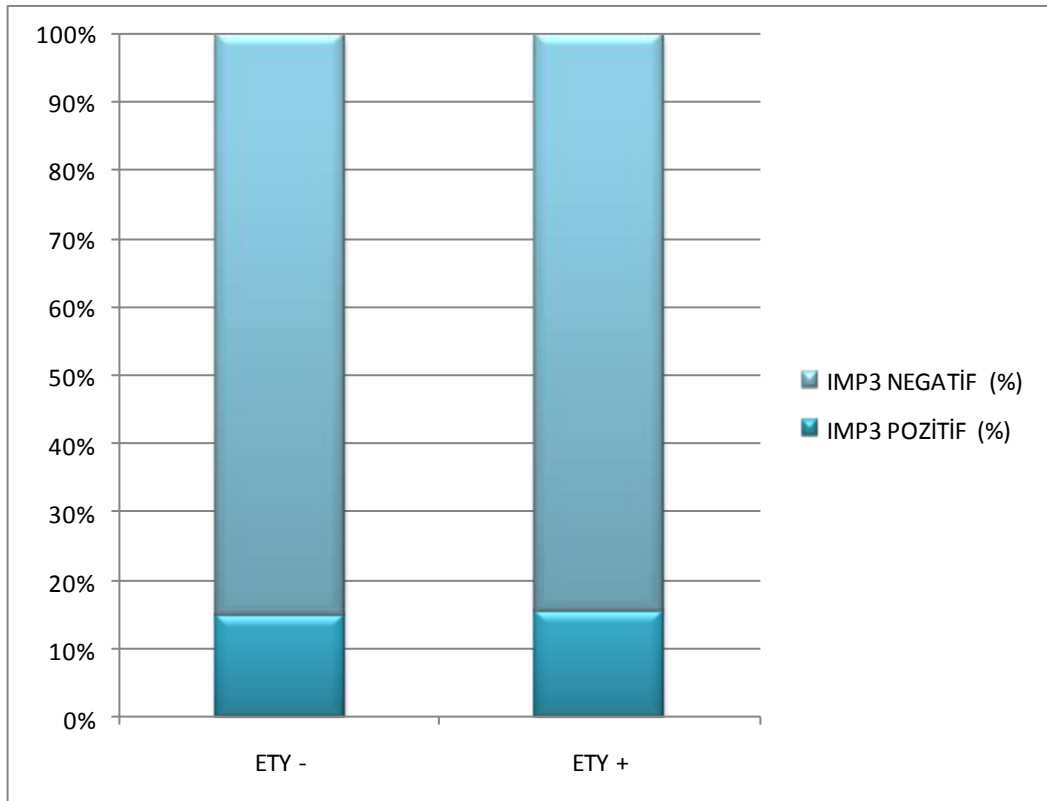
Şekil 15. IMP3 negatifliği (İmmünperoksidaz, X400).



Şekil 16. IMP3'ün PTK varyantlarına göre pozitif ve negatiflik oranları
KV: Klasik varyant, FV: Foliküler varyant.

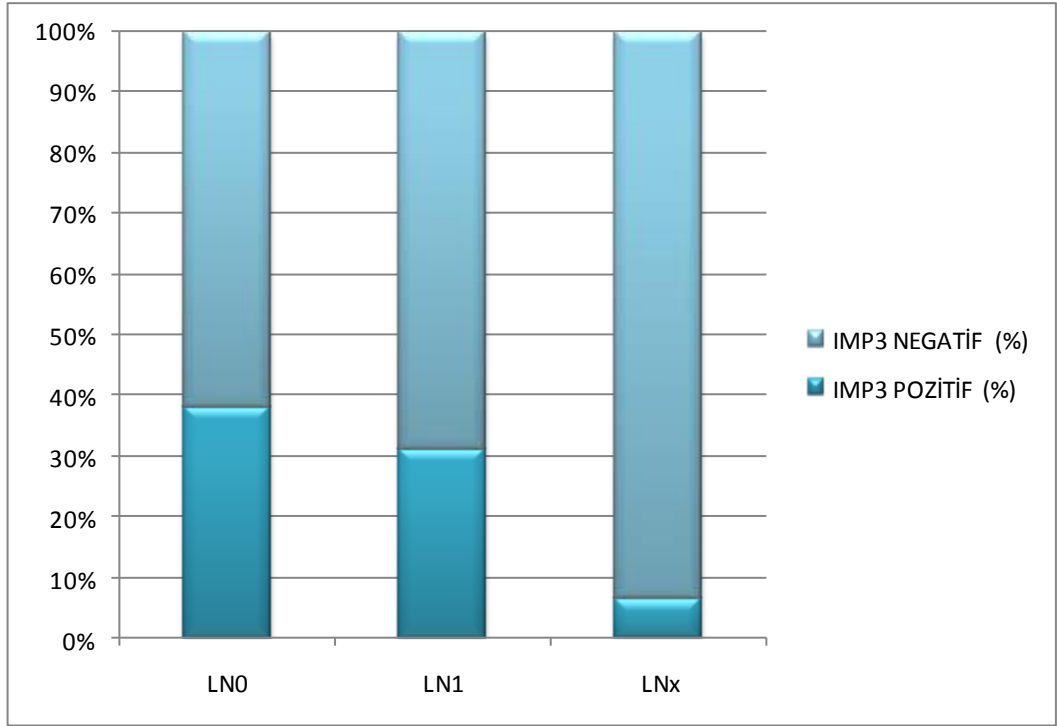


Şekil 17. IMP3'ün tümör boyutlarına göre pozitif ve negatiflik oranları



Şekil 18. IMP3'ün tümörde ekstratüroyidal yayılım durumuna göre pozitif ve negatiflik oranları

ETY -: Ekstratüroyidal yayılım yok, **ETY +:** Ekstratüroyidal yayılım var



Şekil 19. IMP3'ün lenf nodu metastazına göre pozitif ve negatiflik oranları

LN0: Lenf nodu metastazı yok, **LN1:** Lenf nodu metastazı var, **LNx:** Lenf nodu gönderilmedi.

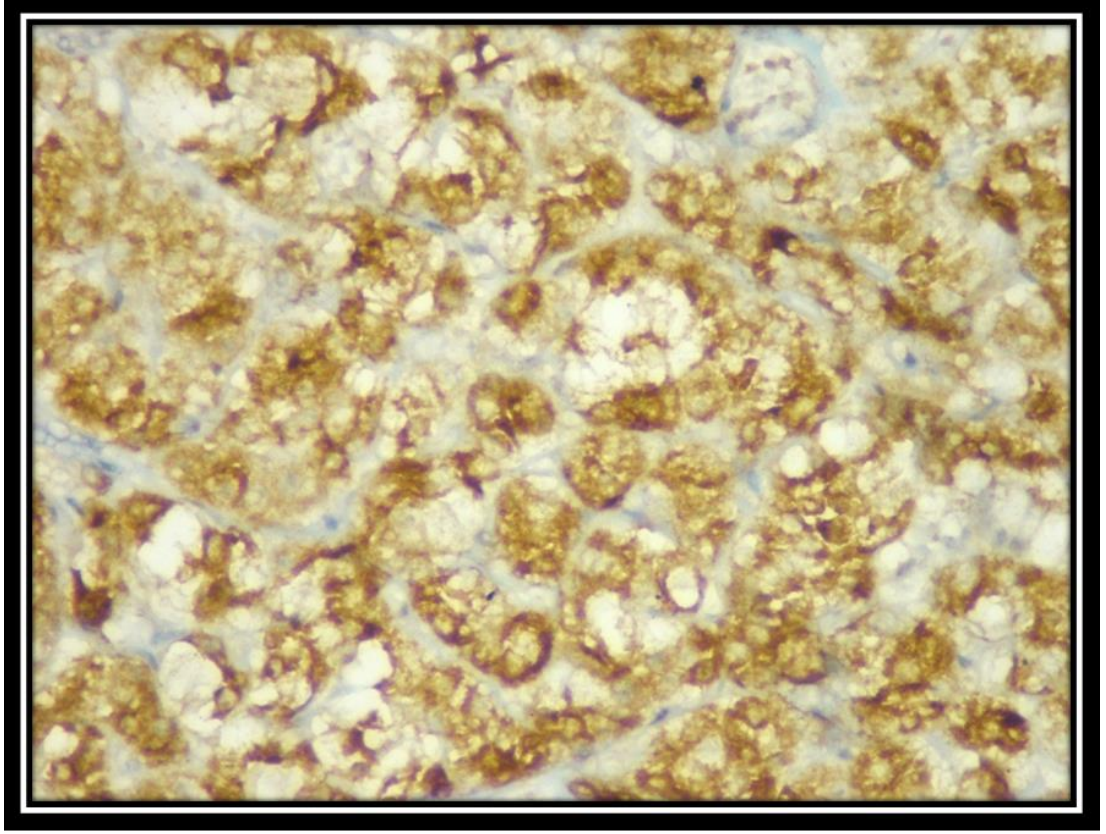


Tablo 6. IMP3 immünoekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

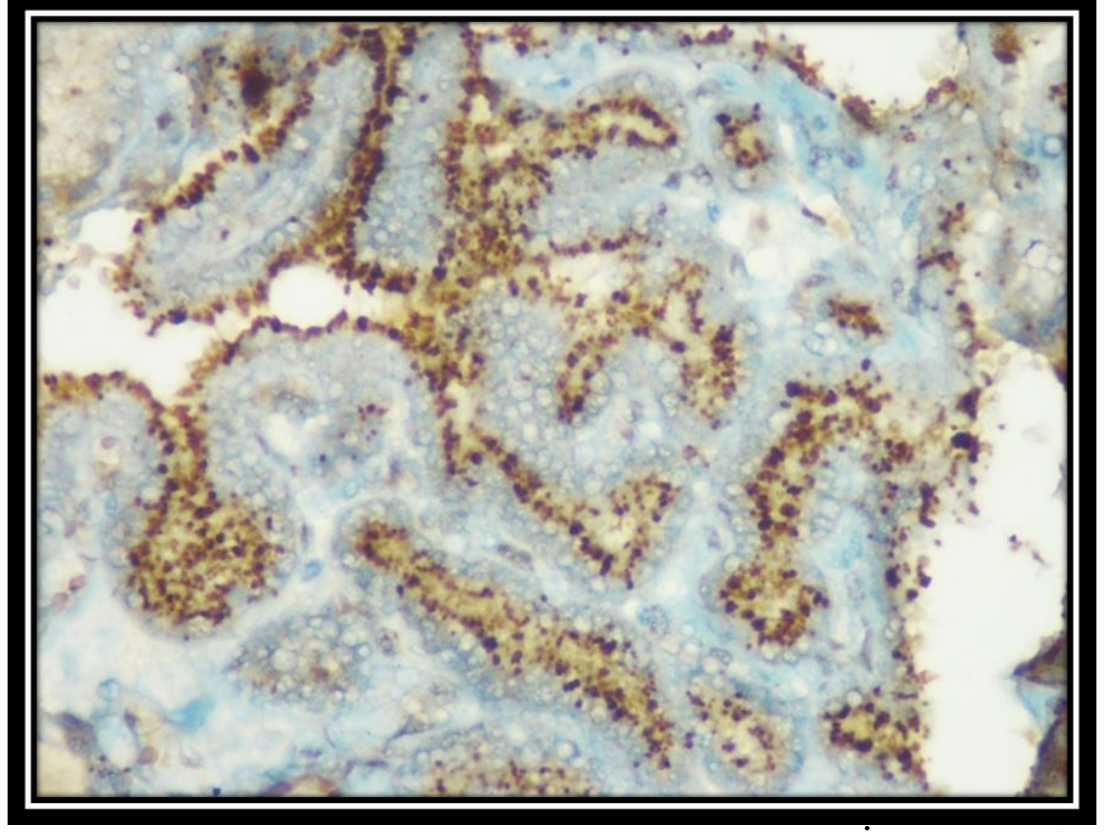
Klinikopatolojik parametre		IMP3		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤45	56 (%88,9)	7 (%11,1)	63 (%100,0)	0,371
	>45	85 (%82,5)	18 (%17,5)	103 (%100,0)	
Cinsiyet	Kadın	92 (%86,0)	15 (%14,0)	107 (%100,0)	0,654
	Erkek	49 (%83,1)	10 (%16,9)	59 (%100,0)	
Histolojik Varyant	Klasik	33 (%80,5)	8 (%19,5)	41 (%100,0)	0,450
	Foliküler	108 (%86,4)	17(%13,6)	125 (%100,0)	
Tümör Boyutu	≤1 cm	36 (%87,8)	5 (%12,2)	41 (%100,0)	0,625
	>1 cm	105 (%84,0)	20 (%16,0)	125 (%100,0)	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	72 (%81,8)	16 (%18,2)	88 (%100,0)	0,280
	Multifokal	69 (%88,5)	9 (%11,5)	78 (%100,0)	
Ekstratiroidal Yayılm	Yok	92 (%85,2)	16(%14,8)	108(%100,0)	1,000
	Var	49(%84,5)	9(%15,5)	58(%100,0)	
Lenf Nodu Metastazı	Var	51(%82,3)	11(%17,7)	62(%100,0)	0,324
	Yok	61(%83,6)	12(%16,4)	73(%100,0)	
	Gönderilmedi	29(%93,5)	2(%6,5)	31(%100,0)	
Lenfositik Tiroidit	Yok	43(%86,0)	7(%14,0)	50(%100,0)	1,000
	Var	98(%84,5)	18(%15,5)	116(%100,0)	
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	57(%82,6)	12(%17,4)	69(%100,0)	0,514
	Var	84(%86,6)	13(%13,4)	97(%100,0)	

PAPİLLER TİROİD KARSİNOMLARINDA TERT ANTİKORUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL EKSPRESYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

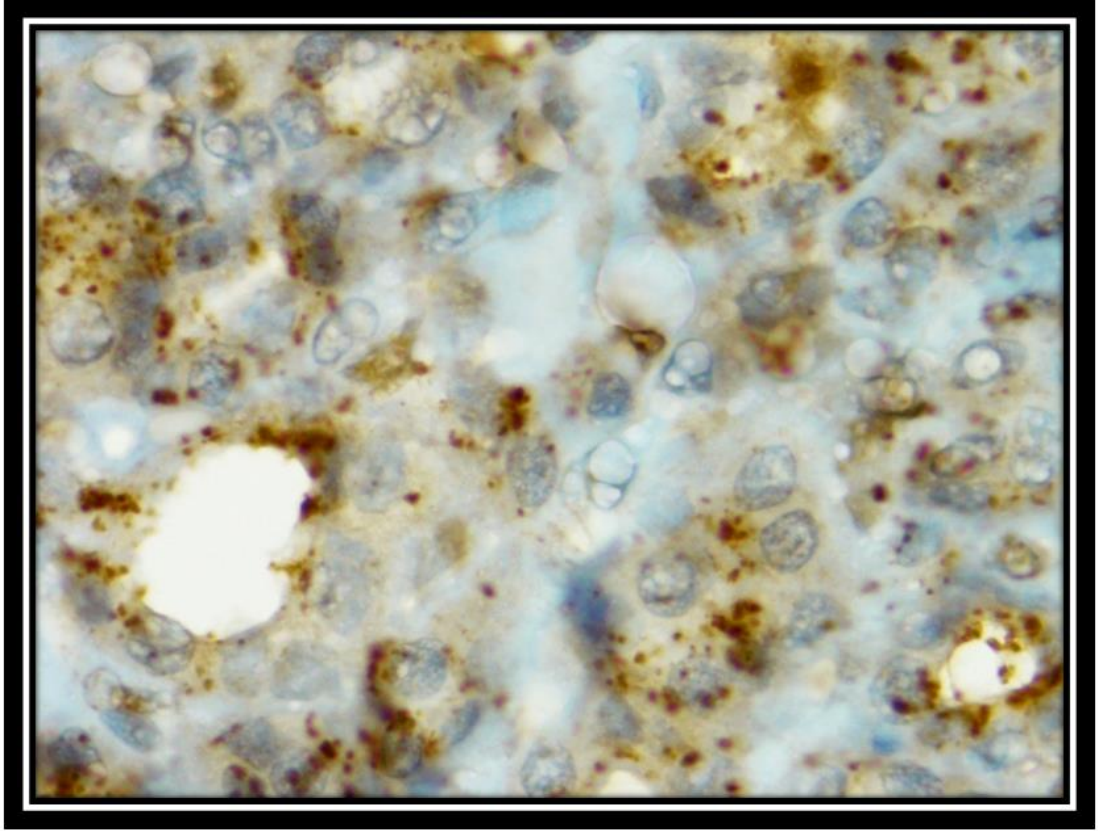
Olguların 35'inde (%21,1) TERT antikoruna pozitif reaksiyon izlenirken, 131'inde (%78,9) TERT antikoruna reaksiyon izlenmedi (Şekil 20-24). 45 yaş ve altındaki 63 hastanın 15'inde (%23,8), 45 yaşın üzerindeki 103 hastanın 20'sinde (%19,4) TERT antikoruna pozitiflik tespit edildi. 107 kadın hastanın 25'inde (%23,4), 59 erkek hastanın 10'unda (%16,9) TERT antikoruna pozitiflik tespit edildi. TERT antikoruna pozitiflik tespit edildi. 41 adet klasik varyant PTK olgusunun 6'sında (%14,6) , 125 adet foliküler varyant PTK olgusunun 29'unda (%23,2) TERT antikoruna pozitiflik tespit edildi (p:0,278) (Şekil 25). 1 cm ve 1 cm'den küçük boyutlu toplam 41 olgunun 9'unda (%22,0), 1 cm'den büyük boyutlu toplam 125 adet olgunun 26'sında (%20,8) TERT antikoruna pozitiflik tespit edildi (Şekil 26). Toplam 88 adet unifokal tümör olgusunun 17'sinde (%19,3), toplam 78 adet multifokal tümör olgusunun 18'inde (%23,1) TERT antikoruna pozitiflik izlendi. ETY yapan 58 olgunun 15'i (%25,9), ETY yapmayan 108 olgunun 20'sinde (%18,5) TERT antikoruna pozitif boyandı (Şekil 27). Lenf nodu metastazı yapmış 62 vakanın 14'ünde (%22,6), lenf nodu metastazı yapmamış 73 vakanın 13'ünde (%17,8) TERT antikoruna pozitiflik görüldü (Şekil 28). Tümör çevresi tiroid dokusunda lenfositik tiroidit varlığı tespit edilen 116 vakanın 18'inde (%15,5), tümör çevresi tiroid dokusunda lenfositik tiroidit izlenmeyen 50 vakanın 17'sinde (%34,0) TERT ile boyanma izlendi ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı idi (**p=0,012**). Tümörde lenfovasküler invazyon izlenen 97 vakanın 24'ünde (%24,7), lenfovasküler invazyon izlenmeyen 69 vakanın 11'inde (%15,9) TERT antikoruna pozitiflik tespit edildi. TERT antikorunun boyanma durumunun klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir.



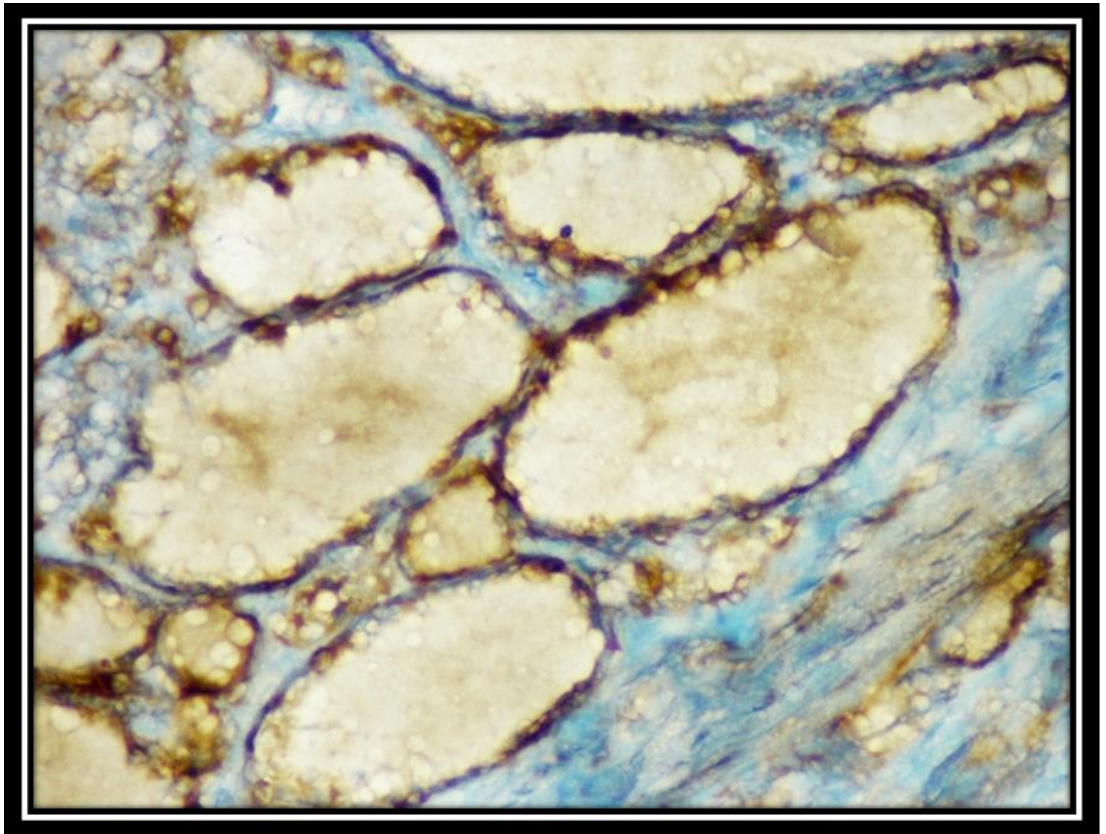
Şekil 20. Kuvvetli sitoplazmik TERT pozitifliği (İmmünperoksidaz, X400).



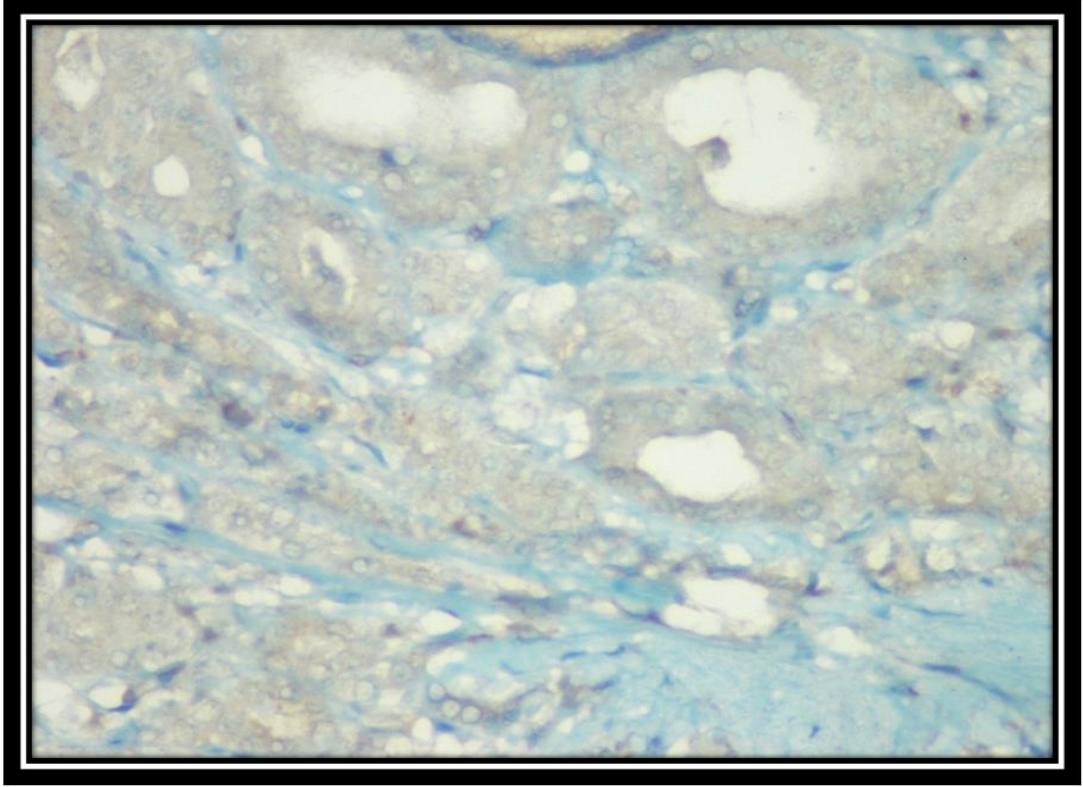
Şekil 21. Kuvvetli sitoplazmik granüler TERT pozitifliği (İmmünperoksidaz, X200).



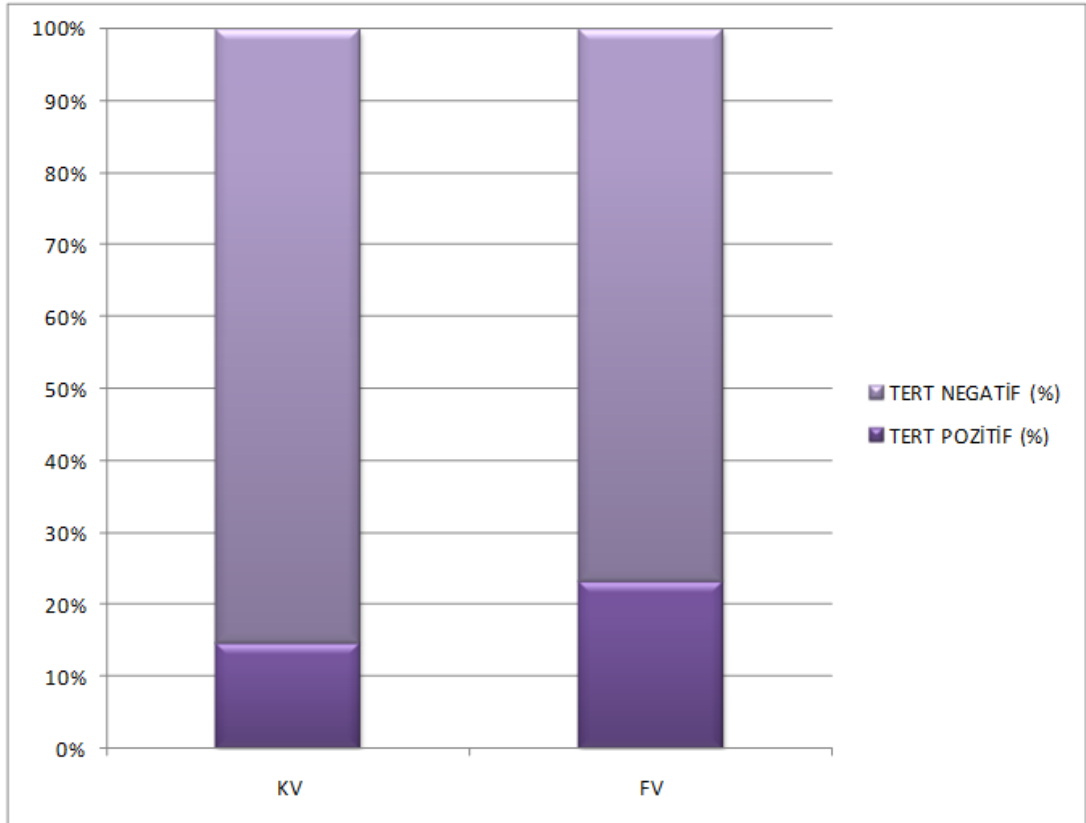
Şekil 22. Orta dereceli sitoplazmik granüler TERT pozitifliği (İmmünperoksidaz, X1000).



Şekil 23. Nükleer TERT pozitifliği (İmmünperoksidaz, X400).

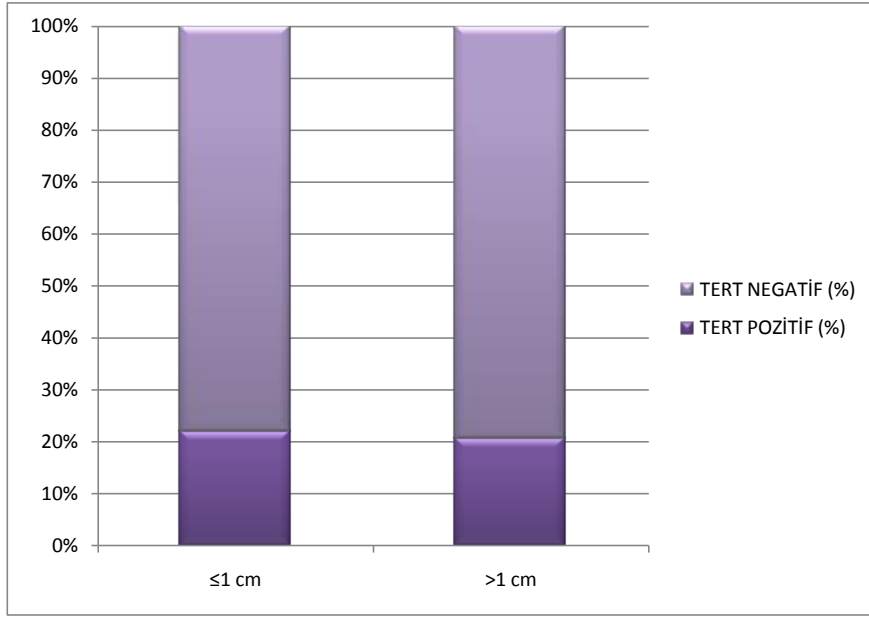


Şekil 24. TERT negatifliği (İmmünperoksidaz, X400).

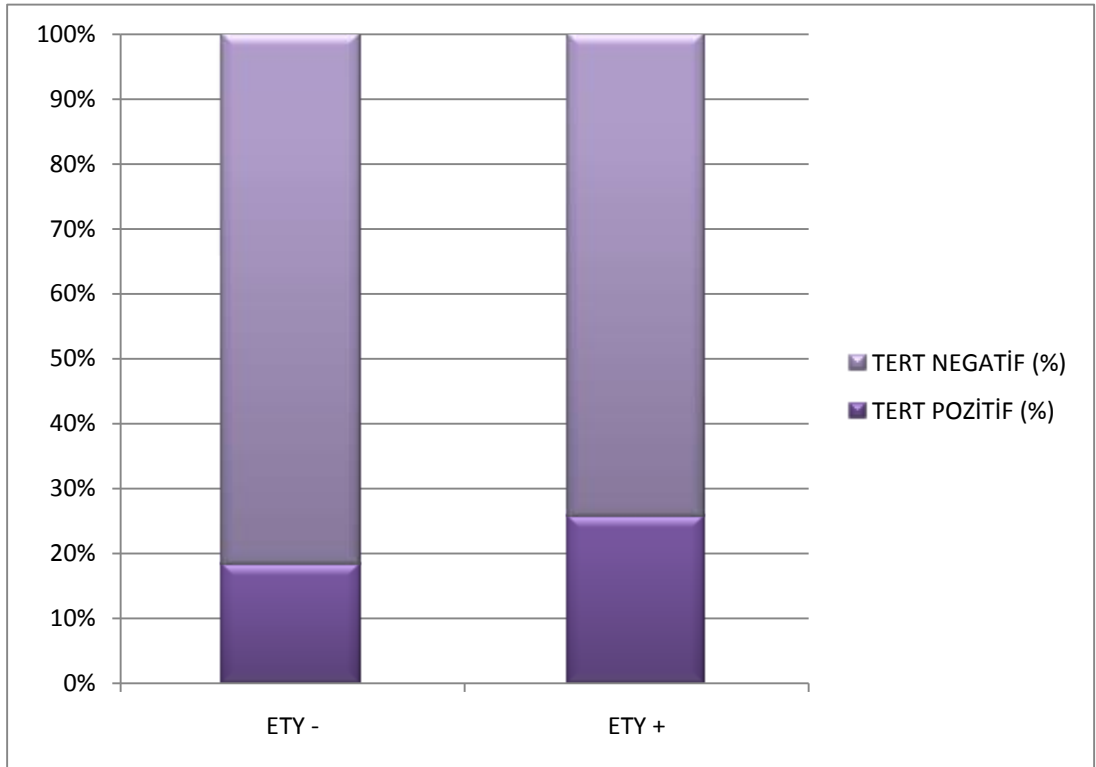


Şekil 25. TERT'in PTK varyantlarına göre pozitif ve negatiflik oranları

KV: Klasik varyant, FV: Foliküler varyant.

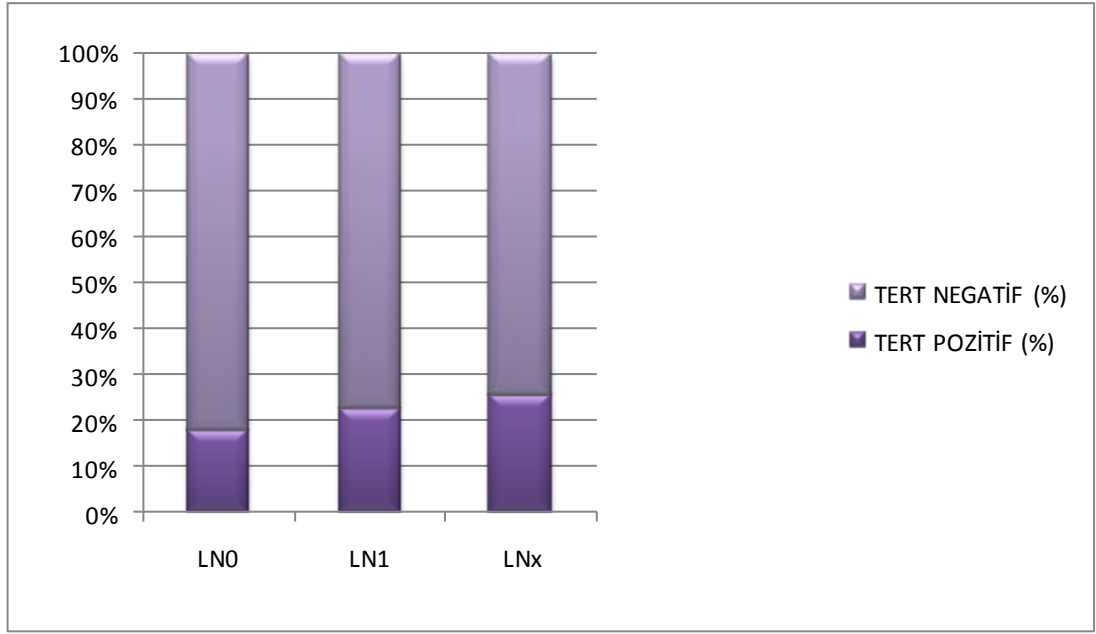


Şekil 26. TERT'in tümör boyutlarına göre pozitif ve negatiflik oranları



Şekil 27. TERT'in tümörde ekstrasitroidal yayılım durumuna göre pozitif ve negatiflik oranları

ETY -: Ekstrasitroidal yayılım yok, ETY +: Ekstrasitroidal yayılım var



Şekil 28. TERT'in lenf nodu metastazına göre pozitif ve negatiflik oranları

LN0: Lenf nodu metastazı yok, **LN1:** Lenf nodu metastazı var, **LNx:** Lenf nodu gönderilmedi.

Çalışmamızın isim değişikliği için alınan Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onay yazısı ektedir (Ek 2). Çalışmaya dahil edilen hastaların verileri Ek 3'te verilmiştir.

Tablo 7. TERT imünekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

		TERT		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤45	48 (%76,2)	15 (%23,8)	63 (%100,0)	0,558
	>45	83 (%80,6)	20 (%19,4)	103 (%100,0)	
Cinsiyet	Kadın	82 (%76,6)	25 (%23,4)	107 (%100,0)	0,427
	Erkek	49 (%83,1)	10 (%16,9)	59 (%100,0)	
Histolojik Varyant	Klasik	35 (%85,4)	6 (%14,6)	41 (%100,0)	0,278
	Foliküler	96 (%76,8)	29 (%23,2)	125 (%100,0)	
Tümör Boyutu	≤1 cm	32 (%78,0)	9 (%22,0)	41 (%100,0)	1,000
	>1 cm	99 (%79,2)	26 (%20,8)	125 (%100,0)	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	71(%80,7)	17(%19,3)	88(%100,0)	0,573
	Multifokal	60(%76,9)	18(%23,1)	78(%100,0)	
Ekstratiroidal Yayılım	Yok	88(%81,5)	20(%18,5)	108(%100,0)	0,319
	Var	43(%74,1)	15(%25,9)	58(%100,0)	
Lenf Nodu Metastazı	Var	48(%77,4)	14(%22,6)	62(%100,0)	0,616
	Yok	60(%82,2)	13(%17,8)	73(%100,0)	
	Gönderilmedi	23(%74,2)	8(%25,8)	31(%100,0)	
Lenfositik Tiroidit	Yok	33(%66,0)	17(%34,0)	50(%100,0)	0,012
	Var	98(%84,5)	18(%15,5)	116(%100,0)	
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	58(%84,1)	11(%15,9)	69(%100,0)	0,183
	Var	73(%75,3)	24(%24,7)	97(%100,0)	

TARTIŞMA

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin malignitedir ve insidansı dünya çapında bir çok ülkede son 30 yılda artış göstermektedir (1-4). PTK en sık görülen tiroid kanseridir. PTK, tüm tiroid kanserlerinin yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır (5). Çalışmamızda, PTKlarında immünohistokimyasal olarak FOXE1, IMP3 ve TERT antikollarının ekspresyonları ile klinikopatolojik parametreler karşılaştırıldı. Çalışmamızda elde ettiğimiz istatistiksel anlamlılık gösteren bulgulara göre tümörde FOXE1 immünekspresyonu mevcut olan olgularda lenfovasküler invazyon oranı daha yüksek idi ve ayrıca TERT immünekspresyonu göstermeyen tümörlere lenfositik tiroidit daha sık olarak eşlik etmekte idi.

Transkripsiyon faktörleri hücre proliferasyonunu ve diferansiasyonunu sağlayan bir grup proteindir. FOX ailesine ait olan bir grup transkripsiyon faktörleri onkogen (149) ve hücre gelişiminde rol aldığı bildirilmektedir. Örneğin, meme kanserinde FOXE1 (150), anaplastik karsinomda FOXA1 ve FOXM1 (151,152) kanser invazyonu gibi önemli olaylarda görev alırlar. FOXE1 tiroid organogenezi ve diferansiyasyonunda önemli rolü olan bir transkripsiyon faktörüdür. Ayrıca yapılan çalışmalarda PTK'larda FOXE1 transkripsiyon faktörünün önemli bir genetik risk faktörü olduğu ve abartılı ekspresyonunun ve sitoplazmaya translokasyonunun PTK patogenezinde önemli bir fenotipik işaret olduğu ifade edilmektedir (144). Ancak PTK'da FOXE1 geni ekspresyonu ve fonksiyonu hakkında çok az çalışma bulunmaktadır.

Bychkov ve ark.(144)'nın 127 PTK olgusu ile yaptığı immünohistokimya ve tek nükleotid polimorfizimli direkt sekanslama temelli çalışmada, FOXE1 boyanmasının tümör

periferinde (tümör sınırında) tümör santraline göre artmış olmasının genotip ve tümör multifokalitesi ile ilişkili olduğunu saptanmıştır. Ancak yazarlar diğer klinikopatolojik parametreler ile antikorun ekspresyonu arasında ilişki olmadığını ve dolayısıyla prognostik bir belirteç olarak kullanılmasının tavsiye edilemeyeceğini ifade etmektedirler (149). Diğer taraftan, Fan ve ark. (155) yaptıkları çalışmada, bizim çalışmamız ile ortak klinikopatolojik parametreler (\leq / $>$ 45 yaş, cinsiyet, multifokalite, ekstratiroidal yayılım, lenf nodu metastaz varlığı) ve antikorun immünekspresyonunu karşılaştırmışlardır. Yazarlar, bu parametreler içerisinde yalnızca tiroid kapsül invazyonu (13 olgunun 9'unda, %69,2) ve lenf nodu metastazı varlığı (60 olgunun 29'unda, %48,3) ile FOXE1'in yüksek ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, tümörde FOXE1 immünekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiş ($p=0,04$) ve FOXE1 immünekspresyonu gösteren tümörlerde lenfovasküler invazyon riski negatif olan tümörlere göre 2,6 daha yüksek olarak bulunmuştur. Ayrıca, olgu grubumuzda istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamış ise de, klasik varyant PTK'larda foliküler varyant tümörlere göre ve lenf nodu metastazı bulunan olgularda bulunmayan tümörlere göre FOXE1 ekspresyonu göreceli olarak daha sık olarak gözlenmiştir. Mevcut çalışmaya ait sonuçlar ve bildirilmiş olan diğer çalışma sonuçları beraber ele alındığında, FOXE1 immünekspresyonunun PTKlarında lokal yayılım ve lenfovasküler yayılım açısından etkilerinin daha geniş vaka serilerinde ve moleküler inceleme yöntemleri ile değerlendirilmesinin bu anlamda katkılar sağlayabileceği ve elde edilebilecek muhtemel sonuçların ince iğne aspirasyon materyallerine uygulanması ile preoperatif hasta seçimi yanısıra cerrahi prosedürün tipi ve postoperatif tedavi ve takip süreci için de katkı sunabileceği düşünülmüştür.

Fan ve ark.(153)'nin yaptığı çalışmada, tümör boyutu sınır değer olarak 2 cm belirlenmiş ve FOXE1 ekspresyonu yüksek olgular ile tümör boyutu arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Bychkov ve ark.'nin yaptığı çalışmada (144), tümör boyutunu 10mm ve altı/ 11-20 mm/ 20mm ve üstü olarak kategorize etmişler ve yazarlar FOXE1 ekspresyonu ile tümör boyutu arasında anlamlı ilişki bulunmadığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda bu sınır değer 1 cm olarak belirlenmiş ancak, tümör boyutu ile FOXE1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı görülmemiştir.

Bychkov ve ark.(144)'nin yaptığı çalışmada, tümör dışı tiroidde nükleer ekspresyon daha fazla bulunmuş, kanser hücreleri için sitoplazmik boyanma daha esansiyel kabul edilmiştir. Kanser hücrelerindeki nükleer boyanma, PTK'nın nükleer özellikleri itibarıyla rim (halka)-benzeri şekilde tespit edilmiştir. En yüksek oranda nükleer boyanma normal tiroid

dokusunda izlenirken en yüksek orandaki sitoplazmik boyanma tümör dokusunda izlenmiştir. Bu boyanma özelliği açısından bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular yazarların bildirdiği bulgular ile benzerlik göstermekte olup antikör ekspresyonuna sahip tüm tümör odaklarında sitoplazmik boyanma saptanmıştır, nükleer boyanma izlenmemiştir. FOXE1'in sitoplazmada birikimini indükleyen faktörler arasında bir ya da birden fazla sinyalizasyon kaskadının görev alabileceği bildirilmektedir. Örneğin SHH/GLI ve WNT yolakları FOXE1 ekspresyonunu regüle ederler (135) ve PTK'da aktiftirler. Bychkov ve ark.(144)'nın yayınladığı makalede yine de FOXE1'in sitoplazmaya translokasyonunda PTK'ya veya başka bir hücreye transformasyonu için aktif bir katkısı olup olmadığını anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmekte ve de PTK hücrelerindeki abartılı sitoplazmik FOXE1 ekspresyonu, FOXE1'in kanser biyolojisi ile ilişkisi hakkında fikir verici olabileceği ifade edilmektedir (144). Aynı zamanda yazarlar, Bychkov ve ark.(144)'nın yayınında elde ettikleri bulgularla FOXE1'in "tümör-konak interfazında" rolü olduğu ve tümör gelişiminin erken evrelerinden itibaren karsinogenez faaliyetlerinde rol oynadığını belirtmekte, fonksiyonel çalışmaların FOXE1'in etkisini daha da netleştireceğini öne sürmektedirler.

FOXE1'in tümörögenezdeki rolünün kesin olduğu halen tartışma konusudur. Mikrokarsinomlarda da FOXE1 (TTF2) ekspresyonunun saptanmış olması, FOXE1'in PTK'nın erken evrelerinde seviyesinin arttığını göstermektedir. Bu bağlamda FOXE1 geni PTK tümörögenezinde bir aktivatör rolü oynadığını söylemek mümkün olabilir (153). Matsuse ve ark. (15) yaptığı çalışma; FOXE1 ekspresyonunun PTK ve PTK gelişiminde yüksek risk faktörünü etniteden bağımsız olarak genetik duyarlılıkla ilişkili olduğunu göstermiştir. Fan ve ark. (153), PTK'larda FOXE1 seviyelerini artmış olarak buldukları için FOXE1 gen ekspresyonunun PTK gelişiminde yüksek risk ile ilişkili olabileceğini saptamış ve FOXE1'in prognostik bir biyobelirteç ve yeni bir terapötik hedef olmaya aday olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada FOXE1 ekspresyonları PCR ve western blot teknikleri ile de desteklenmiş olup, bizim çalışmamızda yalnızca immünohistokimyasal çalışma ile demonstre edilmiştir.

Daha önce bildirilen bulgular ve çalışmamızda bildirilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde FOXE1 transkripsiyon faktörünün PTK karsinogenezindeki görevine ve tümör çevresine göre tümörde belirgin sitoplazmik immünreaksiyonun nükleer kriterlerin sınırda olduğu vakalarda tanısal yardımcı yöntem olarak kullanımına dair geniş serili olgu gruplarında moleküler çalışmaların katkı sunabileceği düşünülmektedir.

Bychkov ve ark.(144)'nın yaptığı çalışmada, PTK'nın histolojik varyantları ile FOXE1 boyanması arasında anlamlı bir fark bulunamadığını bildirmektedirler. Çalışmamızda

ise klasik varyant ve foliküler varyant PTK'lar arasında FOXE1 boyanma farklılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir, ancak göreceli olarak FOXE1 sitoplazmik immünoekspresyonunun klasik varyant PTKlarda daha sık izlendiği tespit edilmiştir.

Fan ve ark.(153)'nin 81 adet PTK olgusuyla yaptığı gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve immünohistokimya bazlı çalışmada, tüm tümör alanlarında immünohistokimyasal olarak FOXE1 ekspresyonu saptanmış (81/81, %100) ve PCR ile PTK'lardaki FOXE1'in mRNA ekspresyon seviyelerinin tümör dışı tiroid dokusuna göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bychkov ve ark.(144)'nin yaptığı çalışmada da immünohistokimyasal yöntem ile olguların tamamına yakınında FOXE1 ile boyanma saptandığı rapor edilmektedir. Bizim çalışmamızda olgu grubumuzda FOXE1 ile immünohistokimyasal olarak boyanma oranı %57,8 olarak gözlenmiştir (166 olgunun 96'sında). Çalışmamızdaki boyanma oranının diğer bildirilmiş oranlara göre düşük olması, kullanılan primer antikorların türü, klonu, dilüsyonu, inkübasyon sürelerindeki ve üç olgu serisinin bulunduğu popülasyon farklılıkları gibi çok değişkenli faktörlerin etkisini akla getirmektedir.

IMP3 onkofetal bir proteindir ve embriyogenez esnasında fetal dokulardan (epitel ve kas dokusu) ve plasentadan eksprese olur. Son 5 yılda tamamlanan çalışmalar birçok yetişkin insan tümöründe (özellikle pankreas, karaciğer, böbrek, uterus, testis) ve nadiren benign dokularda IMP3'ün re-eksprese olduğunu göstermiştir. IMP3 eksprese olduğunda ileri tümör evresi ve agresif tümör davranışı (tümör boyutu, lenfovasküler invazyon gibi) ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Tiroid karsinomlarının IMP3 ile ilişkisi son yıllarda ilgi odağı olmaya başlamışsa da, halihazırda literatürde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (145-147).

Yörükoğlu ve ark.(18)'nin 84'ü PTK tanılı 124 adet tiroidektomi olgusu ile yaptığı immünohistokimya temelli çalışmada, benign dokularda IMP3 ile boyanma olmadığı, tümör boyutu ve IMP3 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadığı ifade edilmektedir. Jin ve ark.(131)'nin yaptığı çalışmada, 32 tiroid karsinomu olgusunda immünohistokimyasal yöntemlerle IMP3 pozitifliği değerlendirilmiş. Papiller tiroid karsinomu olgularının %66,7'sinde soluk boyanma, foliküler karsinom olgularının %62,5'inde kuvvetli boyanma saptanmış ve pozitif olgulara kantitatif ve konvansiyonel PCR yöntemi uygulanmış, sonuçlar klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Slosar ve ark.(146)'nin immünohistokimyasal yöntem kullanılarak yaptıkları çalışmada, benign tiroid dokusunda ve benign lezyonlarda IMP3 ile boyanma izlenmemiş; klinikopatolojik kriterlerle karşılaştırma yapıldığında, IMP3

pozitif olgularda lenf nodu metastazı ve ekstratioidal yayılım varlığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yazarlar, IMP3'ün foliküler paterndeki vakalarda malign lezyonu ayırt etmede ve kötü prognozu yansıtmada faydalı olabileceği, histolojik varyantlar arasında IMP3 immünekspresyonunda farklılık bulunmadığı ve de IMP3'ün tiroidin tüm benign lezyonlarında negatif olması nedeniyle malign lezyonlar için yüksek spesifitede (%100) bir belirteç olup bu nedenle IMP3'ün benign ve malign tiroid neoplazilerini ayırmada efektif olabileceği kanaatine varmışlardır. Bizim çalışmamızda da tümör dışı normal tiroid dokusunda kuvvetli boyanma görülmemiş olup herhangi bir klinikopatolojik parametre ile IMP3 immünekspresyonu arasında anlamlı ilişki gözlenmemiştir. Jin ve ark.(131)'nın çalışmalarında bildirildiği üzere, literatürde var olan çalışmalarda bildirilen immünekspresyon şiddetindeki heterojenite (18,146,147) ve bizim çalışmamızda bildirilen immünreaksiyonun şiddeti birlikte ele alındığında IMP3 için PCR yönteminin immünohistokimyasal yöntemle göre daha hassas yöntem olabileceği düşünülmektedir.

Müeller-Pillasch ve ark. (154) IMP3'ü ilk olarak pankreatik kanserde "k-homology domain containing protein"i (K-homolog alanı içeren protein: KOC) aşırı eksprese etmesiyle tanımlamışlardır. Burada KOC'un (dolayısıyla IMP3'ün) RNA stabilitesinde ve transkripsiyon regülasyonunda rol oynayabileceği öne sürülmüştür. 2003 yılında IMP3/KOC, pulmoner skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinomda overeksprese olarak saptanmıştır (155). Benzer bulguların pankreasın yüksek dereceli lezyonları ve karsinomları, hepatoselüler karsinomda, renal hücreli karsinomda, endometrial seröz karsinomda, ekstrapulmoner küçük hücreli karsinomda ve malign seröz efüzyonlarda IMP3 ekspresyonunun yüksek bulunması nedeniyle IMP3'ün malignensi belirteci olarak kullanılmasını destekler niteliktedir (155-158). Normal tiroid dokusunun gelişme regülasyonu tiroid stimulan hormon (TSH), epidermal büyüme faktörü (EGF), insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF) ve TGF α 'nın (Transforming growth factor alpha) birbirleriyle koordineli çalışmasını da içeren normal tiroid proliferasyonu ve difereansiyasyonunu da etkileyen kompleks bir prosestir (159). Benzer şekilde malign transformasyon mekanizması da multifaktöriyeldir. Slosar'ın makalesinde (142), IMP3'ün aslında malign transformasyonu başlatıcı ve proliferatif etkisi mi yoksa bu transformasyon sonucunda mı ortaya çıktığının ileri çalışmalarla aydınlatılacağından bahsedilmektedir. Slosar ve ark.(146)'nın çalışmasında foliküler tiroid malignensilerinin %100 spesifite ve %100 pozitif prediktif değerinde elde edilmesiyle malign ve benign tiroid lezyonlarını ayırmada IMP3'ün immünohistokimyasal panele eklenebileceğinden bahsedilmektedir. Ayrıca tiroid ince iğne aspirasyonu materyallerinin değerlendirilmesinde indeterminate (belirsiz) lezyon kategorisinde (önemi belirsiz atipi, önemi belirsiz foliküler lezyon, foliküler neoplazi,

foliküler neoplazi şüphesi şüpheli malign hücreler) (160) benign/malign ayrımı yapmada morfolojiye ek olarak IMP3 yardımcı olabileceği ifade edilmektedir. IMP3, pankreatik lezyonların ince iğne aspirasyon sitolojilerinde kullanılmaya başlanmıştır (161).

Asioli ve ark.(147)'nin az diferansiye tiroid karsinomlarında yaptıkları çalışmada ise, IMP3'ün immünohistokimyasal ve PCR ile ekspresyonunun prognostik parametreler ile karşılaştırılması yapılmış, 103 olgunun %59'unda IMP3 ile immünohistokimyasal olarak sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada IMP3 pozitifliğinin artmış ölüm riski, lenf nodu metastazı ve uzak metastazla da ilişkisi bildirilmektedir. Ancak bizim çalışmamızda benign lezyonlar ile immünreaksiyon karşılaştırılmamış olmasına rağmen olgu grubumuzda yer alan tümörlerin ancak %15,1'inde boyanma görülmüştür. Literatürde bildirilen oranlar ile karşılaştırılma yapıldığında izlenen oransal farkın muhtemel sebebi kullanılan primer antikör türü, uygulama yöntemi veya hasta popülasyonunun coğrafi farklılığı olabileceği gibi immünreaksiyonun değerlendirmesinde tümüyle objektif kriterlerin kullanılamaması olabilir. Zira, çalışmamızda olgularda izlenen zayıf şiddette immünreaksiyon negatif olarak kabul edilmiştir.

Telomeraz revers transkriptaz (TERT), telomerazın subunitidir. Bir integral RNA subuniti ve çeşitli türe-spesifik proteinlerden oluşmaktadır. Görevi, kromozomların ucuna telomer (ard arda sıralı tekrarlayan TTAGGG sekansları) eklemek (19) ve böylece kromozom bütünlüğü ve genom stabilitesini sağlamaktır (20).

Telomerazın, germ hücre serileri ve kök hücrelerde ekspresyonu iyidir olur ancak birçok somatik hücrede de daha az oranda ekspresyon mevcuttur ya da baskılanmıştır. Her hücre bölünme döngüsünde telomer kaybı meydana gelir ve telomerler belirli kritik uzunluğa ulaştıkları zaman hücreler yaşlanmaya başlar (162). Bunun aksine telomeraz birçok kanserde reaktif haldedir (22); böylece kritik telomer kısalması önlenmiş olur, bu da kanser hücrelerine ölümsüz olarak replike olma özelliği kazandırır (163).

RNA subuniti ile karşılaştırıldığında TERT, hücrelerin malign transformasyona gidişte telomeraz aktivasyonunda dominant rol oynamaktadır (164-168). TERT ayrıca NF-κB'ye (aktive B hücrelerinin kappa-hafif-zincir-güçlendirici nükleer faktörü) bağlı gen ekspresyonunu regüle eden (169) ve kromatindeki myc seviyelerini stabilize eden (170) büyüme-kontrol genlerinin de ekspresyonunda rol oynar (171). TERT'in bu fonksiyonları nedeniyle TERT'in telomer-bağımsız bir tutumla bir onkogen gibi davranabileceği de öne sürülmüştür (172).

Kanserlerde en sık gözlenen 2 adet TERT promotör (başlatıcı) mutasyonu vardır. Bunlar 5. kromozomda lokalize 1,295,228 C>T (C228T) ve 1,295,250 C>T (C250T)'dir ve

sırasıyla 124. ve 126. pozisyonlara denk gelmektedir. Birçok kansere bakıldığında C228T'nin C250T'ye göre daha dominant olduğu belirlenmiştir (25,26,173).

Çeşitli tiroid kanserlerinde TERT promoter (başlatıcı) mutasyonları ilk olarak 2013'te raporlanmış olup (174), sonrasında da birçok çalışmalar bildirilmiştir(24,175-177). TERT, tiroid kanser araştırmaları için yeni ve heyecan verici bir alan olarak göze çarpmaktadır. Böylece tiroid kanserlerindeki TERT promoter (başlatıcı) mutasyonlarının biyolojik rolü ve klinik önemi daha iyi anlaşılmasına çalışılmaktadır (178).

Liu ve ark.'nın TERT hakkında yaptığı derlemede TERT mutasyon varlığı papiller tiroid karsinomu ve tüm tiplerdeki tiroid karsinomlarında artan yaş ($59,2 \pm 15,5$), erkek cinsiyet, tümör boyutu ($3,93 \pm 2,68$ cm), ekstratiroidal yayılım varlığı, uzak metastaz, yüksek tümör evresi, tümör nüksü ve tümör nedenli ölüm oranlarında anlamlı istatistiksel sonuç elde edildiği bildirilmektedir (178).

Melo ve ark.(148)'nin PCR ile yaptığı çalışmada, TERT promoter (başlatıcı) mutasyonu normal tiroid parankiminde, benign tiroid lezyonlarında, lenfositik tiroiditte ve foliküler adenomda bulunduğu rapor edilmektedir. Ayrıca TERT mutasyon varlığının, ileri yaş (>45), büyük tümör boyutu (>2 cm), uzak metastaz varlığı ve yüksek tümör evresi ile ilişkili bulunmuş, sonuç olarak TERT mutasyonunun diferansiye tiroid karsinomlarında tümör agresifliğini belirleyici bir indikatör görevi gördüğü bildirilmektedir. Bununla birlikte yazarlar, TERT mutasyon varlığının vasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım ve lenf nodu metastazı ile ilişki bulunmadığını ifade etmektedirler. Bizim çalışmamızda da TERT pozitifliğinin, tümöre eşlik eden tümör dışı tiroid dokusunda lenfositik tiroidit bulunmayan olgularda daha sık olarak izlenmiştir ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p:0,002$); diğer klinikopatolojik parametreler ve TERT immünespresyonu arasında ilişki gözlenmemiştir. Literatürde, lenfositik tiroidit ile birliktelik gösteren PTK'ların daha iyi klinik seyir gösterdiği ve daha az oranda lenf nodu metastazı yaptığı ifade edilmektedir (179). Dolayısıyla, TERT immünespresyonunun lenfositik tiroidit ile ilişkisi, tümörün klinik davranışı ile dolaylı ilişkiye sahip olabileceği ancak bu anlamda daha geniş serilerde ve moleküler yöntemler ile çalışmaların faydalı olabileceği düşünülmektedir

Melo ve ark.(148)'nin çalışmasında, Çernobil nükleer kazasından etkilenmiş hastalardan çıkarılan benign ya da malign tümörlerde ve onkositik özellikler sergileyen tümörlerde TERT mutasyonu saptanmadığını rapor etmişlerdir. Yazarlar, TERT mutasyonların ortaya çıkmasında radyasyonun çok da kuvvetli bir etkisinin olmadığı yönünde değerlendirmişlerdir. Bulgular birlikte değerlendirildiğinde, radyasyon ilişkili veya lenfositik tiroidit eşliğinde/zemininde izlenen PTK'larda başkaca bir moleküler olayın

karsinogenezde yer alabileceği akla gelmektedir. Özellikle lenfositik tiroiditte de izlenen onkositik sitomorfolojiye sahip PTK'larda immünohistokimyasal yöntemden ziyade moleküler analizleri kapsayan daha ileri çalışmaların faydalı olabileceği düşünölmektedir.



SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda farklı histolojik tipteki papiller tiroid karsinomlarında FOXE1, IMP3 ve TERT immünoekspresyonunun immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirilmesi ve antikorların ekspresyon durumu ile klinik ve prognostik histopatolojik bulguların karşılaştırılması amacıyla yaptığımız çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- 1) Papiller Tiroid Karsinomlarında lenfovasküler invazyon varlığı ile, FOXE1 immünoekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (**p=0,04**).
- 2) Tümöre eşlik eden tiroid dokusunda lenfositik tiroidit izlenmemesi ile tümörde TERT'in boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0,012**).
- 3) Papiller Tiroid Karsinomlarında 45 yaş ve altındaki olgular ile 45 yaş üstündeki olgular arasında FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 4) Papiller Tiroid Karsinomlarında kadın/erkek cinsiyet ile FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 5) Klasik varyant Papiller Tiroid Karsinomu ve foliküler varyant Papiller Tiroid Karsinomları arasında FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 6) Tümör boyutunun 1 cm ve 1 cm'den küçük olması ve 1 cm'den büyük olması ile FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 7) Tümör fokalitesi ile, tümörde FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

- 8) Tümörün ekstratiroidal yayılımı ile, tümörde FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 9) Tümörün lenf nodu metastazı yapmış veya yapmamış olması ile, tümörde FOXE1, IMP3 ve TERT'in boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 10) Tümöre eşlik eden tiroid dokusunda lenfositik tiroidit varlığı ile tümörde FOXE1 ve IMP3'ün boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
- 11) Tümörde lenfovasküler invazyon varlığı/yokluğu ile, tümörde IMP3 ve TERT'in boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.



ÖZET

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin malignite olup, insidansı dünya çapında bir çok ülkede son 30 yılda artış göstermektedir. Papiller tiroid karsinomu en sık görülen tiroid kanseridir ve tüm tiroid kanserlerinin yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, papiller tiroid karsinomlarında FOXE1, IMP3 ve TERT immünoekspresyonu ile klinik ve prognostik histopatolojik bulguların karşılaştırılması amaçlandı. Papiller tiroid karsinomu tanısı alan total tiroidektomi/lobektomi ve/veya santral/boyun diseksiyonu yapılmış olan olgulara ait biyopsi materyalleri kullanıldı. 166 olgu çalışmaya alındı. İnceleme sırasında papiller tiroid karsinomu varyantlarının (klasik varyant/foliküler varyant) yanı sıra tümörlerin boyutu (≤ 1 / >1 santimetre), fokalitesi (unifokal/multifokal), ekstratiroidal yayılımı, lenfovasküler invazyonu, lenf nodu diseksiyonlu olgularda lenf nodu metastazı varlığı, tümör dışı tiroidekteki lenfositik tiroidit varlığı ya da yokluğu değerlendirildi. Olguların yaş (≤ 45 yaş/ >45 yaş) ve cinsiyet (kadın/erkek) bilgileri kaydedildi. Seçilen bloklardan alınan kesitlere FOXE1, IMP3 ve TERT antikorları uygulandı ve iki gözlemci tarafından ışık mikroskopu ile değerlendirildi.

Elde edilen bulgulara göre FOXE1 pozitifliği ile tümörde lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Ayrıca TERT pozitifliği ile tümör dışı tiroid dokusunda lenfositik tiroidit zemininin bulunmaması arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. Diğer kriterler ile antikorların boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Sonuç olarak, genellikle lenfatik damarlar veya direkt invazyon ile lokal yayılım gösterme eğilimine sahip papiller tiroid karsinomlarında FOXE1 ile immünoekspresyon, lenfovasküler invazyonun bir işareti olabilir ve FOXE1 pozitif olgularda lenfovasküler

yayılım ve lenf nodu metastazı açısından olguların daha dikkatli değerlendirilmesi ve ince iğne aspirasyon materyallerinde moleküler analiz yöntemlerinin dahil edildiği, geniş vaka grupları içeren ileriye dönük çalışmaların preoperatif tanı ve hastaların preoperatif/postoperatif klinik yönetiminde katkısı olacağı dşnlmektedir.

Anahtar Kelimeler: FOXE1, IMP3, TERT, papiller, tiroid, karsinom



EXPRESSION OF FOXE1, IMP3 AND TERT IN PAPILLARY THYROID CARCINOMAS

SUMMARY

Thyroid cancer is the most common endocrine malignancy, and incidence of this tumor has been increased all around the world during the last 30 years. Papillary thyroid carcinoma is the most common type of thyroid cancer and comprises 85% of all thyroid cancers.

The aim of this study was to evaluate expressions of FOXE1, IMP3 and TERT by immunohistochemistry and to compare the status of expressions with the clinicopathological features. A total of 166 cases with diagnosis of papillary thyroid carcinoma were included in the study group. Histological variant (follicular/conventional), tumor size (\leq / $>$ 1 centimeter), presence/absence of multifocality, extrathyroidal extension, lymphovascular invasion, lymph node metastases and accompanying lymphocytic thyroiditis were evaluated. Age of the patients (\leq 45 years / $>$ 45 years) and gender (male / female) were recorded. Immunohistochemical studies with FOXE1, IMP3 and TERT antibodies were and evaluations were performed with light microscopy by two observers.

According to the results, there was a statistically significant association between the positivity of FOXE1 with lymphovascular invasion. Also a statistical significance was found in the absence of lymphocytic thyroiditis in the background with TERT positivity. There was no statistically significant association between patients age, gender, tumor size, histological

variant, focality, extrathyroidal extension and lymph node metastasis and expressions of the antibodies.

In conclusion, immunexpression of FOXE1 in papillary thyroid carcinomas which have tendency of local extension via lymphatic vessels or direct invasion, may predict lymphovascular invasion and thus, the tumors exhibiting FOXE1 immunopositivity should be evaluated in a detailed manner in terms of lymphovascular invasion and lymph node metastasis. Prospective studies including the molecular analysis of fine needle aspirations in large series may reveal detailed data in this tissue may provide benefits in the preoperative/postoperative management of the patients.

Keywords: FOXE1, IMP3, TERT, papillary, thyroid, carcinoma



KAYNAKLAR

1. Burgess JR. Temporal trends for thyroid carcinoma in Australia: an increasing incidence of papillary thyroid carcinoma (1982-1997). *Thyroid* 2002;12(2):141-9.
2. Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA* 2006;295(18):2164-7.
3. Leenhardt L, Grosclaude P, Cherie-Challine L, Thyroid Cancer C. Increased incidence of thyroid carcinoma in france: a true epidemic or thyroid nodule management effects? Report from the French Thyroid Cancer Committee. *Thyroid* 2004;14(12):1056-60.
4. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *Cancer J Clin* 2012;62(1):10-29.
5. DeLellis RA. Pathology and genetics of thyroid carcinoma. *J Surg Oncol* 2006;94(8):662-9.
6. Nikiforov YE, Nikiforov Y, Biddinger PW, Thompson LDR. *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid*: Lippincott William & Wilkins; 2009.
7. Nikiforov YE. Molecular analysis of thyroid tumors. *Mod Pathol* 2011;24(2):34-43.
8. 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.
9. Chadwick BP, Obermayr F, Frischauf AM. FKHL15, a new human member of the forkhead gene family located on chromosome 9q22. *Genomics* 1997;41(3):390-6.
10. Zannini M, Avantaggiato V, Biffali E, Arnone MI, Sato K, Pischetola M, et al. TTF-2, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation. *EMBO* 1997;16(11):3185-97.

11. Trueba SS, Auge J, Mattei G, Etchevers H, Martinovic J, Czernichow P, et al. PAX8, TITF1, and FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(1):455-62.
12. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, Jonasson JG, Sigurdsson A, Bergthorsson JT, et al. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. *Nat Genet* 2009;41(4):460-4.
13. Takahashi M, Saenko VA, Rogounovitch TI, Kawaguchi T, Drozd VM, Takigawa-Imamura H, et al. The FOXE1 locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. *Human Mol Genet* 2010;19(12):2516-23.
14. Landa I, Ruiz-Llorente S, Montero-Conde C, Inglada-Perez L, Schiavi F, Leskela S, et al. The variant rs1867277 in FOXE1 gene confers thyroid cancer susceptibility through the recruitment of USF1/USF2 transcription factors. *PLoS Genet* 2009;5(9):e1000637.
15. Matsuse M, Takahashi M, Mitsutake N, Nishihara E, Hirokawa M, Kawaguchi T, et al. The FOXE1 and NKX2-1 loci are associated with susceptibility to papillary thyroid carcinoma in the Japanese population. *J Med Genet* 2011;48(9):645-8.
16. Jones AM, Howarth KM, Martin L, Gorman M, Mihai R, Moss L, et al. Thyroid cancer susceptibility polymorphisms: confirmation of loci on chromosomes 9q22 and 14q13, validation of a recessive 8q24 locus and failure to replicate a locus on 5q24. *J Med Genet* 2012;49(3):158-63.
17. Bullock M, Duncan EL, O'Neill C, Tacon L, Sywak M, Sidhu S, et al. Association of FOXE1 polyalanine repeat region with papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(9):E1814-9.
18. Yorukoglu A, Yalcin N, Avci A, Cakalagaoglu F, Yaylali G, Akin F, et al. Significance of IMP3, nucleophosmin, and Ki-67 expression in papillary thyroid carcinoma. *Int J Surg Pathol* 2015;23(1):5-12.
19. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85(18):6622-6.
20. Greider CW, Blackburn EH. Tracking telomerase. *Cell* 2004;116(2):83-6.
21. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100(1):57-70.
22. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994;266(5193):2011-5.
23. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer* 1997;33(5):787-91.
24. Vinagre J, Almeida A, Populo H, Batista R, Lyra J, Pinto V, et al. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. *Nat Commun* 2013;4:2185.

25. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, Fischer C, Sucker A, Gast A, et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* 2013;339(6122):959-61.
26. Huang FW, Hodis E, Xu MJ, Kryukov GV, Chin L, Garraway LA. Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science* 2013;339(6122):957-9.
27. Mills SE. *Histology for Pathologists*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007:1129-1148.
28. Hoyes AD, Kershaw DR. Anatomy and development of the thyroid gland. *Ear Nose Throat J* 1985;64(7):318-33.
29. Shepard TH. Onset of function in the human fetal thyroid: biochemical and radioautographic studies from organ culture. *J Clin Endocrinol Metab* 1967;27(7):945-58.
30. Gitlin D, Biasucci A. Ontogenesis of immunoreactive growth hormone, follicle-stimulating hormone, thyroid-stimulating hormone, luteinizing hormone, chorionic prolactin and chorionic gonadotropin in the human conceptus. *J Clin Endocrinol Metab* 1969;29(7):926-35.
31. Pasca di Magliano M, Di Lauro R, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(24):13144-9.
32. Chan AS, Conen PE. Ultrastructural observations on cytodifferentiation of parafollicular cells in the human fetal thyroid. *Lab Invest* 1971;25(3):249-59.
33. Sugiyama S. The embryology of the human thyroid gland including ultimobranchial body and others related. *Ergeb Anat Entwicklungsgesch* 1971;44(2):3-111.
34. Le Douarin NM, Teillet MA. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo. *J Embryol Exper Morphol* 1973;30(1):31-48.
35. Ito M, Kameda Y, Tagawa T. An ultrastructural study of the cysts in chicken ultimobranchial glands, with special reference to C-cells. *Cell Tissue Res* 1986;246(1):39-44.
36. Hegedus L, Perrild H, Poulsen LR, Andersen JR, Holm B, Schnohr P, et al. The determination of thyroid volume by ultrasound and its relationship to body weight, age, and sex in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56(2):260-3.
37. 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.
38. Imada M, Kurosumi M, Fujita H. Three-dimensional aspects 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.
39. Haagensen CD. *The Lymphatics in Cancer*. Philadelphia: Saunders; 1972.
40. Melander A, Ericson LE, Sundler F, Ingbar SH. Sympathetic innervation of the mouse thyroid and its significance in thyroid hormone secretion. *Endocrinology* 1974;94(4):959-66.

41. Tice LW, Creveling CR. Electron microscopic identification of adrenergic nerve endings on thyroid epithelial cells. *Endocrinology* 1975;97(5):1123-9.
42. DeLellis RA. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004:50.
43. Stewart BW, Kleihues P, Cancer IAFRo. World Cancer Report: IARC Press; 2003.
44. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *Cancer J Clin* 2005;55(2):74-108.
45. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer* 1998;83(12):2638-48.
46. Rojeski MT, Gharib H. Nodular thyroid disease. Evaluation and management. *N Engl J Med* 1985;313(7):428-36.
47. Burgess JR, Tucker P. Incidence trends for papillary thyroid carcinoma and their correlation with thyroid surgery and thyroid fine-needle aspirate cytology. *Thyroid* 2006;16(1):47-53.
48. Harach HR, Franssila KO, Wasenius VM. Occult papillary carcinoma of the thyroid. A "normal" finding in Finland. A systematic autopsy study. *Cancer* 1985;56(3):531-8.
49. Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP, Mazzaferri E, McKee RF, Rosai J, et al. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the united states during 1996. U.S. and German Thyroid Cancer Study Group. An American College of Surgeons Commission on Cancer Patient Care Evaluation study. *Cancer*. 2000;89(1):202-17.
50. Cuello C, Correa P, Eisenberg H. Geographic pathology of thyroid carcinoma. *Cancer*. 1969;23(1):230-9.
51. Pettersson B, Coleman MP, Ron E, Adami HO. Iodine supplementation in Sweden and regional trends in thyroid cancer incidence by histopathologic type. *Int J Cancer* 1996;65(1):13-9.
52. Belfiore A, La Rosa GL, Padova G, Sava L, Ippolito O, Vigneri R. The frequency of cold thyroid nodules and thyroid malignancies in patients from an iodine-deficient area. *Cancer* 1987;60(12):3096-102.
53. Harach HR, Soubeyran I, Brown A, Bonneau D, Longy M. Thyroid pathologic findings in patients with Cowden disease. *Ann Diagn Pathol* 1999;3(6):331-40.
54. Starink TM, van der Veen JP, Arwert F, de Waal LP, de Lange GG, Gille JJ, et al. The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin Genet* 1986;29(3):222-33.
55. Ishikawa Y, Sugano H, Matsumoto T, Furuichi Y, Miller RW, Goto M. Unusual features of thyroid carcinomas in Japanese patients with Werner syndrome and possible genotype-phenotype relations to cell type and race. *Cancer* 1999;85(6):1345-52.

56. Nwokoro NA, Korytkowski MT, Rose S, Gorin MB, Penles Stadler M, Witchel SF, et al. Spectrum of malignancy and premalignancy in Carney syndrome. *Am J Med Genet* 1997;73(4):369-77.
57. Roque L, Clode A, Belge G, Pinto A, Bartnitzke S, Santos JR, et al. Follicular thyroid carcinoma: chromosome analysis of 19 cases. *Gen Chromos Cancer* 1998;21(3):250-5.
58. Teyssier JR, Liautaud-Roger F, Ferre D, Patey M, Dufer J. Chromosomal changes in thyroid tumors. Relation with DNA content, karyotypic features, and clinical data. *Cancer Genetics Cytogenet* 1990;50(2):249-63.
59. Jenkins RB, Hay ID, Herath JF, Schultz CG, Spurbeck JL, Grant CS, et al. Frequent occurrence of cytogenetic abnormalities in sporadic nonmedullary thyroid carcinoma. *Cancer* 1990;66(6):1213-20.
60. Joensuu H, Klemi P, Eerola E, Tuominen J. Influence of cellular DNA content on survival in differentiated thyroid cancer. *Cancer* 1986;58(11):2462-7.
61. Ward LS, Brenta G, Medvedovic M, Fagin JA. Studies of allelic loss in thyroid tumors reveal major differences in chromosomal instability between papillary and follicular carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(2):525-30.
62. Sobrinho-Simoes M, Maximo V, Castro IV, Fonseca E, Soares P, Garcia-Rostan G, et al. Hurthle (oncocytic) cell tumors of thyroid: etiopathogenesis, diagnosis and clinical significance. *Int J Surg Pathol* 2005;13(1):29-35.
63. Yamashina M. Follicular neoplasms of the thyroid. Total circumferential evaluation of the fibrous capsule. *Am J Surg Pathol* 1992;16(4):392-400.
64. Akslen LA, Haldorsen T, Thoresen SO, Glatre E. Incidence of thyroid cancer in Norway 1970-1985. Population review on time trend, sex, age, histological type and tumour stage in 2625 cases. *APMIS* 1990;98(6):549-58.
65. Albores-Saavedra J, Henson DE, Glazer E, Schwartz AM. Changing patterns in the incidence and survival of thyroid cancer with follicular phenotype--papillary, follicular, and anaplastic: a morphological and epidemiological study. *Endocrine Pathol* 2007;18(1):1-7.
66. Shapiro NL, Bhattacharyya N. Population-based outcomes for pediatric thyroid carcinoma. *Laryngoscope* 2005;115(2):337-40.
67. Kim TS, Asato R, Akamizu T, Harada D, Nakashima Y, Higashi T, et al. A rare case of hyperfunctioning papillary carcinoma of the thyroid gland. *Acta Oto-Laryngol* 2007;127:55-7.
68. Solbiati L, Cioffi V, Ballarati E. Ultrasonography of the neck. *Radiol Clin Am* 1992;30(5):941-54.
69. Ahuja AT, Ying M, Yuen HY, Metreweli C. Power Doppler sonography of metastatic nodes from papillary carcinoma of the thyroid. *Clin Radiol* 2001;56(4):284-8.

70. Hay ID. Papillary thyroid carcinoma. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990;19(3):545-76.
71. Mazzaferri EL, Kloos RT. Clinical review 128: Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(4):1447-63.
72. Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Castagnoli A, Rosai J. Papillary carcinoma of the thyroid. A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. *Cancer* 1985;55(4):805-28.
73. Kirillov VA, Yuschenko YP, Paplevka AA, Demidchik EP. Thyroid carcinoma diagnosis based on a set of karyometric parameters of follicular cells. *Cancer* 2001;92(7):1818-27.
74. Rout P, Shariff S. Diagnostic value of qualitative and quantitative variables in thyroid lesions. *Cytopathol* 1999;10(3):171-9.
75. Rosai J, Carcangiu ML, DeLellis RA, Pathology AFIo, Research UAf, Pathology Ei. *Tumors of the thyroid gland*. Washington: Armed Forces Institute of Pathology; 1992:53
76. Hapke MR, Dehner LP. The optically clear nucleus. A reliable sign of papillary carcinoma of the thyroid? *Am J Surg Pathol* 1979;3(1):31-8.
77. Hawk WA, Hazard JB. The many appearances of papillary carcinoma of the thyroid. *Cleveland Clin Quart* 1976;43(4):207-15.
78. Chan JK, Saw D. The grooved nucleus. A useful diagnostic criterion of papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Surg Pathol* 1986;10(10):672-9.
79. Albores-Saavedra J, Altamirano-Dimas M, Alcorta-Anguizola B, Smith M. Fine structure of human papillary thyroid carcinoma. *Cancer* 1971;28(3):763-74.
80. Gould VE, Gould NS, Benditt EP. Ultrastructural aspects of papillary and sclerosing carcinomas of the thyroid. *Cancer* 1972;29(6):1613-25.
81. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2006;30(2):216-22.
82. Johannessen JV, Sobrinho-Simoes M. The origin and significance of thyroid psammoma bodies. *Lab Invest* 1980;43(3):287-96.
83. Klinck GH, Winship T. Psammoma bodies and thyroid cancer. *Cancer* 1959;12(4):656-62.
84. Vickery AL, Jr., Carcangiu ML, Johannessen JV, Sobrinho-Simoes M. Papillary carcinoma. *Sem Diag Pathol* 1985;2(2):90-100.
85. Isarangkul W. Dense fibrosis. Another diagnostic criterion for papillary thyroid carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117(6):645-6.

86. Rosai J, Zampi G, Carcangiu ML. Papillary carcinoma of the thyroid. A discussion of its several morphologic expressions, with particular emphasis on the follicular variant. *Am J Surg Pathol* 1983;7(8):809-17.
87. Park SH, Suh EH, Chi JG. A histopathologic study on 1,095 surgically resected thyroid specimens. *Jpn J Clin Oncol* 1988;18(4):297-302.
88. Chan JK. Papillary carcinoma of thyroid: classical and variants. *Histol Histopathol* 1990;5(2):241-57.
89. Lee TK, Myers RT, Marshall RB, Bond MG, Kardon B. The significance of mitotic rate: a retrospective study of 127 thyroid carcinomas. *Hum Pathol* 1985;16(10):1042-6.
90. Akslen LA, LiVolsi VA. Prognostic significance of histologic grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. *Cancer* 2000;88(8):1902-8.
91. Kebebew E, Weng J, Bauer J, Ranvier G, Clark OH, Duh QY, et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer. *Ann Surg* 2007;246(3):466-70; discussion 70-1.
92. Shattuck TM, Westra WH, Ladenson PW, Arnold A. Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal papillary thyroid carcinoma. *N Engl J Med* 2005;352(23):2406-12.
93. Park SY, Park YJ, Lee YJ, Lee HS, Choi SH, Choe G, 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.
94. Falvo L, Catania A, D'Andrea V, Marzullo A, Giustiniani MC, De Antoni E. Prognostic importance of histologic vascular invasion in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg* 2005;241(4):640-6.
95. Mete O, Asa SL. Pathological definition and clinical significance of vascular invasion in thyroid carcinomas of follicular epithelial derivation. *Mod Pathol* 2011;24(12):1545-52.
96. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med* 1994;97(5):418-28.
97. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R, 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.
98. Fink A, Tomlinson G, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Occult micropapillary carcinoma associated with benign follicular thyroid disease and unrelated thyroid neoplasms. *Mod Pathol* 1996;9(8):816-20.
99. Pelizzo MR, Piotto A, Rubello D, Casara D, Fassina A, Busnardo B. High prevalence of occult papillary thyroid carcinoma in a surgical series for benign thyroid disease. *Tumori* 1990;76(3):255-7.

100. Yamashita H, Nakayama I, Noguchi S, Murakami N, Moriuchi A, Yokoyama S, et al. Thyroid carcinoma in benign thyroid diseases. An analysis from minute carcinoma. *Acta Pathol Jpn* 1985;35(4):781-8.
101. 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.
102. 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.
103. Albores-Saavedra J, Housini I, Vuitch F, Snyder WH, 3rd. Macrofollicular variant of papillary thyroid carcinoma with minor insular component. *Cancer* 1997;80(6):1110-6.
104. Ostrowski ML, Merino MJ. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: a reassessment and immunohistochemical study with comparison to the usual type of papillary carcinoma of the thyroid. *Am J Surg Pathol* 1996;20(8):964-74.
105. Leung AK, Chow SM, Law SC. Clinical features and outcome of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. *Laryngoscope* 2008;118(1):32-8.
106. Evans HL. Columnar-cell carcinoma of the thyroid. A report of two cases of an aggressive variant of thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1986;85(1):77-80.
107. 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.
108. Asioli S, Erickson LA, Sebo TJ, Zhang J, Jin L, Thompson GB, 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 eight cases. *Am J Surg Pathol* 2010;34(1):44-52.
109. Chan JK, Carcangiu ML, Rosai J. Papillary carcinoma of thyroid with exuberant nodular fasciitis-like stroma. Report of three cases. *Am J Clin Pathol* 1991;95(3):309-14.
110. Katoh R, Miyagi E, Nakamura N, Li X, Suzuki K, Kakudo K, et al. Expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in human C cells and medullary thyroid carcinomas. *Hum Pathol* 2000;31(3):386-93.
111. Lau SK, Luthringer DJ, Eisen RN. Thyroid transcription factor-1: a review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2002;10(2):97-102.
112. Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, Rivera M, Ghossein R. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms. *Mod Pathol* 2008;21(2):192-200.
113. Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer res* 2003;63(7):1454-7.

114. Cohen Y, Xing M, Mambo E, Guo Z, Wu G, Trink B, et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(8):625-7.
115. Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(11):5399-404.
116. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, et al. Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(9):4393-7.
117. Begum S, Rosenbaum E, Henrique R, Cohen Y, Sidransky D, Westra WH. BRAF mutations in anaplastic thyroid carcinoma: implications for tumor origin, diagnosis and treatment. *Mod Pathol* 2004;17(11):1359-63.
118. Trovisco V, Vieira de Castro I, Soares P, Maximo V, Silva P, Magalhaes J, et al. BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *The Journal of pathology*. 2004;202(2):247-51.
119. Chiosea S, Nikiforova M, Zuo H, Ogilvie J, Gandhi M, Seethala RR, et al. A novel complex BRAF mutation detected in a solid variant of papillary thyroid carcinoma. *Endocrine Pathol* 2009;20(2):122-6.
120. Basolo F, Torregrossa L, Giannini R, Miccoli M, Lupi C, Sensi E, et al. Correlation between the BRAF V600E mutation and tumor invasiveness in papillary thyroid carcinomas smaller than 20 millimeters: analysis of 1060 cases. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(9):4197-205.
121. Zhu Z, Ciampi R, Nikiforova MN, Gandhi M, Nikiforov YE. Prevalence of RET/PTC rearrangements in thyroid papillary carcinomas: effects of the detection methods and genetic heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(9):3603-10.
122. Unger K, Zitzelsberger H, Salvatore G, Santoro M, Bogdanova T, Braselmann H, et al. Heterogeneity in the distribution of RET/PTC rearrangements within individual post-Chernobyl papillary thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(9):4272-9.
123. Zhu Z, Gandhi M, Nikiforova MN, Fischer AH, Nikiforov YE. Molecular profile and clinical-pathologic features of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. An unusually high prevalence of ras mutations. *Am J Clin Pathol* 2003;120(1):71-7.
124. Kondo T, Ezzat S, Asa SL. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2006;6(4):292-306.
125. Delvincourt C, Patey M, Flament JB, Suarez HG, Larbre H, Jardillier JC, et al. Ret and trk proto-oncogene activation in thyroid papillary carcinomas in French patients from the Champagne-Ardenne region. *Clin Biochem* 1996;29(3):267-71.
126. Wajjwalku W, Nakamura S, Hasegawa Y, Miyazaki K, Satoh Y, Funahashi H, et al. Low frequency of rearrangements of the ret and trk proto-oncogenes in Japanese thyroid papillary carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1992;83(7):671-5.

127. Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, Diorio D, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(5):1600-8.
128. Pallante P, Visone R, Ferracin M, Ferraro A, Berlingieri MT, Troncone G, et al. MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas. *Endocr Relat Cancer* 2006;13(2):497-508.
129. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(52):19075-80.
130. Tetzlaff MT, Liu A, Xu X, Master SR, Baldwin DA, Tobias JW, et al. Differential expression of miRNAs in papillary thyroid carcinoma compared to multinodular goiter using formalin fixed paraffin embedded tissues. *Endocrine Pathol* 2007;18(3):163-73.
131. Jin L, Seys AR, Zhang S, Erickson-Johnson MR, Roth CW, Evers BR, et al. Diagnostic utility of IMP3 expression in thyroid neoplasms: a quantitative RT-PCR study. *Diagn Mol Pathol* 2010;19(2):63-9.
132. Lappinga PJ, Kip NS, Jin L, Lloyd RV, Henry MR, Zhang J, et al. HMGA2 gene expression analysis performed on cytologic smears to distinguish benign from malignant thyroid nodules. *Cancer Cytopathol* 2010;118(5):287-97.
133. Clifton-Bligh RJ, Wentworth JM, Heinz P, Crisp MS, John R, Lazarus JH, et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. *Nat Genet* 1998;19(4):399-401.
134. Sequeira M, Al-Khafaji F, Park S, Lewis MD, Wheeler MH, Chatterjee VK, et al. Production and application of polyclonal antibody to human thyroid transcription factor 2 reveals thyroid transcription factor 2 protein expression in adult thyroid and hair follicles and prepubertal testis. *Thyroid* 2003;13(10):927-32.
135. Eichberger T, Regl G, Ikram MS, Neill GW, Philpott MP, Aberger F, et al. FOXE1, a new transcriptional target of GLI2 is expressed in human epidermis and basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 2004;122(5):1180-7.
136. Venza I, Visalli M, Tripodo B, De Grazia G, Loddo S, Teti D, et al. FOXE1 is a target for aberrant methylation in cutaneous squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2010;162(5):1093-7.
137. Park E, Gong EY, Romanelli MG, Lee K. Suppression of estrogen receptor-alpha transactivation by thyroid transcription factor-2 in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;421(3):532-7.
138. Sato N, Fukushima N, Maitra A, Matsubayashi H, Yeo CJ, Cameron JL, et al. Discovery of novel targets for aberrant methylation in pancreatic carcinoma using high-throughput microarrays. *Cancer Res* 2003;63(13):3735-42.
139. Aza-Blanc P, Di Lauro R, Santisteban P. Identification of a cis-regulatory element and a thyroid-specific nuclear factor mediating the hormonal regulation of rat thyroid peroxidase promoter activity. *Mol Endocrinol* 1993;7(10):1297-306.

140. Civitareale D, Saiardi A, Falasca P. Purification and characterization of thyroid transcription factor 2. *Biochem J* 1994;304 (Pt 3):981-5.
141. Sequeira MJ, Morgan JM, Fuhrer D, Wheeler MH, Jasani B, Ludgate M. Thyroid transcription factor-2 gene expression in benign and malignant thyroid lesions. *Thyroid* 2001;11(11):995-1001.
142. Nonaka D, Chiriboga L, Soslow RA. Expression of pax8 as a useful marker in distinguishing ovarian carcinomas from mammary carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2008;32(10):1566-71.
143. Zhang P, Zuo H, Nakamura Y, Nakamura M, Wakasa T, Kakudo K. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors. *Pathol Int* 2006;56(5):240-5.
144. Bychkov A, Saenko V, Nakashima M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Nikitski A, et al. Patterns of FOXE1 expression in papillary thyroid carcinoma by immunohistochemistry. *Thyroid* 2013;23(7):817-28.
145. Jin L, Lloyd RV, Henry MR, Erickson LA, Sebo TJ, Rumilla KM, et al. The diagnostic utility of combination of HMGA2 and IMP3 qRT-PCR testing in thyroid neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2015;23(1):36-43.
146. Slosar M, Vohra P, Prasad M, Fischer A, Quinlan R, Khan A. Insulin-like growth factor mRNA binding protein 3 (IMP3) is differentially expressed in benign and malignant follicular patterned thyroid tumors. *Endocrine Pathol* 2009;20(3):149-57.
147. Asioli S, Erickson LA, Righi A, Jin L, Volante M, Jenkins S, et al. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid: validation of the Turin proposal and analysis of IMP3 expression. *Mod Pathol* 2010;23(9):1269-78.
148. Melo M, da Rocha AG, Vinagre J, Batista R, Peixoto J, Tavares C, et al. TERT promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(5):E754-65.
149. Hannenhalli S, Kaestner KH. The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nat Rev Genet* 2009;10(4):233-40.
150. Sizemore ST, Keri RA. The forkhead box transcription factor FOXC1 promotes breast cancer invasion by inducing matrix metalloprotease 7 (MMP7) expression. *J Biol Chem* 2012;287(29):24631-40.
151. Nucera C, Eeckhoutte J, Finn S, Carroll JS, Ligon AH, Priolo C, et al. FOXA1 is a potential oncogene in anaplastic thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009;15(11):3680-9.
152. Bellelli R, Castellone MD, Garcia-Rostan G, Ugolini C, Nucera C, Sadow PM, et al. FOXM1 is a molecular determinant of the mitogenic and invasive phenotype of anaplastic thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 2012;19(5):695-710.
153. Fan Y, Ding Z, Yang Z, Deng X, Kang J, Wu B, et al. Expression and clinical significance of FOXE1 in papillary thyroid carcinoma. *Mol Med Rep* 2013;8(1):123-7.

154. Mueller-Pillasch F, Pohl B, Wilda M, Lacher U, Beil M, Wallrapp C, et al. Expression of the highly conserved RNA binding protein KOC in embryogenesis. *Mech Dev* 1999;88(1):95-9.
155. Wang T, Fan L, Watanabe Y, McNeill PD, Moulton GG, Bangur C, et al. L523S, an RNA-binding protein as a potential therapeutic target for lung cancer. *Br J Cancer* 2003;88(6):887-94.
156. Yantiss RK, Woda BA, Fanger GR, Kalos M, Whalen GF, Tada H, et al. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer): a novel molecular marker that distinguishes between benign and malignant lesions of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2005;29(2):188-95.
157. Zhang JY, Chan EK, Peng XX, Tan EM. A novel cytoplasmic protein with RNA-binding motifs is an autoantigen in human hepatocellular carcinoma. *J Exp Med* 1999;189(7):1101-10.
158. Zheng W, Yi X, Fadare O, Liang SX, Martel M, Schwartz PE, et al. The oncofetal protein IMP3: a novel biomarker for endometrial serous carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2008;32(2):304-15.
159. Goretzki PE, Simon D, Dotzenrath C, Schulte KM, Roher HD. Growth regulation of thyroid and thyroid tumors in humans. *World J Sur* 2000;24(8):913-22.
160. Gupta N, Dasyam AK, Carty SE, Nikiforova MN, Ohori NP, Armstrong M, et al. RAS mutations in thyroid FNA specimens are highly predictive of predominantly low-risk follicular-pattern cancers. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(5):E914-22.
161. Yantiss RK, Cosar E, Fischer AH. Use of IMP3 in identification of carcinoma in fine needle aspiration biopsies of pancreas. *Acta Cytol* 2008;52(2):133-8.
162. Harley CB, Villeponteau B. Telomeres and telomerase in aging and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 1995;5(2):249-55.
163. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646-74.
164. Feng J, Funk WD, Wang SS, Weinrich SL, Avilion AA, Chiu CP, et al. The RNA component of human telomerase. *Science* 1995;269(5228):1236-41.
165. Meyerson M, Counter CM, Eaton EN, Ellisen LW, Steiner P, Caddle SD, et al. hEST2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell* 1997;90(4):785-95.
166. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998;279(5349):349-52.
167. Hahn WC, Counter CM, Lundberg AS, Beijersbergen RL, Brooks MW, Weinberg RA. Creation of human tumour cells with defined genetic elements. *Nature* 1999;400(6743):464-8.

168. Janknecht R. On the road to immortality: hTERT upregulation in cancer cells. *FEBS Lett* 2004;564(1-2):9-13.
169. Ghosh A, Saginc G, Leow SC, Khattar E, Shin EM, Yan TD, et al. Telomerase directly regulates NF-kappaB-dependent transcription. *Nat Cell Biol* 2012;14(12):1270-81.
170. Koh CM, Khattar E, Leow SC, Liu CY, Muller J, Ang WX, et al. Telomerase regulates MYC-driven oncogenesis independent of its reverse transcriptase activity. *J Clin Invest* 2015;125(5):2109-22.
171. Smith LL, Collier HA, Roberts JM. Telomerase modulates expression of growth-controlling genes and enhances cell proliferation. *Nat Cell Biol* 2003;5(5):474-9.
172. Wyatt HD, West SC, Beattie TL. InTERTpreting telomerase structure and function. *Nucleic Acids Res* 2010;38(17):5609-22.
173. Bell RJ, Rube HT, Kreig A, Mancini A, Fouse SD, Nagarajan RP, et al. Cancer. The transcription factor GABP selectively binds and activates the mutant TERT promoter in cancer. *Science* 2015;348(6238):1036-9.
174. Liu X, Bishop J, Shan Y, Pai S, Liu D, Murugan AK, et al. Highly prevalent TERT promoter mutations in aggressive thyroid cancers. *Endocr Relat Cancer* 2013;20(4):603-10.
175. Landa I, Ganly I, Chan TA, Mitsutake N, Matsuse M, Ibrahimasic T, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(9):E1562-6.
176. Liu R, Xing M. Diagnostic and prognostic TERT promoter mutations in thyroid fine-needle aspiration biopsy. *Endocr Relat Cancer* 2014;21(5):825-30.
177. Shi X, Liu R, Qu S, Zhu G, Bishop J, Liu X, et al. Association of TERT promoter mutation 1,295,228 C>T with BRAF V600E mutation, older patient age, and distant metastasis in anaplastic thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(4):E632-7.
178. Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2016;23(3):R143-55.
179. Can N, Tastekin E, Ozyilmaz F, Sezer YA, Guldiken S, Sut N, et al. Histopathological Evidence of Lymph Node Metastasis in Papillary Thyroid Carcinoma. *Endocrine Pathol* 2015;26(3):218-28.

EKLER



Ek 1

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2015/223	
	PROTOKOL ADI	Tiroid Karsinomlarında FOXE1, IMP3 ve TERT Ekspresyonu	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 22/07	Tarih: 02.12.2015	
	Fakültemiz Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Nurtaç SARIKAŞ'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllü ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	Mazeretli
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	İzinli
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	Mazeretli
Doç. Dr. Salim DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	Mazeretli
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	Mazeretli

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
Dekan a.
Dekan Yrd.

Ek 2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARASTIRMA BASVURUSU ONAYIBASVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2016/223	
	PROTOKOL ADI	Papiller Tiroid Karsinomlarında FOXE1, IMP3 ve TERT Ekspresyonu	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜN VANI / ADI	Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN	
	ARASTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
ARASTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 17/20		Tarih: 27.10.2016
	Fakültemiz Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Nurtaç SARIKAŞ'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırmaya ilişkin güdülerin gönüllü ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödlenmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Üvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E (H)	(H)	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E (H)	(H)	
Prof. Dr. C. Hakan KARADAĞ Üye	Tabii Farmakoloji	T.Ü.T.F. Tabii Farmakoloji A.D.	E	E (H)	(H)	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistika A.D.	K	E (H)	(H)	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E (H)	(H)	
Prof. Dr. Hasan ÜMIT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E (H)	(H)	
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E (H)	(H)	
Doç. Dr. Salim DÖNMEZ Üye	İç Hastalıklar	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E (H)	(H)	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E (H)	(H)	
Yrd. Doç. Dr. Vedat UĞUREL Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E (H)	(H)	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KOŞE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E (H)	(H)	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E (H)	(H)	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E (H)	(H)	
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E (H)	(H)	
Ayukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E (H)	(H)	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan a
Dekan Yrd.

Prof. Dr. Ahmet Muzaffer DEMİR
Dekan V.

Ek 3

