

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TİROİD NODÜLLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE
DNA ONARIM PROTEİNLERİNİN YERİ**

ENDOKRİNOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ

**Uz. Dr. Bahri EVREN
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ENDOKRİNOLOJİ BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. Ayşe Çıkım SERTKAYA**

MALATYA 2013

ÖZET

Tiroid Nodüllerinin Değerlendirilmesinde DNA Onarım Proteinlerinin Yeri

Giriş ve Amaç: Benign ve malign tiroid lezyonları, endokrin bezlerin en sık görülen patolojileridir ancak zaman zaman bu lezyonların ayırımı histopatolojik olarak bile güç olabilir. Son yıllarda bazı moleküler göstergelerin bu amaçla kullanılabilceği bildirilmiştir. Mut-S-Homolog-2 (MSH2) ve Mut-L-Homolog-1 (MLH1) gibi bazı DNA onarım proteinleri ["Mismatch Repair" (MMR) proteinleri] ve metil guanin–DNA-metil transferaz (MGMT) gibi DNA onarım enzimleri üzerinde tartışılan moleküllerdir. Bu çalışmada; patolojik olarak papiller tiroid kanseri (PTK), kronik lenfositik tiroidit (KLT) ve multinodüler koloidal guatr (MNG) tanısı konulmuş hastalarda MSH2, MLH1, MGMT düzeylerinin belirlenmesi ve bu lezyonların ayırıcı tanısında kullanılabilir olup olmayacakları araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Total ya da subtotal tiroidektomi yapılmış ve PTK (n=29, yaş; 50,07±16,42), MNG (n=26; 52,96 ±17,09) ve KLT (n=29; 46,21±11,80) tanısı almış 90 olguya ait doku örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. Parafin bloklardan elde edilen örnekler MGMT, MSH2, MLH1 proteinleri ile boyanarak immunhistokimyasal olarak değerlendirildi. Verilerin analizi için tanımlayıcı istatistiksel metotlar, ANOVA ve Pearson Ki-Kare testleri kullanıldı.

Bulgular: MGMT, MSH2 ve MLH1 gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark olmasa da PTK grubunda daha yüksek oranda foliküler hücre pozitifliği gösterdi. Gruplar MGMT ve MSH2 boyanma yoğunluğu ve immunreaktivite açısından benzerdi ancak PTK grubu lehine daha belirgindi. MGMT boyanma şekilleri açısından istatistiki fark olmamasına karşın, PTK olguları çoğunlukla nükleer ve stoplazmik; MNG olguları çoğunlukla nükleer boyanma paterni gösterdi. MSH2 % 50'den az ve %50 ve üzeri foliküler hücre pozitifliği şeklinde yapılan değerlendirmede KLT ve MNG grupları arasındaki fark anlamlı idi (p=0,023). MSH2 boyanma yoğunluğu ve immunreaktivite açısından KLT ve MNG grupları arasında farklı bulundu (sırasıyla p=0,001 ve p=0,044). MLH1 foliküler hücre pozitifliği PTK ile MNG grupları arasında farklı (p=0,032), immunreaktivitesi ise KLT ve MNG arasında farklı idi (p=0,012).

Sonuç: DNA tamir genleri malign tümörlerde benign tümörlere oranla daha yüksek seviyelerde eksprese olur. Bu artış malign dönüşüm nedeniyle gelişen hasara cevaben DNA onarım genlerindeki fonksiyonel aktivasyona bağlanmaktadır. Bizim

Çalışmamızda da DNA tamir genlerinden MGMT, MSH2 ve MLH1 düzeyleri değerlendirildiğinde papiller karsinom ve kolloidal guatr arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen papiller karsinom olgularının daha yüksek boyanma gosterdiği gorlmstr. Papiller karsinom ve kronik lenfositik tiroidit ayırımının bazen histopatolojik incelemede bile zor olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada incelediğimiz moleküler gostergelerin de bu ayırımında yeterince aydınlatıcı olmadığı gorlmstr. Bu moleküllerin rutin pratikte kullanılabilir hale gelmesi için daha fazla veriye ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Szckler: Tiroid, Papiller karsinom, Kronik tiroidit, Kolloidal guatr , DNA, MGMT, MMR, MSH2, MLH1.

SUMMARY

The role of DNA repair proteins in the assessment of thyroid nodules

Aims: Bening and malignant thyroid nodules are the most common lesions of endocrine glands. However the differantiation between these lesions even histopathologically are sometimes difficult. Recently some molecular markers; Mut-S-Homolog-2 (MSH2) and Mut-L-Homolog-1 (MLH1) are the two of DNA repair proteins [“Mismatch Repair” (MMR) proteins], and metil guanin–DNA-metil transferase (MGMT) is one of the DNA repair enzymes have been studied for the purpose. Herein this study we aimed to evaluate MSH2, MLH1 and MGMT levels in papillary thyroid cancer (PTC), multinodular colloidal goitre (MNG) and chronic lymphocytic thyroiditis (CLT) cells, and define if could be used as new markers for diagnosis.

Methods: Ninety patients’ tissue specimens obtained from total or subtotal thyroidectomy materials with PTC (n=29; 50.07 ±16.42 yrs), MNG (n= 26; 52.96 ±17.09 yrs) and CLT (n=29; 46.21±11.80 yrs) were evaluated. The specimens were studied for MGMT, MSH2, MLH1 immunohistochemically. Descriptive analysis, ANOVA test and Pearson’s chi squared test were used for statistical analysis.

Results: Despite all MGMT, MLH1 and MSH2 were similar for follicular cell expression statistically, the staining was noticable in PTC group. The expressions for MGMT and MSH2 were similar for staining density and immunoreactivity within groups, but the expressions were more pronounced in PTC cells with nuclear and sitoplasmic staining. Whereas MNG cells were expressing nuclear staining. The groups were reevaluated for MSH2 follicular cell expression as less than 50% and equal and greater than 50%. In this model CLT and MNG groups were different (p=0.023) and the difference was significant for staining density and immunreactivity as well (p=0,001 and p=0,044 respectively). Follicular cell expression between PTC and MNG (p=0.032), and immunoreactivity between CLT and MNG (p=0,012) were different for MLH1.

Results: DNA repairment so the expression of its biomarkers is more pronounced in malignant lesions. This increament is based on the functional activation

of repairing genes in response to DNA damage. Here in this study despite showing no statistical significance we found an increased expression of the three biomarkers – MGMT, MLH1 and MSH2- in PTC cells especially compared to MNG cells, with a marked similarity to CLT. The big dilemma to differentiate chronic thyroiditis and papillary cancer insists on with these molecules, but further studies may compromise for the use of these new biologic markers especially for differentiating benign and malignant lesions.

Key Words: Thyroid, Papillary Thyroid Cancer, Chronic Lymphocytic Thyroiditis, Colloidal Goitre, DNA, MGMT, MMR, MSH2, MLH1.

TEŞEKKÜR

İhtisas eğitimim süresince tecrübe ve bilgilerini bana aktaran, disiplinli ve titiz çalışması ile örnek aldığım, tezimin seçimi ve yürütülmesinde bana yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Ayşe Çıkım Sertkaya' ya; bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, destek ve yardımlarını gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. İbrahim Şahin'e ve eğitimimde emeği geçen tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamda immunohistokimyasal değerlendirmeleri yapan, bilgi ve deneyimini paylaşan, zamanını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Neşe Karadağ'a, patoloji preparatlarının boyanmasında, hazırlanmasında emeği geçen Sayın Şehnaz Zengin'e, Gülden Hüz, Mustafa Hüz ve diğer Patoloji AD. çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen Dr. Sami Yılmaz başta olmak üzere, tüm uzman ve asistan doktor arkadaşlarıma, endokrinoloji servis hemşire ve personellerine teşekkür ederim.

En sıkıntılı anlarımda yanımda olup sabır ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Özge Evren ve canım oğlum Aytekin'e, beni yetiştirerek bu günlere gelmemi sağlayan, yardımlarını esirgemeyen değerli aileme çok teşekkür ederim.

Uzm. Dr. Bahri Evren

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	X
RESİM LİSTESİ.....	XI
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Tiroid Embriyolojisi	4
2.2.Tiroid Anatomisi	4
2.3. Tiroid Histoloji ve Fizyolojisi.....	5
2.4.Tiroid Bezinin Benign Hastalıkları.....	8
2.4.1.Guatr ve Multinodüler Guatr.....	8
2.4.1.1.Guatr ve Multinodüler Guatr Patolojisi.....	8
2.4.1.2. Enflamatuvar Hastalıkları.....	9
2.4.1.2.1. Hashimoto Tiroiditi.....	10
2.4.1.2.1.1.Hashimoto Tiroiditi Patolojisi.....	10
2.5.Tiroid Tümörleri.....	11
2.5.1.Epidemiyoloji.....	11
2.5.2.İnsidans.....	12
2.5.3.Yaş ve Cinsiyet Dağılımı.....	12
2.5.4.Genetik Yatkınlık ve Diğer Risk Faktörleri.....	12
2.5.5.Tiroid Kanseri Gelişiminde Etkili Olan Moleküler Belirteçler.....	13
2.5.6.Klinik Prezantasyon, Tanı ve Tedavi.....	14
2.6.Papiller Tiroid Karsinomu(PTK).....	14
2.6.1.Sitolojik Özellikler.....	14
2.6.2.Histopatoloji.....	15
2.6.3.Histopatolojik Varyantlar.....	16
2.7. Tiroid İnce İne Aspirasyon Biyopsisi Raporlama Sistemi.....	18
2.7.1.Nondiagnostik veya Yetersiz.....	19

2.7.2.Benign.....	20
2.7.3.Önemi Belirsiz Atipi veya Önemi Belirsiz Folliküler Lezyon.....	20
2.7.4.Folliküler Neoplazi veya Folliküler Neoplazi İçin Kuşkulu.....	20
2.7.5.Malignite İçin Kuşkulu.....	21
2.7.6.Malign.....	21
2.8.İndetermine Tiroid Lezyonlarının Ayrımında Değerli Olan Antikorlar.....	21
2.9.DNA Hasarı Mekanizması.....	22
2.10.DNA Onarım Sistemleri.....	22
2.10.1.Direkt Onarım Mekanizmaları.....	22
2.10.2. İndirekt Onarım Mekanizmaları.....	23
2.10.2.1.Eksizyon Onarım Sistemleri.....	23
2.10.2.2.Rekombinasyon Onarım Sistemi.....	23
2.10.2.3.Mismatch Onarım(MMR) Sistemi.....	24
2.11.DNA Onarım Sistemi ve Tiroid Kanseri.....	24
2.11.1.BER ve Tiroid Kanseri.....	24
2.11.2. NER ve Tiroid Kanseri	26
2.11.3.MMR ve Tiroid Kanseri.....	26
2.11.4.Homolog Rekombinasyon ve Tiroid Kanseri.....	27
2.11.5. Non-homolog Sonuna Ekleme(NHEJ) ve Tiroid Kanseri.....	27
3. MATERYAL VE METOD.....	30
3.1. İmmunhistokimyasal Boyama.....	30
3.2. İmmunohistokimya Değerlendirilmesi.....	31
3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Yaş.....	33
4.2.Cinsiyet.....	33
4.3. Anti-tiroid peroksidaz (Anti TPO) ve Anti-tiroglobulin (Anti Tg) Düzeyleri..	33
4.4. MGMT Sonuçları.....	34
4.4.1. MGMT Foliküler Hücre Pozitifliği.....	34
4.4.2. MGMT Boyanma Yoğunluğu.....	37
4.4.3. MGMT Boyanma Şekilleri.....	39
4.4.4. MGMT İmmunreaktivite Düzeyleri.....	39
4.5. MSH2 Sonuçları.....	40

4.5.1. MSH2 Foliküler Hücre Pozitifliği.....	40
4.5.2. MSH2 Boyanma Yoğunluğu.....	42
4.5.3. MSH2 İmmunreaktivite Düzeyleri.....	44
4.5.4. MSH2 Boyanma Şekilleri.....	44
4.6. MLH1 Sonuçları.....	45
4.6.1. MLH1 Foliküler Hücre Pozitifliği.....	45
4.6.2. MLH1 Boyanma Yoğunluğu.....	48
4.6.3. MLH1 İmmunreaktivite Düzeyleri.....	49
4.6.4. MLH1 Boyanma Şekilleri.....	50
5. TARTIŞMA.....	52
KAYNAKLAR.....	59

KISALTMALAR

BER	: Baz Eksizyon Onarımı
BFN	: Benign Folliküler Nodül
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DR	: Direkt Onarım
DSBs	: DNA çift zincir kırılmaları
FA	: Folliküler Adenoma
FK	: Folliküler Karsinomadır
FV-PTK	: Folliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinoma
HE	: Hematoksilen Eozin
HR	: Homolog Rekombinasyon
İİAB	: İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
KLT	: Kronik Lenfositik Tiroiditis
MEN	: Multipl Endokrin Neoplazi
MGMT	: Metil guanin DNA Metil Transferaz
MLH1	: Mut-L-Homolog-1
MMR	: Mismatch Onarım
MNG	: Multinodüler Guatr
MSH2	: Mut-S-Homolog-2
NCI	: National Cancer Institute
NER	: Nükleotid Eksizyon Onarımı
NHEJ	: Non-Homolog
PAS	: Periodik Asit-Schif
PTK	: Papiller Tiroid Karsinoma
T3	: Triiyodotiron
T ₄	: Tiroksin
TCR-NER	: Transkripsiyon Eşleşme Onarımı
TPO	: Tirodperoksidaz
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
USG	: Ultrasonografi

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Tiroiditlerin sınıflandırması	9
Tablo 2: Hashimoto tiroiditi sınıflaması	11
Tablo 3: Tiroid Sitopatolojisi Raporlama Bethesda Sistemi; Önerilen Tanısal Kategoriler	19
Tablo 4: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrılı Olguların Yaş Ortalaması	33
Tablo 5: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit ve Koloidal Guatrılı Olguların Cinsiyet Dağılımı	33
Tablo 6: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrılı Olgularda anti TPO ve anti Tg pozitifliği sıklığı.....	34
Tablo 7: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrılı Olguların MGMT Foliküler Hücre Pozitiflik Oranları.....	34
Tablo 8: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MGMT Boyanma Yoğunluğu Oranları.....	35
Tablo 9: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MGMT İmmunreaktivite Oranları	36
Tablo 10: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MGMT Boyanma Tipi Oranları	37
Tablo 11: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrılı Olguların MSH2 Foliküler Hücre Pozitiflik Oranları	38
Tablo 12: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MSH2 Boyanma Yoğunluğu Oranları	39
Tablo 13: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MSH2 İmmunreaktivite Oranları.....	40
Tablo 14: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MSH2 Boyanma Tipi Oranları	41
Tablo 15: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrılı Olguların MLH1 Foliküler Hücre Pozitiflik Oranları.....	42
Tablo 16: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MLH1 Boyanma Yoğunluğu Oranları.....	43
Tablo 17: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının	

MLH1 İmmunreaktivite Oranları.....	43
Tablo 18: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının	
MLH1 Boyanma Tipi Oranları.....	44

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Tiroid papiller karsinomun hematoksilen eozin (HE) ile mikroskopik görünümü, x 10 (a), x 4 (b).....	35
Resim 2: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	35
Resim 3: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immun boyanma, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 10 (a), x 4(b).....	35
Resim4: Kronik lenfositik tiroiditin hematoksilen eozin (HE) ile mikroskopik görünümü, x 4 (a), x 10 (b).....	35
Resim 5: KLT'in MGMT ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)	36
Resim 6: KLT'in MGMT ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	36
Resim 7: Koloidal guatrın hematoksilen eozin (HE) ile mikroskopik görünümü, x 4 (a), x 10 (b).....	36
Resim 8: Koloidal guatrın MGMT ile immun boyanması, %5-24 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	36
Resim 9: Koloidal guatrın MGMT ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	37
Resim 10: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immun boyanması, hafif boyanma x 10 (a), yoğun boyanma x 10 (b).....	38
Resim 11: KLT'in MGMT ile immun boyanması, hafif boyanma x 10 (a), orta boyanma x 10 (b), yoğun boyanma x 10 (c).....	38
Resim 12: Koloidal guatrın MGMT ile immun boyanması, hafif boyanma x 10 (a), yoğun boyanma x 10 (b).....	38
Resim 13: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immun boyanması, nükleer ve sitoplazmik boyanma (x 10).....	40
Resim 14 : Tiroid papiller karsinomun MSH2 ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	41
Resim 15: Tiroid papiller karsinomun MSH2 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	41

Resim 16 : KLT'in MSH2 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	42
Resim 17: Tiroid Papiller Karsinomun MSH2 ile immun boyanması, hafif boyanma 10 (a), orta boyanma x 10 (b), yoğun boyanma x 10 (c).....	43
Resim 18 : KLT'in MSH2 ile immun boyanması, orta boyanma x 10 (a), yoğun boyanma x 10 (b).....	43
Resim 19: Tiroid papiller karsinomun MLH1 ile immun boyanması, %0-4 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	46
Resim 20 : Tiroid papiller karsinomun MLH1 ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	46
Resim 21: Tiroid papiller karsinomun MLH1 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, (x 10).....	47
Resim 22 : KLT'in MLH1 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)	47
Resim 23 : Kolloidal guatrın MLH1 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b).....	47
Resim 24 : Tiroid Papiller Karsinomun MLH1 ile immun boyanması, negatif boyanma x 10 (a), hafif boyanma x 10 (b), orta boyanma x 10 (c).....	48
Resim 25 : KLT'in MLH1 ile immun boyanması, orta boyanma (x 10).....	49
Resim 26 : Kolloidal guatrın MLH1 ile immun boyanması, orta boyanma (x 10)	49

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Fonksiyonel tiroid hastalıkları -hipotiroidi ya da hipertiroidi-, tiroid nodülleri ve tiroid tümörleri büyük oranda tıbbi veya cerrahi tedaviye iyi yanıt verdiklerinden, doğru tanı büyük önem taşır (1).

Tiroid nodülleri toplumda son yirmi yılda oldukça artan sıklıkta görülmektedir. İyot eksikliği olan bölgelerde sıklık değişmekle birlikte erişkin populasyonunda palpabl tiroid nodül sıklığı % 4-7 arasındadır (2-6). Tanı yöntemi olarak yüksek çözünürlüklü ultrasonografi (USG) kullanıldığında ve deneyimli radyolog tarafından değerlendirildiğinde bu oran %19-67'lere kadar çıkabilmektedir (7).

Tiroid nodülü terimi, tiroid bezi içinde yer alan, palpasyonla veya görüntüleme yöntemleri ile çevre tiroid parankiminden farklı olan lezyonları tanımlamak için kullanılır. Tiroid nodüllerine yaşlılarda, kadınlarda, iyot eksikliği olanlarda ve radyasyona maruz kalanlarda daha sık rastlanmaktadır. Tiroid nodüllerinin klinikte bu kadar üzerinde durulmasının nedeni altında yatan tiroid kanseri tanısını dışlamaktır (8, 9).

Tiroid nodülleri büyük oranda benign özellikte olup (hiperplastik nodül veya folliküler adenoma) yaklaşık olarak %5' i maligndir (3, 10-14). Malign olguların da %90' ından fazlasını iyi diferansiye tiroid karsinomaları (papiller tiroid karsinomu %80 ve folliküler karsinoma %10-15) oluşturmaktadır (4, 15). Kanser riski yaş, cinsiyet, aile öyküsü, radyasyon maruz kalma ve diğer faktörlere bağlı olarak % 5-15 arasındadır (8, 9). Tiroid kanserleri uygun tedaviler altında genellikle kür ile sonuçlansa da uzak metastaz ve/veya lokal nüks nedeniyle ölümler olabileceği unutulmamalıdır (16). Tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB)' nin ana amacı cerrahi gerektiren tümörü saptamak ve konservatif yaklaşım gerektiren benign lezyonlarda gereksiz cerrahi girişimi azaltmaktır (2, 10, 12, 17-19). Tiroid İİAB' nin bu özelliğine karşın iki önemli problem görülebilir (4). Birincisi yetersiz veya tanısal olmayan sonuçlar, ikincisi ise tüm tiroid İİAB'lerinin %15-30' unu oluşturan ve kararsız kalınan (indetermine) kategorideki lezyonlardır (4, 18). Sitomorfolojik olarak genellikle mikrofolliküler patern gösteren bu lezyonlarda, morfolojik bulguların örtüşmesi nedeni ile benign (adenomatöz guatr, folliküler adenoma, onkositik folliküler adenoma, hürthle hücreli nodül), malign (folliküler karsinoma, onkositik folliküler karsinoma, folliküler varyant papiller tiroid karsinomu) ayırımı yapmak çoğu zaman imkansızdır. Bu lezyonlarda kesin tanı ancak operasyon materyallerinin histopatolojik incelemesi

ile mümkün olabilmektedir. Cerrahi sonrasında da indeterminate lezyonların ancak %20-30'unda malignite saptanmakta ve olguların yaklaşık olarak %70-80' inde gereksiz cerrahi girişim yapılmaktadır (5, 20-22). Patologlar bazı vakalarda benign ve malign ayırımında zorlanarak ek yol gösterici verilere ihtiyaç duyabilirler (23). Bundan dolayı tanıda zorlanılan , malign tiroid nodülleri ile benign ayırımında katkı sağlayan moleküler belirteçler tanımlanmıştır. Son zamanlarda İİAB'nin doğruluğuna, tümör agresifliği veya davranışı için tahminde katkı sağlayan, tiroid tümörlerinde kullanılacak biyolojik belirteçlerde önemli ilerlemeler olmuştur (24-26).

Deoksiribonükleik asit (DNA) onarımı normal metabolik faaliyetler ve çevresel faktörlere bağlı oluşan DNA hasarına karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır (27). DNA onarımı birkaç farklı yoldan gerçekleşir. Direkt onarım (DR), baz ve nükleotid eksizyon onarımı (BER ve NER), yanlış eşleşme (mismatch) onarımı (MMR), çift zincir kırma onarımı ve zincirler arası çapraz bağ onarım sistemleri (28-30). DNA onarım proteinlerindeki kalıtsal ve edinsel eksikliklerin, karsinogenezin ortaya çıkmasına neden olduğu dikkate alınarak, son birkaç yıl içinde DNA onarım genlerindeki polimorfizm ve ekspresyon düzeyindeki değişiklikler ile tiroid kanser gelişimindeki artmış riski ilişkilendiren çalışmalar yayınlanmıştır (28-31).

DNA onarım proteinleri arasında Mismatch Repair (MMR) proteinlerinden Mut-S-Homolog-2 (MSH2) ve Mut-L-Homolog-1 (MLH1) son zamanlarda tiroid kanserini de içeren bazı baş ve boyun neoplazilerinin gelişimi, ilerlemesi ve metastazında sorumlu tutulmuştur (32-35). Özellikle MMR genlerindeki germline mutasyonlar, MSH2 ve MLH1 değişiklikleri olup herediter nonpolipozis kolorektal kanser gelişiminden sorumlu tutulmuştur (36). MMR proteinlerinin dışında metil guanin –DNA- metil transferaz (MGMT)' nin metilasyon durumu, doğrudan onarıcı enzim, kromozom 10q26 da lokalize, tiroid neoplazilerinde hala incelenmektedir (37, 38). MGMT ekspresyon kaybı agresif tümör davranışı ile özefagus, hepatosellüler, akciğer, mide ve meme kanseri gibi çeşitli neoplazilerin progresyonu ile ilişkili bulunmuştur (39-43). Sonuçta DNA onarım proteinlerinin tümör gelişimi ve progresyonunda rol alabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada amacımız kliniğimizde papiller tiroid kanseri, kronik lenfositik tiroidit ve nodüler koloidal guatr tanısı konulmuş olan hastalarda, patolojik arşiv taraması yaparak, temsil edici bloklarında retrospektif olarak DNA onarım proteinleri olan MSH2, MLH1, MGMT düzeyleri değerlendirmek, kantitatif değerlerinin klinik yaklaşımda kullanılabilir olup olmadığını incelemektir. Bu belirteçlerin TİİAB ile birlikte değerlendirilmesi halinde klinik yaklaşımı çok rahatlatacağı ve gereksiz cerrahi yaklaşımlara engel olunabileceği ya da riskin yüksek olduğu vakalarda erken tanı ve tedavi ile morbidite, mortalite ve ekonomik yükün azaltılabileceğini n görmekteyiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tiroid Embriyolojisi

Tiroid dokusu median ve lateral olmak üzere iki adet taslaktan oluşur. Median taslak foramen cecum seviyesinde kaudale doğru büyüyen median duktus benzeri invajinasyondan, primitif farinksin tabanında gelişir. Tiroglossal duktus olarak da bilinen bu yapının tabanında tiroid glandı gelişmektedir. Önceleri sferik görünümde olan tiroid, trakeanın önündeki asıl lokalizasyonuna doğru ilerlerken gestasyonun yaklaşık 7. haftasında iki loblu yapısını alır. Aşağı doğru ilerlerken tiroglossal duktus atrofiye uğrar (44). Başlangıçta solid yapıdaki tiroid taslağı, gestasyonun 9. haftasında folliküler hücre kordonları ve tabakaları oluşturmaya başlar. 10. haftada küçük folliküller belirir (44). 11-12. haftada kolloid sekresyonu görülmeye başlar, 14. haftada tiroid bezi, folliküler hücrelerle döşeli, tam gelişmiş folliküllerden oluşur ve folliküllerin lümenlerinde kolloid bulunur (45, 46).

İki adet lateral tiroid taslağı, ultimobranşial yapılardan meydana gelir. Ultimobranşial yapılar hala farinks ile bağlantı halinde iken, paratiroid taslağı ile birlikte boyunun her iki tarafından aşağı doğru migrasyona başlar. 7- 8. haftalarda farinks ve paratiroidden ayrılırlar. Ultimobranşial yapıların lümenleri proliferen olan hücreler ile oblitere olarak solid bir yapı halini kazanır ve sonuçta median tiroid taslağı ile birleşir (44). Median tiroid ile füzyonu sonrası ultimobranşial yapı, santral kalın duvarlı stratifiye epitelyal kist ve C hücrelerinden oluşan folliküller arasında yer alan hücre gruplarından meydana gelen periferal komponente bölünür. Postnatal hayatta santral epitelyal kist büyük oranda kaybolur, bu yapıdan geride kalan artıklar ise solid hücre yuvaları olarak adlandırılır. C hücrelerinin nöral krestten geliştiği düşünülmektedir (44).

2.2.Tiroid Anatomisi

Tiroid bezi, servikal 5. vertebra ve torakal 1. vertebra hizasında , boyunun alt-anterior bölgesinde yerleşmiş, endokrin bir bezdir. Ağırlığı yaklaşık 20-22 gr'dır. Genellikle tiroid bezi, ortada istmus ile birleşmiş sağ ve sol olmak üzere iki lateral lobdan oluşmuştur. Lobus lateralisler üç yüzlü piramide benzerler. Kalınlık ve genişlikleri 2-2,5 cm., boyları 4-5 cm.'dir. Üst kısımları tiroid kıkırdağın linea obliqua'sı, alt hizası 5. trakea halkası düzeyindedir. Lobların arka-iç yüzleri krikoid kıkırdağa birer ligament aracılığı ile tutunmuştur. Bu yüzler ayrıca larinks ve

trakeanın yan kenarlarına gevşek bağ dokusu ile tutunurlar (47).

Tiroid bezinin içinde ve dışında mevcut olan iki kapsülü vardır. İçteki kapsül ince bağ dokusu yapısındadır ve 'fibröz kapsül' adı verilir. Tiroide sıkıca yapışıktır, septalar oluşturup tiroidi lobüllere ayırır. Dıştaki kapsül boynun derin fasyasının bir devamıdır, 'Lamina Pretrakealis' adı verilir ve içteki kapsüle gevşek olarak bağlanır. Lateral lobların arka yüzünde, tiroid kapsülü ile fibröz kapsül arasında sağlı sollu iki çift paratiroid bezleri ve tiroidin arteri olan A.thyroidea inferior ve siniri olan N.laryngeus recurrens bulunur (47, 48). Tiroid bezinin ön tarafında infrahyoid kaslar olan m. sternothyroideus ve m.sternohyoideus yer alır (49). Tiroid lobları yan kenarlarda damar-sinir paketi ve m. sternomastoideus ile komşudur. İstmus iki lateral lobu inferiordan birleştiren parçadır ve 0,5 cm. kalınlığında, 2x2 cm. boyutlarındadır. Arka yüzü genellikle 2. ve 3. trakea halkalarının ön yüzüne yerleşir. İnsanların % 40 'ında istmustan hyoid kemiğe lobus pyramidalis denilen bir tiroid bez dokusu uzanır (47). Tiroid bezi bağımsız bir fibröz kapsül ile sarılıdır. Bu kapsülün dışında yer alan fasya pretrachealis trakea, özofagus, larinks ve tiroid bezini birlikte sarar. Bu bakımdan tiroid bezi yutma sırasında larinksle eş zamanlı hareket eder (47). Tiroid bezinin kanlanması a. thyroidea superior ve inferior sağlar. Vena Superior ve medialis, V. jugularis eksterna'ya dökülürken, V. Thyroidea inferior, brakiosefalik sisteme katılır. Tiroidin zengin bir lenfatik ağı vardır. Tiroid bezinin superior ve medial bölgesinin lenfatikleri V. jugularis interna'ya, inferior bölgesinin lenfatikleri ise pretrakeal ve paratrakeal lenf nodlarına dökülür (49).Tiroid bezi superior ve medial servikal gangliondan gelen postganglionik sempatik lifler ile n.vagus'tan gelen parasempatik lifler tarafından innerve edilir (47).

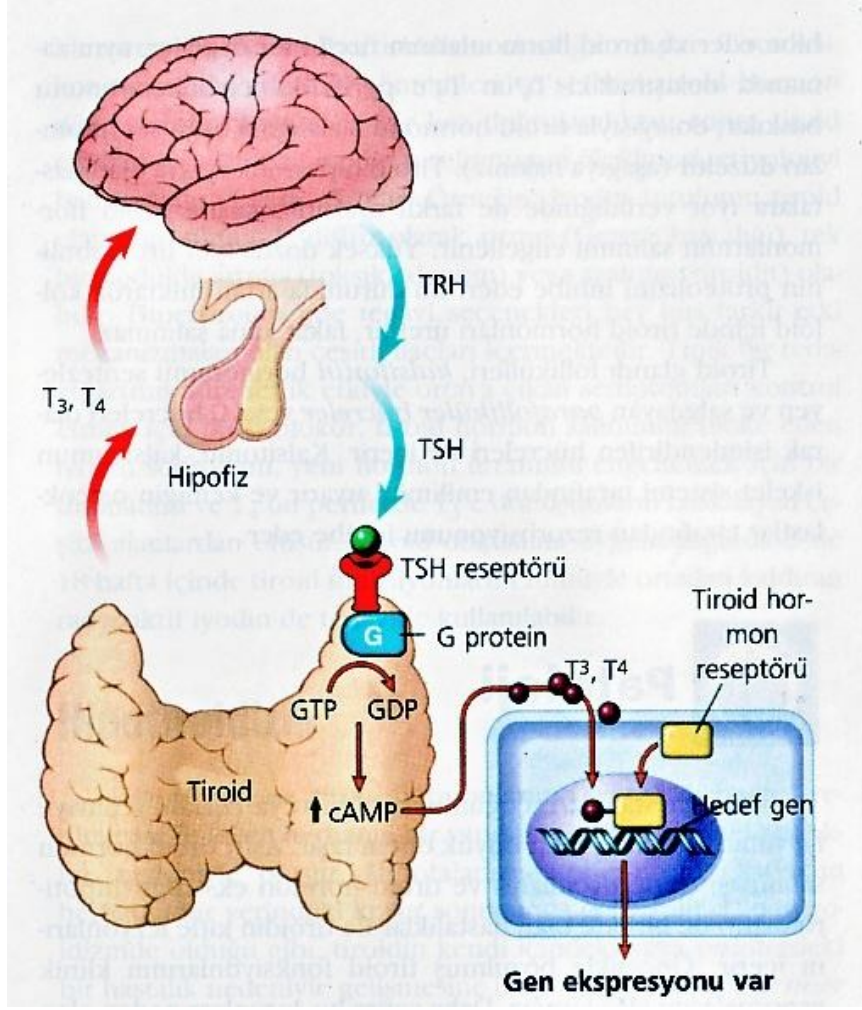
2.3. Tiroid Histoloji ve Fizyolojisi

Tiroidin yapısal birimi olan folliküller yuvarlak-oval görünümündedir. Her bir follikül apikal yüzeyleri santral ekstrasellüler kolloid ile temas eden tek sıralı follikül hücreleri ile döşelidir. Eozinofilik sitoplazma ve yuvarlak-oval nükleusa sahip follikül hücrelerinin nükleusları bazal yerleşimli olup ince granüler kromatinli ve belirgin olmayan nükleollüdür. Alçak küboidal veya kolumnar şekilli ve değişken boyuta sahip bu hücrelerin şekil ve boyutu, tiroid hormon sentezi ile ilişkilidir. Yapısal olarak granüler endoplazmik retikulum ve mitokondri, sitoplazmada kolaylıkla izlenen elemanlardır. Follikül hücrelerinin tabanları kapiller ağdan zengin ince

fibrovasküler stroma üzerinde yer alır. Tiroid lobülleri 20-40 follikülden meydana gelir. Lobüller ince bir fibröz bağ doku ile sarılır ve her biri küçük arteriyel dal ile kanlanır. Lobülleri ayıran fibröz doku, tiroid kapsülü ile devamlılık gösterir (44, 50).

Folliküllerin ortasında bulunan kolloidin içinde tiroglobulin bulunur. Tiroglobulin iyodize bir glikoprotein olup triiyodotironin (T₃) ve tiroksinin (T₄) öncülüdür. Kolloid amorf eozinofilik görünümündedir ve Periodik Asit-Schif (PAS) ve tiroglobulin boyaları ile gösterilebilir. Kolloid içinde değişken boyutlarda yuvarlak-oval şeffaf boşluklar sık olarak gözlenir ve bazen içlerinde kalsium okzalat kristalleri de yer alır (44, 50).

Ön hipofizdeki tirotropik hücrelerden salınan Tiroid Stimulan Hormona (TSH) yanıt olarak, tiroid follikül epitel hücreleri tarafından, pinositoz ile tekrar hücreye alınan tiroglobulin, hücre içinde kolloid veziküllerini oluşturur. Hücre içinde lizozomlarla birleşen tiroglobulin molekülü intrasitoplazmik olarak parçalanır. Bu şekilde serbest hale geçen tiroid hormonu, %90'ından fazlası tetraiyodotironin (T₄), çok az miktarı triiyodotironin (T₃) şeklinde, follikül hücrelerinin bazal tarafından follikül etrafındaki kan kapillerlerinden sistemik dolaşıma salınır ve periferel dokulara taşınmak üzere geri dönüşümlü olarak plazma proteinlerine bağlanır. Bağlanmayan T₃ ve T₄, hücre içi reseptörlerle bağlanır ve sonuçta karbonhidrat ve lipid metabolizmasını düzenler ve bir çok hücrede protein sentezini uyarır. Bu sürecin net etkisi bazal metabolizma hızında artıştır (49, 51). Triiyodotironin ve T₄ düzeylerindeki düşüş hipotalamustan tiotropin serbestleştirici hormon (TRH) ve ön hipofizden TSH salgılanmasına yol açar. Böylece T₃ ve T₄ düzeyleri artar. Buna karşın T₃ ve T₄ düzeylerindeki artış TRH ve TSH sekresyonunu baskılar. Bu ilişki negatif geri bildirim halkası olarak adlandırılır. Tiroid Stimulan Hormon tiroid follikül epitelindeki TSH reseptörünü aktifler, o da G proteinlerinin aktiflenmesini ve siklik-AMP (cAMP) bağımlı tiroid hormon sentezi ve salgılanmasını sağlar. Periferde T₃ ve T₄, tiroid hormon reseptörü ile etkileşime girerek hormon-reseptör kompleksini oluştururlar ve nükleusa yerleşip hedef gen üzerindeki transkripsiyonu başlatan tiroid yanıt elemanlarına bağlanırlar (Şekil 1) (51).



Şekil 1: Hipotalamus, hipofiz, tiroid eksenindeki homeostaz ve tiroid hormonlarının etki mekanizması (51).

Tiroid bezinde, C hücreleri olarak da bilinen, follikül duvarının bazal membrana yakın kısımlarında ya da interfolliküler stromada tek tek ya da küçük gruplar halinde, soluk boyanan parafolliküler hücreler de vardır. Yapı ve fonksiyonları follikül epitel hücrelerinden tamamen farklıdır. Follikül hücrelerinden daha büyük, Hematoksilen eozin (HE) ile daha soluk boyanan, nükleusu ekzantrik yerleşimli, mitokondriden zengin hücrelerdir. Gümüşleme histokimyasal yöntemi ile sitoplâzmalarında siyah renkli kalsitonin hormonu içeren granüller ortaya çıkar. Bu hücrelerin apikal yüzleri, follikül lümenine karşı daima follikül epitel hücrelerine ait ince bir sitoplâzma kısmı ile örtülü olduğundan, hiç bir zaman follikül boşluğuna kadar ulaşamazlar. Sentezledikleri kalsitonini ekzositozla yakındaki kan kapillerlerine aktarırlar. Kalsitonin hormonu, iskelet sistemi tarafından kalsiyumun emilimini kolaylaştırarak,

kandaki kalsiyum seviyesini düşürür ve kemiğin osteoklastlar tarafından rezorbsiyonunu önler (49, 51, 52).

2.4.Tiroid Bezinin Benign Hastalıkları:

2.4.1.Guatr ve Multinodüler Guatr

Tiroit bezinin herhangi bir nedenle büyümesine guatr denir. Bezin büyüklüğü, hacim ya da boyut olarak ultrasonografi ile belirlenebilir. Diffüz non-toksik (basit) guatr nodularite olmaksızın bütün tiroid bezini diffüz olarak etkileyen guatr türüdür. Genişlemiş folliküller kolloidle dolu olduğu için bu durumu tanımlayan kolloidal guatr terimi kullanılır. Kolloidal guatr toplumda endemik veya sporadik olarak görülür (51). İyot eksikliği olan bölgelerde, nüfusun %10'undan fazlasında guatr ortaya çıkıyorsa; bu endemik guatr olarak adlandırılır. İyot kaynakları yeterli olan ülkelerde ise, insanlara yiyecek ve ilaçlarla fazla miktarda iyot verildiğinde, tiroit hormon sentezi azalmasına bağlı olarak guatr gelişir; bu da nonendemik guatr olarak adlandırılır (53, 54, 55).

Multinodüler guatr (MNG) ise; tiroit bezinin birçok yerinde nodüllerin büyümesiyle oluşur. Tiroit nodülleri; toksik ya da nontoksik, diffüz ya da nodüler, soliter nodül ya da multiple nodül şeklinde sınıflandırılabilir (56).

Multinodüler guatrlarda, kötü kozmetik görünüm, nefes darlığı, malignite şüphesi varsa cerrahi tedavi önerilmektedir. Baş ve boyuna radyasyon almış veya ailede tiroid kanseri öyküsü olan multinodüler guatrlı hastalarda, kanser riski %40'tır. Ayrıca; bu hastaların yarısında kanserin, dominant nodül dışındaki bir bölgede yerleştiği gösterildiğinden, cerrahi tedavi endikedir. Küçük asemptomatik MNG' de, ultrasonografi ile izlem yapılabilir. Büyüyen nodüller, ince iğne aspirasyon biyopsisi ile malignite gelişimi açısından takip edilirler (55).

2.4.1.1.Guatr ve Multinodüler Guatr Patolojisi

Morfolojik olarak diffüz nontoksik guatrın hiperplastik faz ve kolloid involüsyonu şeklinde iki fazı vardır. Hiperplastik fazda tiroid bezi diffüz ve simetrik olarak büyür. Büyüme genellikle orta derecededir ve nadiren 100 gr ile 150 gr ağırlığı geçer. Folliküller kalabalık kolumnar hücreler ile döşelidir. Tiroid bezinin tümünde birikim uniform değildir. Bazı folliküller dev boyutlara ulaşırken, bazıları küçük kalır. Besinlerle iyot alımı daha sonra artarsa veya tiroid hormonu talebi azalırsa uyarılmış

follikül epiteli gerileyerek kolloidden zengin büyük bir tiroid bezinin oluşumuna yol açar ki buna kolloidal guatr denir. Bu olgularda tiroid kesit yüzeyi genellikle kahverengidir, bir ölçüde camsı görünümde ve translüsen görünümündedir. Histolojik olarak follikül epiteli düzleşmiştir ve küboidaldir. İnvölüsyon döneminde kolloid bol miktardadır (51).

Morfolojik olarak, multinodüler guatr 2000 gr üzerine çıkabilen asimetrik olarak büyümüş multilobüler glandlardır. Büyüme paterni önceden bilinemez. Bir lobu diğerinden fazla tutabilir, trakea ve özefagus gibi orta hat yapıları üzerinde lateral basınç oluşturabilir. Nadiren büyük kısmı trakea veya özefagus arkasına gizlidir. Bazen nodüllerden biri klinik olarak tek bir nodül görüntüsü verebilir. Kesit yüzeyinde değişik miktarlarda kahverengi jelatinöz kolloid içeren düzensiz nodüller izlenir. Özellikle eskimiş olgularda sıklıkla hemoraji, fibrozis, kalsifikasyon ve kistik değişiklik gibi regresif değişiklikler oluşur. Mikroskopik görünüm, basık inaktif epitelle döşeli, kolloidden zengin folliküller ile follikül epitelinde hipertrofi ve hiperplazi alanlarına eşlik eden dejeneratif değişikliklerden ibarettir (51).

2.4.1.2. Enflamatuvar Hastalıkları

Günümüzde tiroidit terimi yalnız tiroit bezinin inflamatuvar hastalıkları için değil, belirgin özellikleri fibrozis veya lenfositler infiltrasyon olan hastalıkları için de kullanılmaktadır (57). Tiroit infeksiyonları akut, subakut ve kronik olmak üzere 3'e ayrılabilir (58). Subakut tiroiditler; subakut granümatöz tiroidit ve subakut lenfasitik tiroidit olmak üzere iki gruba ayrılır. Kronik tiroiditlerin Hashimoto tiroiditi ve Riedel tiroiditi olmak üzere başlıca iki tipi vardır.

Tablo-1: Tiroiditlerin sınıflandırması (59)

- *Akut Süpüratif Tiroidit
- *Subakut Tiroidit
 - Subakut Granümatöz Tiroidit (De Quervain Tiroiditi)
 - Subakut Lenfositik Tiroidit (Sessiz Tiroidit)
- *Kronik Tiroidit
 - Hashimoto tiroiditi (Lenfositler Tiroidit)
 - Riedel 's tiroiditi (İnvaziv Fibröz Tiroidit)
 - Sifiliz ve Tüberküloz gibi spesifik infeksiyonlara bağlı kronik tiroiditler

2.4.1.2.1. Hashimoto Tiroiditi

Otoimmün bir hastalık olan Hashimoto tiroiditi en sık görülen tiroidit şeklidir. Kadınlarda 9 kat daha sık görülür (58). En sık 30-60 yaşlarda ortaya çıkar. Klinik belirtiler nonspesifik olmakla beraber hastaların %20' sinde hipotiroidizm belirtileri ilk bulgulardır. Literatürde tiroid papiller kanseri ile Hashimoto tiroiditi arasında % 1 - 23 arasında değişen birliktelikler bildirilmiştir (59, 60). Hastaların %50-80' inde tiroglobulin antikörleri, %90-100' ünde mikrozomal antikörler bulunur (57, 58). Tedavide hormon replasmanı uygulanıp, ancak bası belirtileri ve malign şüphesi bulunanlarda cerrahi düşünülmelidir (59).

2.4.1.2.1.1.Hashimoto Tiroiditi Patolojisi

Tiroid lenfosit ve plazma hücrelerince infiltre edilmiştir. Lenfositler, yer yer lenfoid folikül yapacak şekilde organize olur. Tiroid folikülleri bozulmuş olup, folikül hücrelerinin bazılarında sitoplazmik oksifilik değişiklikler gözlenir. Bunlara 'Hürthle' veya 'Askanasy' hücreleri denir. Çeşitli derecelerde fibrozis olaya eşlik eder. Lenfositik infiltrasyonun az olduğu olgularda epitel atrofisi ve fibrozis belirgindir.

Ayrıca lezyon diffüz veya fokal bir alanda olabilir. Hashimoto tiroiditinde, lezyonun yaygınlığına ve histolojik tipine göre tablo 2'de görüldüğü gibi çeşitli alt gruplara ayrılır (61, 62).

Tablo 2: Hashimoto tiroiditi sınıflaması

<ul style="list-style-type: none">• Lezyonun yaygınlığı<ul style="list-style-type: none">- Diffüz- Fokal• Histolojik tip<ul style="list-style-type: none">- Oksifilik- Lenfoid- Hiperplastik- Fibröz

Fokal tipin diğer tiroid hastalıklarına sekonder olarak lenfositik infiltrasyon olması nedeniyle oluştuğu düşünülmüştür. Ayrıca, fibröz tipin histopatolojik görünümü

Riedel tiroiditi ile karışabilir; fakat fibröz tip hashimoto tiroiditinde yoğun fibrozis kapsül dışına taşmaz ve Hürthle hücreleri karakteristiktir (61, 62).

2.5.Tiroid Tümörleri

Tiroid tümörlerini başlıca primer ve sekonder (metastatik) tümörler oluşturur. Metastatik tümörler nadir olarak izlenir. Tiroid tümörlerinin büyük kısmı epitelyal hücrelerden, özellikle de tiroid follikül epitelinden meydana gelir (14). Papiller, folliküler, medüller ve indifferansiye karsinoma, en sık görülen tiroid kanserleridir (15).

Tiroid Karsinomlarının Sınıflaması (63)

1-) Follikül Epiteli Yönünde Differansiasyon Gösterenler

A-) İyi Differansiye Karsinom

a-) Papiller Karsinom

b-) Folliküler Karsinom

c-) Diğerleri (Hyalinize trabeküler tümör, Mukoepidermoid karsinom Sklerozan mukoepidermoid karsinom, Histogenezi belirsiz yassı epitel hücreli karsinom ve Müsinöz karsinom)

B-) Az Differansiye Karsinom

Mikroskopik Tipleri

-İnsular

-Trabeküler

-Solid

C-) İndifferansiye Karsinom (İğsi pleomorfik hücreli tip, skuamoid hücreli tip, sarkomatoid tip)

2.5.1.Epidemiyoloji

Tiroid tümörleri gelişmiş ülkelerde tüm malignitelerin yaklaşık % 1' ini meydana getirir. Benign tiroid tümörleri sık olarak izlenir (15). Tiroid kanserleri endokrin sistem kanserlerinin % 90 'ını oluşturur (64). Epitelyal tümörler içerisinde

follikül epiteli kökenli tümörler, C hücre kökenli tümörlerden çok daha fazla gözlenir (15). Tiroidin primer lenfomaları sık olarak saptanmazken, non-epitelyal tümörleri son derece nadirdir.

2.5.2.İnsidans

Tiroid kanserlerinin insidansı coğrafi bölgeler ve etnik gruplar arasında farklılık göstermekte olup ekonomik açıdan gelişmiş olan ülkelerde daha fazla gözlenir (15). Tiroid kanserlerinin insidansı yılda 100.000 kişide 0.5- 13.6 oranında saptanır (64). Bu oran 1970' lerden bu yana çoğu ülkede artış göstermektedir (15). Tiroid kanseri insidansındaki bu artıştan özellikle papiller tiroid karsinoma (PTK) olguları sorumludur. Folliküler, medüller ve anaplastik karsinoma olgularında ise istatistiksel olarak bir artış söz konusu değildir (14, 65). Klasik papiller karsinoma yanı sıra folliküler varyant papiller tiroid karsinoma (FV-PTK) olguları da artış göstermektedir. Tiroid kanseri insidansının artışının nedeni tam olarak bilinmese de çeşitli faktörler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ultrasonografi (USG) ve İİAB ile kanser saptama oranları artmıştır. Artıştaki diğer bir neden de FV-PTK' nın daha iyi tanınıyor olmasıdır (66).

2.5.3.Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Çocuklarda nadir olarak izlenen tiroid kanserinin insidansı 2. dekatta hızla artmaya başlar. Kadınlarda reproduktif dönemin sonlarında, erkeklerde 6. dekatta pik yapar. Kadınlarda, erkeklerden 2-3 kat daha fazla saptanır. İnsidansı çoğu ülkede son otuz yıldır artış göstermektedir (14).

2.5.4.Genetik Yatkınlık ve Diğer Risk Faktörleri

Tiroid tümörlerinin gelişiminde genetik yatkınlık, endojen hormonal faktörler ve çevresel risk faktörleri yer alır. Genetik yatkınlığın tiroid tümörlerinin gelişimindeki rolü en iyi medüller karsinomada gösterilmiştir. Bu tümörlerin yaklaşık olarak % 25' i multipl endokrin neoplazi (MEN) sendromları ile birlikte görülür; bunlar MEN tip 2A, MEN tip 2B ve familyal medüller karsinomadır (14).

Folliküler hücre kaynaklı tiroid tümörlerinin yaklaşık % 5' i familyaldır. Bunlar iyi tanımlanmış herediter kanser sendromları veya henüz belirlenememiş genetik mekanizmalar ile ilişkilidir. Folliküler hücre kaynaklı tiroid karsinoması olan

hastaların birinci derece akrabalarında tiroid kanseri gelişim riski genel popülasyondan 4-10 kez daha fazladır. İlişkili olduğu bilinen genetik sendromlardan familyal adenomatöz polipoziste gözlenen tiroid kanseri sıklıkla PTK' dır. Cowden hastalığı olan kişilerde saptanan tiroid tümörleri ise folliküler adenoma (FA) ve folliküler karsinomadır (FK). Tiroid tümörleri nadiren Carney kompleksi, Werner sendromu, Peutz-Jeghers sendromu ve MEN1 sendromu ile birlikte izlenebilir. Ancak familyal folliküler hücre kökenli tiroid kanserlerinin çoğu kalıtsal sendromlar ile ilişkili değildir. Familyal nonmedüller tiroid kanseri olarak da bilinen bu tümörlerin çoğu PTK' dır (14).

Çocukluk çağında iyonize radyasyona maruz kalmak tiroid kanseri gelişiminde iyi bilinen bir risk faktörüdür. Eksternal radyasyon ve ¹³¹I' ya internal maruziyet, tiroid kanseri gelişimi riskini arttırır. Radyasyon etkisi ile gelişen kanserlerin çoğu PTK' dır (14).

Önceden var olan benign tiroid nodülü/ adenomu veya multinodüler guatr, tiroid kanseri gelişimde diğer bir risk faktörüdür. Kanser gelişim riski benign tiroid hastalığı tanısı alınmasından sonraki ilk 10 yılda en yüksektir. Kanser gelişim riski bu süreyi izleyen 10 yıldan daha fazla süre boyunca da yüksek kalır. İyi diferansiye tiroid kanseri olan hastaların yaklaşık %15, anaplastik karsinoma tanısı alan hastaların da yaklaşık %25' inde nodüler guatr (NG) mevcuttur (14).

Diyetteki iyot eksikliğinin FK ve anaplastik karsinoma gelişiminde rolü olduğu bilinmektedir. Yüksek oranlarda iyot alınan bölgelerde ise PTK' nın relatif riskinin yüksek olduğu gözlenmiştir (14). PTK kronik lenfositik tiroiditis (KLT) olan kişilerde daha fazla gözlenmektedir (15). Son dönemlerde Parvovirüs B19' un PTK etyolojisinde rol aldığı bildirilmektedir. Nonneoplastik tiroid dokusu ile karşılaştırıldığında, PTK' da yüksek oranda Parvovirüs B19 proteini saptanmıştır (67).

Tiroid kanserinin kadınlarda erkeklerden daha fazla görülmesi, endojen hormonal faktörlerin kanser gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Cinsiyet farklılığı en çok kadınlarda reproduktif dönemde belirgindir. Kadınlarda kanser oranı menopoz sonrası azalma gösterir (14).

2.5.5.Tiroid Kanseri Gelişiminde Etkili Olan Moleküler Belirteçler

Tiroid kanseri gelişiminde etkili olan moleküler yolların çoğu tanımlanmıştır. PTK ve FK' da bilinen moleküler belirteçlerin çoğunu BRAF ve

RAS nokta mutasyonları ile RET/PTK ve PAX8/PPAR γ rearanjmanları meydana getirir (15). Tiroid kanseri tümörögenезisinde mikroRNA(miRNA) ekspresyonlarındaki değişikliklerin de rol oynadığı düşünölmektedir (68, 69).

2.5.6.Klinik Prezantasyon, Tanı ve Tedavi

Tiroid tümörleri sıklıkla hasta veya doktoru tarafından insidental olarak fark edilen boyun kitlesi olarak ortaya çıkar. Genellikle asemptomatiktir. Ancak ses kısıklığı veya disfajiye de yol açabilir. Nadiren de ilk bulgu metastatik nodüller şeklinde olur (14). Tiroid nodüllerinin değerlendirilmesinde sıklıkla USG, İİAB ve nükleer sintigrafi kullanılır. Tiroid nodüllerinin preoperatif tanısında İİAB en etkin tanı yöntemidir (3, 70). İİAB palpasyon ile veya USG eşliğinde yapılabilir. USG lezyonun boyutunun, solid-kistik natürünün saptanmasında ve İİAB yapılırken yol gösterici olması nedeni ile oldukça yararlıdır. Tiroid sintigrafisi nodülün sıcak veya soğuk olduğunu saptar, soğuk nodüllerin malignite riski sıcak nodüllerden daha fazladır. Bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntöleme yöntemleri, boyundaki lenf bezlerinin tutulumu ve çevre dokulara invazyonun değerlendirilmesi amacı ile kullanılabilir (14).

Tiroid kanseri tanısı alan hastalarda seçilen cerrahi tedavi yöntemi total veya totale yakın tiroidektomidir. Bazı durumlarda lenf bezi diseksiyonu da eklenebilir. Postoperatif ¹³¹I tedavisi de uygulanabilecek diğer bir tedavi yöntemidir. Diferansiye tiroid kanserlerinin takibinde serum tiroglobulin, medüller karsinoma takibinde ise kalsitonin seviyeleri kullanılabilir (14).

2.6.Papiller Tiroid Karsinomu(PTK)

PTK en sık görölen tiroid kanseridir (64). İnsidansı dünya genelinde artış göstermekte olup kadınlarda erkeklere göre yaklaşık üç kat fazla görülür. Sıklıkla 20-50 yaşlarında gözlenmektedir. Çocukluk çağında sık gözlenmemekle birlikte bu yaş grubunda en sık saptanan tiroid kanseridir (71).

2.6.1.Sitolojik Özellikler

PTK’ da tipik olan yapısal ve sitolojik özellikler vardır. Tümör hücreleri fibrovasküler kor içeren papillalar, üç boyutlu keskin sınırlı solid adalar ve tabakalar meydana getirir. Nükleer yarıklanma, intranükleer psödoinklüzyon ve soluk tozsuz

kromatin paterni PTK' nın tipik nükleer özellikleridir. Nükleusta gözlenen diğer özellikler ovalleşme, irileşme, nükleer yığılma ve "molding" varlığıdır. Nükleol sıklıkla mevcuttur. Sitoplazmada dens skuamoid görünüm olabilir. Sitoplazmik mikrovakuoller bazen izlenir. Tanı için yardımcı diğer özellikler uzamış, dens, sakızsı görünümlü kolloid, multinükleer dev hücreler ve psammomatöz kalsifikasyonlardır (71-73).

FV-PTK' da ise mikrofolliküller içeren tabakalar izlenir. Bu varyanta klasik papiller karsinomadan farklı olarak nükleer değişiklikler daha az belirgindir. Nükleer irileşme ve kromatinde solukluk tipik olarak izlenir. Ancak nükleer yarıklanmalar ve intranükleer psödoinklüzyonlar daha seyrek gözlenir (73).

PTK, "tall cell" varyantta tümör hücreleri papillalar oluşturur. Papilları döşeyen hücrelerin karakteristik olarak boyu eninin en az üç katı uzunluğundadır. Geniş granüler sitoplazmaya sahip olan bu hücrelerde PTK için tipik olan nükleer özellikler izlenir. İntranükleer psödoinklüzyonlar klasik form PTK' ya oranla daha sık olarak gözlenir. Nükleusta sıklıkla birden fazla izlenen intranükleer psödoinklüzyonlar, sabun köpüğü görünümüne neden olabilir (73).

2.6.2.Histopatoloji

PTK sıklıkla infiltratif büyüme paterni gösterir. FV-PTK dışında gerçek enkapsülasyon nadirdir. Tipik gelişim paterni olan papiller patern, epitelyal hücreler ile döşeli kompleks dallanmalar gösteren parmaksı çıkıntılar şeklindedir. Papillalar fibrovasküler korlar içerir. Papiller büyüme paterni dışında folliküler, solid veya trabeküler patern de izlenebilir. Tümörde kistik gelişim saptanabilir. Psammoma cisimcikleri sık rastlanan bir bulgudur (71-73).

PTK'da tanı esas olarak nükleus özellikler ile konulur. PTK' nın karakteristik nükleus özellikleri irileşme, ovalleşme, elongasyon ve üst üste binmedir. Nükleuslarda buzlu cam görünümü mevcuttur. Nükleus membranında irregülarite, nükleuslarda yarıklar ve intranükleer inklüzyonlar sık olarak izlenir. İntranükleer inklüzyonlar PTK için karakteristiktir. Tümör hücreleri küboidal veya alçak kolumnar şekilli ve soluk eozinofilik sitoplazmaya sahip görünümündedir. Skuamöz metaplaziye sıklıkla rastlanır (71-73).

2.6.3.Histopatolojik Varyantlar

Bazı PTK' larda spesifik büyüme paterni, hücre tipi ve stromal reaksiyon gibi özellikler saptanır. Bu özellikler baskın olarak saptandığında tümör histolojik varyant olarak sınıflandırılır (72).

a-Mikrokarsinoma: Tümör çapı 1 cm'den küçük olan papiller karsinomalar, papiller mikrokarsinoma olarak adlandırılır (72). Sıklıkla benign tiroid nodülü veya KLT nedeni ile opere edilen kişilerde insidental olarak saptanır (74).

b-Foliküler varyant: Tüm PTK' ların %15-20' sini oluşturur. Papiller yapılar içermeyen küçük-orta büyüklükte irregüler şekilli folliküllerden meydana gelir. Folliküllerin içinde değişken oranlarda kolloid bulunur. Follikülleri döşeyen hücrelerin çoğunda nükleuslarda irileşme, buzlu cam görünümü, nükleer yarıklar ve intranükleer psödoinklüzyonlar izlenir. Olguların üçte biri enkapsüledir (71, 72).

d-Makrofolliküler varyant: Tümörü oluşturan folliküllerin oldukça büyük (200 µm'den büyük) olması ile karakterizedir. Makrofolliküller tümörün yarısından fazlasını oluşturur. Arada daha küçük çaplı folliküller gözlenebilir. Follikülleri döşeyen hücreler karakteristik PTK nükleus özelliklerine sahiptir, ancak bu özellik fokal olarak da izlenebilir. Bu tümörler sıklıkla enkapsüledir (71, 72).

d-Onkositik (Hürthle hücreli) varyant: Genellikle papiller, daha az olarak da folliküler veya solid büyüme paterni de gösteren bu tümörlerde, geniş eozinofilik/granüler sitoplazma ve PTK için karakteristik olan nükleus özellikleri izlenir. 'Warthin benzeri' varyant, onkositik papiller karsinomanın alt tipi olarak kabul edilir. Onkositik tümör hücreleri karakteristik olarak PTK nükleus özellikleri gösterir. Papiller yapıların stromasında yoğun lenfositik infiltrasyon izlenir. Olguların çoğu KLT ile ilişkilidir (71, 72).

e-Berrak hücreli "Clear cell" varyant: Papiller karsinomanın nadir olarak görülen bu varyantı, tümörün yarısından daha fazlasını oluşturan papiller karsinoma nükleer özelliklerine sahip berrak hücrelerden meydana gelir. Papiller, folliküler veya solid büyüme paternleri izlenebilir. Bazı tümörlerde berrak hücrelere onkositik hücreler eşlik edebilir. İntra ve ekstrasellüler müsin birikimi bazen gözlenebilir (71, 72).

f-Diffüz sklerozan varyant: Tipik olarak çocuklar ve genç erişkinlerde izlenen, bir ya da her iki tiroid lobunun tümör ile diffüz tutulumu ile karakterizedir. PTK' ların yaklaşık olarak % 2' sini oluşturur ve kadınlarda belirgin olarak daha fazla saptanır.

Mikroskopik olarak tiroidin tümör ile diffüz tutulumu, dens sklerotik fibrozis, yoğun lenfositik infiltrasyon, çok sayıda psammoma cisimciği ve yaygın skuamöz metaplazi izlenir (71, 72).

g-Tall cell varyant: Boyu eninin en az 3 katı olan uzun kolumnar hücrelerin tümörün en az %50'sini oluşturması ile karakterizedir. Nükleer yarıklanmalar ve psödoinklüzyonlar sıktır. Hücre sınırları belirgin, geniş dens eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Uzamış folliküller ile ince fibrovasküler kor ve dallanmalar gösteren sıkıca bir arada duran papillaların varlığı, trabeküler patern izlenimi verir (71, 72).

h-Kolumnar hücreli varyant: Oldukça nadir olan bu varyantta nükleer stratifikasyon gösteren kolumnar hücreler yaygın olarak izlenir. Tümör hücrelerinin sitoplazması eozinofilik veya berraktır. Bazı tümörlerde subnükleer vakuolizasyon dikkati çeker. Nükleuslar elonge şekilli, koyu kromatinlidir. PTK' ya ait nükleus özellikleri fokal olarak izlenir. Tümörde papiller, folliküler, solid veya kribriiform büyüme paterni veya bunların kombinasyonları gözlenebilir. İğsi hücreli büyüme alanları ve skuamöz metaplazi odakları, nadiren psammoma cisimcikleri saptanabilir (71).

i-Solid varyant: Hemen tamamı ya da yarısından fazlası solid, trabeküler veya yuvalanmalar şeklinde büyüme paterni gösteren tümörlerdir. En sık izlenen büyüme paterni olan solid patern, fibröz stroma ile ayrılan tabakalar ve yuvalanmalar oluşturan hücrelerden meydana gelir. Stroma oldukça ince olabileceği gibi kalın fibröz bantlar da içerebilir. Trabeküler paternde anastomozlaşan tümör bantları izlenir. Yuvalanmalar ile karakterize paternde ise ayrışma artefaktı gösteren fibrovasküler stroma ile çevrelenmiş belirgin sınırlı tümör adaları mevcuttur. Tüm PTK' ların %1-3' ünü oluşturan solid varyant, gençlerde, özellikle de iyonize radyasyona maruz kalan çocuklarda sık olarak izlenir (71, 72).

j-Kribriiform karsinoma: Kribriiform, trabeküler, solid, papiller ve folliküler büyüme paternleri gösteren, iğsi hücrelerden oluşan girdapsı yapılar veya morulalar meydana getiren bu tümörde multipl iyi sınırlı veya enkapsüle tümör nodülleri izlenir. Morüler hücrelerde keratinizasyon gözlenmez. Belirgin kribriiform büyüme paterni ve morulalar bu tümörün en dikkat çeken özellikleridir. Mikrofolliküler yapılar izlenebilir ancak lümenlerinde kolloid nadiren mevcuttur (71, 72)

k- Fasiitis benzeri stroma içeren papiller karsinoma: Bu varyantta nodüler fasiitisi andıran bol miktarda sellüler stroma gözlenir. PTK alanları çevresindeki stromada iğsi hücrelerden oluşan fasiküller izlenir. Miksoid matriks ve dens keloid

benzeri kollajen de stromada dikkati çekebilir. Monoton görünümdeki stromal hücreler ince kromatinlidir ve küçük nükleoller içerir. Mitotik figürler nadir olarak saptanır (72).

2.7. Tiroid İnce İne Aspirasyon Biyopsisi Raporlama Sistemi

Tiroid İİAB'lerin raporlanmasında standardizasyonu sağlamak amacı ile günümüze kadar çeşitli klasifikasyon şemaları önerilmiştir (75-77). Bu şemalardan hiçbiri üzerinde geniş çaplı bir konsensus oluşmamıştır. Tiroid İİAB raporlamasında kullanılan terminolojinin patoloğlar arasında farklılıklar göstermesi klinisyenler açısından zaman zaman karışıklık yaratabilmektedir (78, 79). Bu nedenle patoloğlar ve klinisyenlerin tiroid İİAB raporlarında ortak tanı terminolojisi kullanabilmesi için ilk kez 2007 yılında Bethesda, Maryland' de National Cancer Institute (NCI) sponsorluğunda bir konsensus toplantısı başlatılmış ve 2009 yılında 'Bethesda sistemi' adı altında bir raporlama formatı geliştirilmiştir (80, 81). Bu raporlama şeması tablo 4' de özetlenmiştir. Bethesda sistemi ile tiroid İİAB raporunun genel tanı kategorisi ile başlaması önerilmektedir. Bu amaçla altı adet genel tanı kategorisi belirlenmiştir. Gerektiği durumlarda her bir ana tanı kategori grubunun da alt kategoriler, açıklayıcı notlar ile desteklenmesi tavsiye edilmektedir. Tanı kategorilerinin malignite riski ve bu olgulara klinik yaklaşım raporlarda ayrıca belirtilebilecek diğer hususlardır (81, 82).

Tablo 3.Tiroid Sitopatolojisi Raporlama Bethesda Sistemi; Önerilen Tanısal Kategoriler (82)

I. Nondiagnostik veya yetersiz
Kist sıvısından ibaret
Hemen tamamen/aslında asellüler spesmen
Diğer (yoğun kanama, pıhtı artefaktı, vb.)
II. Benign
Benign folliküler nodül ile uyumlu (adenomatoid nodül, kolloid nodül, vb.)
Uygun klinik durumda lenfositik (Hashimoto) tiroiditis ile uyumlu
Granüloamatöz (subakut) tiroiditis ile uyumlu
Diğer
III. Önemi belirsiz atipi veya önemi belirsiz folliküler lezyon
IV. Folliküler neoplazi veya folliküler neoplazi için kuşkulu
Hürthle hücreli (onkositik) tip belirtilmeli
V. Malignite için kuşkulu
Papiller tiroid karsinoma için kuşkulu
Medüller tiroid karsinoma için kuşkulu
Metastatik karsinoma için kuşkulu
Lenfoma için kuşkulu
Diğer
VI. Malign
Papiller tiroid karsinomu
Az diferansiye karsinoma
Medüller tiroid karsinomu
İndiferansiye (anaplastik) karsinoma
Skuaamöz hücreli karsinoma
Mikst özellikte karsinoma (belirtiniz)
Metastatik karsinoma
Non-Hodgkin lenfoma
Diğer

2.7.1.Nondiagnostik veya Yetersiz

Her tiroid İİAB materyali yeterlilik açısından değerlendirilmelidir.Yaymaları kaplayan kan, oldukça kalın hazırlanmış yaymalar, alkol ile fikse edilmiş yaymalarda havada kuruma artefaktı ya da yetersiz sayıda follikül hücresi bulunan materyaller nondiagnostik veya yetersiz tanı grubu içinde değerlendirilir. Tiroid İİAB'nin yeterli olması için en az 10 benign follikül hücresi içeren en az 6 grubun görülmesi gereklidir. Bol miktarda kolloid izlenen, kronik lenfositik tiroiditis veya

granüloamatöz tiroiditis gibi inflamasyon içeren nodüller ile sitolojik atipi bulunduran ancak yeterli miktarda follikül hücresi içermeyen nodüller de yeterli olarak kabul edilir. Sadece makrofajlardan oluşan ve kist içeriğini yansıtan yaymalar ise nondiagnostik kategorisinde yer alır (81, 82).

2.7.2.Benign

Bu grup içinde benign folliküler nodül (BFN), tiroiditler ve seyrek olarak izlenen diğer durumlar yer alır (81, 82). BFN değişken oranlarda kolloid, benign görünümlü folliküler hücreler, Hürthle hücreleri ve makrofajlar içerir (82). Follikül hücreleri genellikle makrofolliküler dizilim yapar (81, 82). BFN olgularının büyük çoğunluğunu nodüler guatr ve folliküler adenomalar meydana getirir. Tiroiditis olgularını ise lenfositik tiroiditis ile daha az oranda granüloamatöz tiroiditis olguları oluşturur.

2.7.3.Önemi Belirsiz Atipi veya Önemi Belirsiz Folliküler Lezyon

Bazı tiroid İİAB yaymaları benign, kuşku veya malign kategorileri içinde kolaylıkla değerlendirilemez (81). Bu grup lezyonlarda nonneoplastik bir lezyonda beklenenden daha fazla yapısal veya nükleer atipi gözlenmekle birlikte atipi derecesi malign veya kuşku tanısı için de yeterli değildir (80,81,82,83). Beklenenden daha fazla mikrofollikül içeren, baskın olarak Hürthle hücreleri izlenen veya fokal olarak PTK' yı düşündürülen değişiklikleri olan nodüller bu kategoriye örnek olarak verilebilir(80, 82). Bazı olgular ise bu kategoride kötü fiksasyon, yoğun kan varlığı gibi nedenler ile yer alır.

2.7.4.Folliküler Neoplazi veya Folliküler Neoplazi İçin Kuşku

Bu tanısal kategoriyi kullanmaktaki amaç FK olma olasılığı olan nodülleri saptamak ve bu olguları lobektomiye yönlendirmektir (81). Bu kategorideki lezyonların çoğunu FA veya adenomatoid nodüler guatrlar oluşturmaktadır. Malign olan olguların çoğu FK olmakla birlikte, bu olguların önemli bir kısmını da FV-PTK meydana getirmektedir. Sellüler nitelikteki yaymalarda follikül hücreleri belirgin nükleer yığılma yapar veya baskın mikrofollikül yapıları oluşturur (82). Ancak yaymada sadece sellülaritenin bulunması bu tanıyı koymak için yeterli değildir (81, 82). Zeminde kolloid yoktur veya çok az izlenir.

Hürthle hücreli tümörlerin folliküler tümörlerden daha farklı sitolojik görünümüne sahip olması ve bu iki tümörde farklı genetik mekanizmaların gösterilmiş olması nedeni ile Bethesda sisteminde, hemen tamamen Hürthle hücresi içeren neoplazi veya neoplazi kuşkusu içeren folliküler lezyonların ‘folliküler neoplazi, Hürthle hücreli tip/ folliküler neoplazi için kuşkulu, Hürthle hücreli tip’ başlığı altında değerlendirilmesi uygun görülmüştür (80, 81, 82).

2.7.5.Malignite İçin Kuşkulu

Birçok tiroid kanseri özellikle de PTK, İİAB ile kolaylıkla tanınabilir (81, 82). Ancak bazı olgularda nükleer değişiklikler belirgin olmayıp fokal olarak gözlenir. Bu durum FV-PTK’ da daha sık olarak izlenir (80, 81). PTK’ nın karakteristik bir veya iki özelliği mevcutsa, bu bulgular sadece fokal olarak saptanıyorsa malign tanısı kesin olarak verilemez (81, 82). Bu olgular malignite için kuşkulu olarak raporlanır. Benzer prensipler medüller karsinoma ve lenfoma için de geçerlidir.

2.7.6.Malign

Sitolojik özellikler malignite ile uyumlu olduğunda kullanılan bir tanısal kategoridir (81, 82). Malign olan olguların çoğunu PTK oluşturur (82).

2.8.İndetermine Tiroid Lezyonlarının Ayrımında Değerli Olan Antikorlar

Tiroid İİAB materyallerinde benign- malign ayrımı yapılamayan lezyonlar, indetermine tanı grubunu oluşturur. Bu grup içerisinde önemi belirsiz atipi/ önemi belirsiz folliküler lezyon, folliküler neoplazi/ folliküler neoplazi yönünden kuşkulu ve malignite yönünden kuşkulu tanı kategorilerindeki lezyonlar yer alır. İndetermine olarak tanımlanan lezyonlarda tanısal doğruluğun artırılmasında ve gereksiz cerrahi girişimlerin azaltılmasında immünohistokimyasal yöntemlerin önemi giderek artmaktadır. İmmünohistokimyasal belirteçler içerisinde en fazla galektin-3, sitokeratin 19 (CK19), HBME-1, tirodperoksidaz (TPO), CITED-1, fibronektin-1, CD56, CD57, IMP3, siklin D3, RET ve PPAR γ gibi antikorların benign- malign tiroid nodülü ayrımında değerli oldukları iddia edilmektedir (13, 14). Ancak bu antikorların hiçbirisi tek başına %100 güvenilir bulunmamış ve tanısal doğruluğun artırılabilmesi için bir panel halinde kullanılmaları gerektiği söylenmektedir (13, 14).

Diferansiye tiroid kanserlerinin kesin etyolojisi hala bilinmemektedir. İyonize

radyasyona maruziyet bir risk faktörü olarak bildirilmiştir (84). X ve gama ışını gibi iyonize radyasyon, tek ve çift zincir kırılması, kromozom kırıkları, serbest radikal oluşumuna bağlı nükleotid değişikliklerini içeren çeşitli DNA hasarına neden olur (85). DNA'nın sarmal yapısındaki küçük değişikliklere bağlı oluşan hasarlar, hücre popülasyonundaki genetik bütünlüğü korumak için iyi korunmuş DNA onarım sistemleri tarafından düzeltilmektedir.

2.9.DNA Hasarı Mekanizması

a) DNA Replikasyon Sistemindeki Hasar: DNA sentezinin çok hızlı olması nedeniyle DNA polimeraz, bazı bazları maternal zincirin arkasında bırakabilir, eşlenmemiş bazlar aracılığı ile DNA replikasyon kayması olarak bilinen hasar oluşabilir (86). İkinci ve en yaygın mekanizma eşleşme (missmatch) hasarı diye bilinen uyumsuz baz eklenmesidir.

b) Çevresel ve Diğer Faktörlere Bağlı DNA Hasarı: DNA hasarının çoğunda radyasyon(UV, iyonize) ve kimyasal karsinojenler(alkilleyici ajanlar, aflatoksin-B) direkt , pre ve ko-karsinojenik olarak etki edebileceği gibi, spontan değişiklikleri de indüklemesi oldukça mümkündür (86). Sporadik DNA bazlarının modifikasyonu eses olarak deaminasyonu içerir. 5 metil sitozinin deaminasyonu ile sitozin, çok önemli olan timine dönüştürülür. Metil sitozinler zamanında transmutasyon ve depürinasyon işlemi için oluşurlar. Bu aşamada gelişecek hasar düzeltilemez (86).

2.10.DNA Onarım Sistemleri

Bir hücrenin hayatta kalması için DNA'sına uygun çoğaltılması gereklidir.

2.10.1.Direkt Onarım Mekanizmaları

a) Replikasyon Onarımı: DNA polimeraz III bilindiği gibi yeni zincir üretimi esnasında tamam layıcı nükleotid seçme özelliğine sahiptir. Ayrıca olası hataları ayırabilme ve eşleşmeyen nükleotidler için ekzonükleaz etkinliği de vardır (87, 88).

b) O6-MGMT Onarımı: Metil guanin-DNA metil transferaz(MGMT), endojen ve çevresel alkilleyici ajanların neden olduğu guaninin O6 pozisyonundaki hasarların onarımındaki sorunu, alkil gruplarını kaldırarak düzelteren direkt onarıcı enzimdir. MGMT kendi kendini yok etme mekanizması ile etki eder. (87, 88).

2.10.2. İndirekt Onarım Mekanizmaları

2.10.2.1.Eksizyon Onarım Sistemleri

Eksizyon onarım sistemi çeşitli hücre tiplerinde bulunan DNA onarım mekanizmasının bir formunu temsil eder. Öncelikle nükleazlar tarafından polinükleotid segmentindeki hasarlı bölge tanınır ve kaldırılır. Daha sonra DNA polimeraz tarafından yeni ve doğru nükleotid sekansı hasarsız zincirin karşısına gelecek şekilde yeniden sentezlenir. Önceden var olan zincirin akışına karşılık gelen hasarlı segment ligaz tarafından ligasyon işlemi ile hasar onarılmış olur (89). Bu onarım şekli iki kategoriye ayrılır. Baz eksizyon onarımı(BER) ve nükleotid eksizyon onarımı (NER).

BER, esas olarak metilasyon, hidrosilasyon, alkillenme, oksidasyon ve deaminasyon şeklinde oluşan nonbulky lezyonları düzeltir (90, 91). Genel olarak, hasarlı bölgedeki uygunsuz nükleotidin tanınması ve kaldırılması ile başlatılır.

BER, iki farklı yol ile oluşur; kısa ve uzun yama yolu, kısa yama onarım yolunda onarım açıklığı sadece bir nükleotid ile, uzun yama onarım yolunda ise 2-8 nükleotid ile hasarlı nükleotid onarımı yapılır (87, 92).

NER, esas olarak büyük komplekslerin ortadan kaldırılması için kullanılır. Özellikle dış etkenler nedeniyle oluşan hasarlarla karşı karşıya kalır. Genel olarak genom nükleotid eksizyon onarımı, transkripsiyon sistemi ile ilişkili tüm genom ve transkripsiyon eşleşme onarımına (TCR-NER) yardımcı olur.

2.10.2.2.Rekombinasyon Onarım Sistemi

Rekombinasyon onarımı DNA çift zincir kırılmaları(DSBs) ve zincirler arası çapraz bağları düzeltir. DSBs ökaryotik DNA'da ortaya çıkabilir ve iyonize radyasyon yada kimyasal mutajene(anti tümör ajanlar, örneğin sisplatin, mitomisin-c) maruz kalma, reaktif oksijen türleri gibi endojen ajanlara maruziyet ile doğrudan ya da dolaylı olarak oluşturulur (93). Bunlar B ve T lenfositlerdeki, T hücre reseptör gen segmentleri ve immünglobulin gen segmentleri ile birlikte olan genom düzenlemeleri gibi rekombinasyon sırasında kontrollü bir şekilde hücre tarafından üretilir (93). DSBs diğer hasar türlerinin eksik onarımından dolayı olarak oluşturulur (93). DSBs rekombinasyon onarımı iki alt yol içerir; homolog rekombinasyon (HR) ve sonuna eklenerek non-homolog (NHEJ) (94). HR tüm ökaryotlarda DSBs onarımında major rol alır, hücre canlılığı ve genom stabilitesi için gereklidir. Sonuç olarak, mutasyonlar, kromozomal kararsızlık ve kanserin önlenmesinde

önemli rol oynar (95, 96).

Ayrıca HR, homolog DNA modeli kullanır, bu ökaryotlarda son derece doğru ve korunmuştur. Hücre siklusunun S ve G2 fazlarında hakimdir (95, 96).

NHEJ hücre siklusunun G1 fazında daha aktif ve sıklıkla bazı nükleotidlerin kaybı ile birlikte (95, 96).

2.10.2.3. Missmatch Onarım(MMR) Sistemi

Missmatch (yanlış eşleşme) onarımı replikasyon esnasında sırasıyla baz baz yanlış eşleşmesi, yanlış eşleşmede oluşan insersiyon/delesyon döngüleri veya zincir kaymalarını ortadan kaldırır (97, 98). Rekombinasyon dizileri arasında heterolojik diziler sonucu oluşturulan heterodubleks DNA(hDNA)'daki uyumsuzlukları da ayarlar (97, 99). MMR sistemi ebeveyn ve kız çocuk baz zincirlerindeki baz eşleşmesi eksikliğini de bulur (100-102). MMR, mutS (hMSH2, hMSH3, hMSH6) ve mutL (hMLH1, hPMS2, hMLH3) gibi gen alellerinin önemli rol oynadığı çeşitli proteinlerle ilgili çok aşamalı bir süreçtir (100-102). MMR mekanizması genellikle diğer onarım mekanizmaları ile etkileşen en karmaşık mekanizmalardan biridir.

2.11. DNA Onarım Sistemi ve Tioid Kanseri

2.11.1. BER ve Tiroid Kanseri

Memelilerde faaliyet gösteren beş ana DNA onarım mekanizmaları arasında BER, metilasyon, alkillenme, oksidasyon, deaminasyon ve hidroksilasyon gibi hücre metabolizmadan oluşan hasarlara karşı birincil koruyucudur (31).

X ışını çapraz tamamlayıcı grup 1(XRCC1) geni 19q13.2 kromozomunda lokalize ve BER yoluna katılan yirmiden fazla genden biridir (103). Çalışmalar XRCC1'in BER yolunda direkt role sahip olduğunu ortaya koymuştur çünkü DNA ligaz III, Poli (ADP-riboz) polimeraz ve DNA polimeraz içeren DNA onarım proteinleri ile etkileşir (103). İki genetik polimorfizmin diferansiye tiroid karsinomu gelişimi ve ilerlemesinde bir etkiye sahip olduğu tarif edilmiştir. Özellikle kodon 194 ve ekson 6' daki aminoasit(aa) ikamesi C-T yer değiştirmesi ve protein zincirindeki Trp ile Arg yer değiştirmesi ile ortaya çıkar. Arg194Trp heterozigot ve Trp194Trp homozigot polimorfik genotipleri DTC (diferansiye tiroid karsinomu) gelişiminde risk artışı gösterdi (104).

Adenozin difosfat ribozil transferaz(ADPRT)-762 Ala, DTC ve bölgesel lenf nodu

metastazlarının büyük ölçüde artışına duyarlı enzimlerdendir(105).

İkinci aa ikamesi kodon 399 ve ekson 10'da gözlenir ve G-A ile yerdeğiştirmesi sonucu Arg, Glu ile değişir. 399Glu varyant alel DTC'da risk azalışı ile ilişkili olabileceği görüldü (104).

Apirimidinik/apürinik endonükleaz redoks efektör faktörü 1(APE/Ref1), belirli yollarla ilgili multifaktöryel bir protein

- a) BER yolu; DNA lezyonlarındaki endonükleaz etkinliği ile
- b) Erken büyüme yanıt proteini-1(Egr-1), p53, API, TTF1, PAX8 gibi farklı transkripsiyon faktörlerinin redoks ko-aktivatörü olarak ökaryotik ekspresyonun düzenlenmesi
- c) Proliferasyon ve apoptozun kontrolü (106, 107).

APE/Ref1 geni 14q11.2-q12'de lokalize ve bu protein ürünü normal tiroid foliküler hücrelerinin sitoplazmik ve nükleer bölümlerinin her ikisinde eksprese edilir. Ekspresyon ve APE/Ref1 lokalizasyonunun her ikisi de TSH tarafından kontrol edilir. Bu protein neoplastik transformasyonla karakterize hücre farklılaşması ve proliferasyonunun anormal regülasyonu gibi çeşitli biyopatolojik olaylar arasındaki bağlantılardan birini temsil eder. Malign foliküler hücre durumunda APE/Ref1 davranışını tanımlamak için iki aşamalı model geliştirilmiştir (108). Transformasyon erken dönemi, basit hiperplazi ve APE/Ref1'in upregülasyonu ile karakterize. Sonraki aşamada farklılaşma-diferansiyasyon kaybı, nükleer bölgedeki azalma ile paraleldir. Normal olanlarla karşılaştırıldığında hücre giderek farklılaşmamış olduğunda nükleer protein düzeyleri düşük bulundu (108). Bu olay, neoplastik dokularda tiroid spesifik genlerin ekspresyonunu etkileyen aşağı akış regülasyonu ile birlikte tiroid spesifik transkripsiyon aktivasyon faktörlerinin azalması ile açıklanabilir. Değişen nükleer seviyeler, sitoplazma ve nükleusta meydana gelen iyi diferansiye, yüksek proliferatif foliküler hücrelerin protein translokasyonu bu hücrelerde genotoksik ajanların harekete geçmelerini ve malign fenotipte ilerlemelerini kolaylaştırabilir. Buna rağmen, araştırmalar gösteriyor ki, foliküler hücrelerin mitokondrilerinde, sitoplazmik APE/Ref1 fraksiyonu lokalizedir (109). Mitokondrial DNA (mtDNA) mitokondrial matrikste lokalizedir, oksidatif fosforilasyon süresinde üretilen ROS'un büyük kısmından dolayı oluşan oksidatif hasara karşı savunmasızdır. Sonuç olarak, oksidatif hasar mtDNA için major mutasyonel sürücüyü temsil eder. mtDNA'daki mutasyonlar geniş spektrumlu kazanılmış bozukluklar ve kanserle ilişkilidir.

2.11.2. NER ve Tiroid Kanseri

Eksizyon onarımı çapraz tamamlayıcı 2(ERCC2) veya XPD proteini 19q13.3 kromozomunda lokalizedir. Bu protein NER' de önemli bir role sahip TFIIH transkripsiyon faktör kompleksi ile ilişkili ATP bağımlı helikaz dönüşümünü korur (110). Bu gen de defekt 3 bozuklukla sonuçlanabilir; kansere yatkın xeroderma pigmentosum, trikotiodistrofi ve cocayne sendromu (111). ERCC2 lokusunda birçok polimorfizm tanımlanmıştır; Kodon 312 de G23591A polimorfizm ile sonuçlanan Asp ile Asn yer değişimi ve kodon 751'de A35931C polimorfizmi ile sonuçlanan Lys ile Gln yer değişimi, ortaya çıkan birkaç tip kanserin artan riski ile bağlantılıdır.

2.11.3.MMR ve Tiroid Kanseri

MLH1 (mut L homolog 1) 3p21.3 kromozomu üzerinde bulunan, E. Coli DNA MMR gen mutL insan homologudur. hMLH1 deki, epigenetik değişiklik, tiroid kanserinin, ilerlemesi, gelişmesi ve metastazında çalışılmıştır. Özel olarak hMLH1'in hipermetilasyon desteği, lenf nodu(LN) metastazı ve kolon kanseri, BRAF-destekli tiroid tümör oluşumu ile güçlü şekilde ilişkilidir (112). Benign tiroid tümörleri ile kıyasla malign olanlarda artan hMLH1 ekspresyon seviyeleri rapor edilmiştir (113). MSH2(mutS homolog 2), 2p22-p21 kromozomda lokalizedir ve MSH3 veya MSH6 ile heterodimer fonksiyonu görür. MSH2, postreplikatif mismatch tamirinde 'yazım denetimi' nde, DNA hasarına hücresel genel cevapta, aktif hücre döngüsünde kontrol noktasının veya apoptozisin sinyal kaskadının başlatılmasında rol oynar (114). Hasarlı MMR sistemi normal DNA eşleşmesi ile karşılaştırıldığında, tümör DNA'sında mikrosatellit dizilerin boyutunda sık varyasyon oluşumu ile fenotipik olarak tanınır (115). Mikrosatellitler, tekrarlayan çok kısa nükleotid sekansları ile ökaryotik genom boyunca dağılmış, birkaç taneden 60' a kadar bazla birleşir (116). Tekrarlayan yapıdan, mikrosatellitlerden dolayı, özellikle zincir kayması ile yanlış eşleşmeye eğilimli olması, DNA replikasyon ve onarılmayan yeni allellerin ortaya çıktığı süreçte, duyarlı mutasyonlar(küçük delesyon ve insersiyon)sonucu oluşur (117). Bu tip genetik instabiliteler, mikrosatellit instabilitesi (MSI) olarak adlandırılır. MSI, DNA replikasyon veya tamirinin yanında, replikasyon hata pozitifliği (RER+) olarak bilinen, ömür boyu devam eden tümör fenotipini yansıtır (118, 119). Beslenme yetersizliği ve çevresel karsinojenlere maruz kalma gibi hayat tarzı değişiklikleri,

kanser gelişimine predispozan faktördür ve kontrol genom stabilite genlerinin mutasyonu MSI'yı içerebilir (120, 121).

2.11.4. Homolog Rekombinasyon ve Tiroid Kanseri

X ray onarıcı çapraz tamamlayıcı 3(XRCC3) geni kromozom 14q32.3 de yer alır. Bu gen, kromozom stabilitesini sağlayan, çift zincirleri kıran, çapraz bağ oluşturan , homolog rekombinasyon tamiri yapan protein ailesinin RecA/RAD51 üyesini kodlar (122-124). Radyasyon hasarından sonra XRCC3 eksik hücreler, RAD51 odaklı hasarı ,var olan genetik instabiliteyi ve DNA hasarı oluşturmaya duyarlı ajanların artmış sensitivitesini düzeltemez. XRCC3 exon 7 de 18,067. pozisyonda C-T polimorfik nükleotidi olup bu Thr241Met aminoasidini kodlar bu işlem sonucunda DNA hasarının tamir sürecinde bulunan protein ve onunla ilişkili enzimlerin fonksiyonları etkilenir (125). Bu polimorfizm gama radyasyona karşı cevaptan ve duyarlılıktan sorumludur ve DTC riskinin iki kat artışından sorumludur (84). RAD52 kromozom 12p13-p12.2 de yer alır ve homolog rekombinasyon yoluyla DNA DSBs tamirinde önemli olan proteini kodlar. Bu protein tek zincirli DNA' nın(ssDNA) sonunda gösterilir ve DNA –DNA iletişimi için gerekli olan tamamlayıcı DNA zinciri ile bağlantı kurar.

TP53 tarafından kodlanan p53 insanlardaki transkripsiyon faktörüdür. Bu gen 17p13.1 kromozomunun kısa kolunda yer alır ve DNA tamirinden apoptoze kadar hücre döngüsünde bir çok fonksiyona sahiptir. Normal hücrelerde p53 negatif regülatörler(mdm2) tarafından inaktivedir. Bu yüzden DNA hasarı ve diğer streslerde çeşitli yollarla p53-mdm2 kompleksinin kompanzasyonunun bozulmasına neden olur. p53 aktive olunca hücre siklusunu durdurmaktan ,tamir ederek hücre yaşamasına yada apoptoze kadar olan basamaklardan sorumludur. Kanser hücrelerinde , p53'deki mutasyonlar DNA bağımlı bölgede görülür. Bu mutasyonların çoğu hedef DNA daki protein bağlanma yerlerine protein bağlanma yeteneğini bozar (126).

2.11.5. Non-homolog Sonuna Ekleme(NHEJ) ve Tiroid Kanseri

İnsan hipofiz tümör değiştirici geni(PTTG) kromozom 5q35.1 de bulunur ve diğer bilinen homolog proteinlerle farklılığı bulunmayan 202 aminoasitli proteini kodlar (127). PTTG yeni keşfedilen bir onkogendir ve özellikle endokrin organlarda olmak üzere bir çok dokuda malignensi göstergesi olarak bulunur. Bu aynı zamanda insanda hücre döngüsü aşamasında, metafazdan anafaza geçişte mitotik kontrol geninin

fonksiyonunu ve güvenliğini sağlar (128). Özellikle PTTG anafaz inhibitörüdür ve prematür kromozomların ayrılmasının inhibisyonunu sağlar böylece anafazın başlaması PTTG'nin bozulmasına bağlıdır. Bu nedenle PTTG partikülleri hücrel olaylarda anahtar rol oynar örneğin mitoz, hücre siklus döngüsü, DNA tamiri ve apoptozis (128). PTTG insan tiroid malignansilerinde yüksek düzeyde bulundu (129-134). Tiroid kanserlerinde PTTG'nin rolünün çalışıldığı çalışmalar agresif tümör davranışları gösteren bir tümör göstergesi olduğunu belirtmiştir. Tiroiddeki PTTG'nin fonksiyonel çalışmaları, genetik instabiliteyi tetiklemesiyle birlikte anjiogenezis yolağında inhibisyonunu ve gelişimini teşvik ettiğini göstermiştir (135). PTTG nin bağlandığı Ku70, DSBs'nin tamir yolağında NHEJ 'de bulunan DNA-PK subunitini düzenler (136). Özellikle PTTG'nin Ku70 aktivitesini baskıladığı yada azalmış PTTG ekspresyonu DNA tamir yolağında bulunan genin upregülasyonunu bozduğu gösterilmiştir (137, 138). Tiroid kanserlerinde intra kromozomal yeniden yapılanma oldukça sık görülür. Özellikle RET proto onkogenin yeniden düzenlenmiş sitogenetiği ELE-1 /RET (RET/PTC3)'i aktive edebilir. RET/PTC kromozom 10'un uzun kolunun parasentrik inversiyonundan üretilir. Bu iki genin birbirine uzaklığı 500kb'dır. Bu kompleks RET tirozin kinaz reseptör geninin intrasellüler parçası ile ELE-1 geninin füzyonundan şekillenir (139, 140). Sonucusu ise her yerde bulunur ve kısaltılmış RET reseptörünün ekspresyonunun devamını sağlar. RET geni hücre yüzeyinde bulunan ve hücre farklılaşması ve büyümesi sinyalinin üreten tirozin kinaz reseptörünü kodlayan cadherin ailesinin bir üyesidir. Böylece radyasyonla ilişkili tümörlerdeki RET/PTC3 hatalı resiprokal rekombinasyon sonucu olur (141). Çoğu çalışmalarda artmış radyasyona bağlı Çernobil sonrası yaygın papiller tiroid karsinomu bu onkogenlerle ilişkilidir (141-145). Onkojenik mutasyonların indüklenmesinin muhtemel mekanizması tamir edilmemiş DNA hasarından NHEJ mekanizmasının ortaya çıkmasıdır. Aynı zamanda aynı yerde direk çift zincirli DNA hasarından oluşan yanlış ligasyon sonucu ortaya çıkan formudur (141). Yukarıda bahsedildiği üzere RET/PTC3, ağırlıklı olarak post-Çernobil tümörlerinde görülmektedir. Kazaya maruz kalmamış çocuklar hariç özellikle pediatrik papiller karsinomlar kazadan sonra ortadan kalkmıştır (145-149). Yeniden düzenlenen bu spesifik RET tipi, farklı fenotip ve radyasyon tarihine özgü tiroid tümörlerini teşvik eden solid büyüyen papiller tiroid karsinomuyla ilişkilidir ki bu sporadik yetişkin ya da pediatrik popülasyonda nadirdir (147). Ayrıca, RET onkogenindeki germ line mutasyonu kodon 833 ve ekzon 15'te

gözlenmiştir. Meduller tiroid karsinomda (MTC) görülen bu nokta mutasyonu, MTC fenotip yokluğu ile çok düşük transformasyon aktivitesi göstermektedir (150).

3. MATERYAL VE METOD

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD Laboratuvarının arşivinde bulunan, 2009-2012 yılları arasında papiller karsinom, nodüler koloidal guatr ve tiroidit tanısı almış 90 olguya ait (her gruptan 30 adet) total ya da subtotal tiroidektomi materyali, retrospektif olarak değerlendirildi. Az diferansiye ve indiferansiye karsinomlar dışlandı. Olgulara ait Hematoksilen-Eozin ile boyanmış kesitlerin tümü yeniden değerlendirilerek temsil edici doku blokları seçildi. Seçilen bloklar MGMT, MSH2, MLH1 proteinleri ile boyanarak immunhistokimya değerlendirmesi yapıldı. Boyamadaki teknik problemler nedeniyle 6 olgunun preparatı çalışma dışı bırakıldı. (papiller karsinom: 29 adet, kronik lenfositik tiroidit: 29 adet ve koloidal guatr: 26 adet).

3.1. İmmunhistokimyasal Boyama

Değerlendirilecek dokular %10'luk tamponlu nötral formalinde tespit edildikten sonra, rutin doku takip işlemi yapılarak parafine gömüldü. 3-5 µm kalınlığında alınan kesitler, 56 °C' de etüvde 15 dakika bekletildi. Preparatlar 1- Mismatch Repair Protein (MSH2) MSH2-CE, CLONE: 25D12, 2- Mismatch Repair Protein (MLH1) MLH1-L-CE, CLONE: ES05 ve 3- MGMT ab88764, immün boyaları ile Bond-maX (Leica Microsystems) otomatik immunohistokimya cihazı kullanılarak boyandı. Cihazda Bond Polymer Refine Detection Kits (Leica, DS9800) kullanılarak sırasıyla şu işlemler gerçekleştirildi:

1. Deparafinizasyon (Bond Dewax Solution, Leica Microsystems),
2. Rehidratasyon (alkol),
3. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
4. Antijenik maskelenmenin giderilmesi (Bond Epitop Retrieval Solution, Leica Microsystems),
5. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
6. Endojen peroksidaz aktivitesinin inhibe edilmesi (Peroxide Block, Leica Microsystems),
7. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
8. Primer antikör (anti-eNOS; Genetex Inc., Irvine, California, anti-iNOS; 1:100 dilüsyon, Genetex Inc., Irvine, California),
9. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
10. Sekonder antikör (Post Primary, Leica Microsystems),

11. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
12. Polymer (Leica Microsystems),
13. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
14. Yıkama (distile su),
15. DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) ile renk reaksiyonu (Mixed DAB Refine, Leica Microsystems),
16. Yıkama (distile su),
17. Zıt boyama (Mayer hematoksilen),
18. Yıkama (distile su),
19. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
20. Yıkama (distile su) işlemleri cihaz içinde otomatik olarak gerçekleştirildi. Boyalı preparatlar su bazlı kapama jeli kullanılarak lamel ile kapatıldı.

3.2. İmmunohistokimya Değerlendirilmesi:

Hazırlanan kesitler; tarafsız olarak bir patolog ve bir klinisyen tarafından trinokuler ışık mikroskopunda(Olympus BX-51) boyanma yöntemi dikkate alınarak kalitatif olarak incelendi.

Preparatlardaki değerlendirme yöntemi;

Pozitif foliküler hücre pozitifliği

0: %0-4 foliküler hücre pozitifliği (negatif boyanma)

1: %5-24 foliküler hücre pozitifliği

2: %25-49 foliküler hücre pozitifliği

3: %50-100 foliküler hücre pozitifliği

Boyanma yoğunluğu

0: negatif boyanma

1: hafif boyanma

2: orta boyanma

3: yoğun boyanma

İmmunreaktivite değerlendirilmesi

Pozitif foliküler hücre pozitiflik değeri ile boyanma yoğunluk skorları birlikte değerlendirildiğinde total skor;

0-2: negatif/zayıf

≥3: orta/güçlü

Boyanma paterni

Nükleer

Stoplazmik

Nükleer-stoplazmik olarak değerlendirildi (151, 152).

3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 16.0 for Windows programı ile değerlendirildi. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma), kantitatif verilerin (olguların yaşı) değerlendirilmesinde ANOVA testi uygulandı. Kalitatif (kategorik) verilerin değerlendirilmesinde Pearson Ki-Kare testi uygulandı. Gruplar arası kategorik parametrelerin değerlendirilmesinde kullanılan ki-kare testi; iki hücre içeriği <5 iken karşılaştırma yapılamayacağı için, bu özellikteki gruplarda sadece oranlar verilmiştir. Bu şartlara haiz gruplarda ise gruplar arası değerlendirmede Fisher's Exact Test uygulanmıştır. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR:

Çalışmada papiller tiroid karsinomu tanısı konmuş 29, kronik lenfositik tiroidit tanısı konmuş 29 ve multinodüler koloidal guatr tanısı konmuş 26 olgunun patolojik doku örnekleri incelenmiştir.

4.1.Yaş

Grupların yaş ortalaması birbirine benzer ($p=0,26$) bulundu.

Papiller karsinom olgularının yaş ortalaması 50,07 yıl, kronik tiroidit olgularının yaş ortalaması 46,21 yıl ve multinodüler koloidal guatr olgularının yaş ortalaması 52,96 yıl olarak tespit edildi. Grupların yaş ortalaması tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrlı Olguların Yaş Ortalaması

	Yaş Ortalaması (yıl)
Papiller Karsinom	50,07±16,42
Kronik Tiroidit	46,21±11,80
Kolloidal Guatr	52,96±17,09

4.2.Cinsiyet

Gruplarımız cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom grubunun % 69’u kadın, % 31’i erkek, kronik tiroidit grubunun %100’ü kadın ve koloidal guatrlı olgularının % 80,8’ i kadın, %19,2’si erkekti. Tüm grupların cinsiyet dağılımı tablo 5’de verilmiştir

Tablo 5: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit ve Koloidal Guatrlı Olguların Cinsiyet Dağılımı

	Kadın(%)	Erkek(%)
Papiller Karsinom	69	31
Kronik Tiroidit	100	-
Kolloidal Guatr	80.8	19.2

4.3. Anti-tiroid peroksidaz (Anti TPO) ve Anti-tiroglobulin (Anti Tg) Düzeyleri

Grupların tiroid otoimmunitesi açısından birbirinden farklı olduğu ($p<0,000$) görüldü. Beklendiği üzere kronik tiroidit grubu antikorların büyük oranda pozitif olduğu

gruptu. Papiller karsinom olgularında % 5,3 anti TPO ve anti Tg pozitif, kronik tiroidit olgularında % 50 anti TPO pozitif, % 46,2 anti Tg pozitif ve koloidal guatr olgularında % 6,2 antiTPO pozitif, %7,7 anti Tg pozitif olarak belirlendi. Tüm grupların anti TPO ve anti Tg pozitiflik oranları tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrlı Olgularda anti TPO ve anti Tg pozitifliği sıklığı

	Anti TPO pozitifliği (%)	Anti Tg pozitifliği (%)
Papiller Karsinom	5,3	5,3
Kronik Tiroidit	50	46,2
Kolloidal Guatr	6,2	7,7

4.4. MGMT Sonuçları

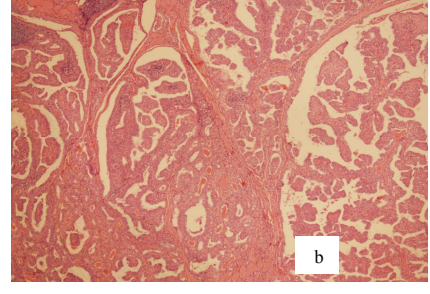
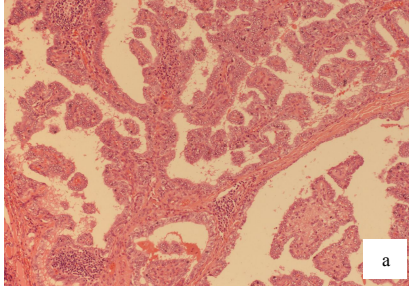
4.4.1. MGMT Foliküler Hücre Pozitifliği

Gruplar MGMT foliküler hücre pozitifliği açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom olgularında % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %13,8, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı %86,2, kronik tiroidit olgularında % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %17,2, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı %82,8 ve koloidal guatr olgularında % 5-24 foliküler hücre pozitif oranı % 8, % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %16, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı %76 olarak değerlendirildi. Tüm olgulardaki MGMT foliküler hücre pozitiflik oranları tablo 7’de verilmiştir.

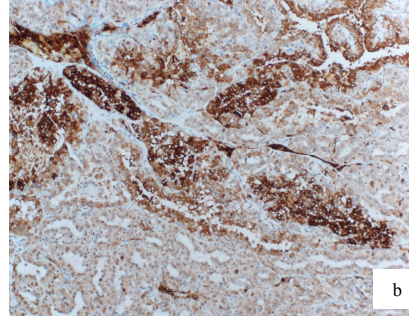
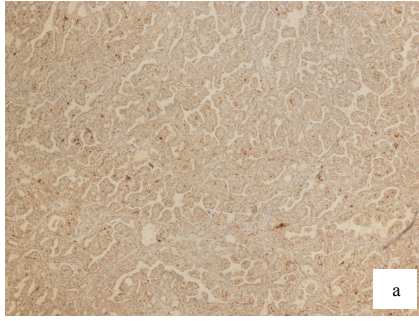
Tablo 7: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatrlı Olguların MGMT Foliküler Hücre Pozitiflik Oranları

	MGMT %5-24 Foliküler Hücre Pozitifliği(%)	MGMT %25-49 Foliküler Hücre Pozitifliği(%)	MGMT %50-100 Foliküler Hücre Pozitifliği(%)
Papiller Karsinom	-	13,8	86,2
Kronik Tiroidit	-	17,2	82,8
Kolloidal Guatr	8	16	76

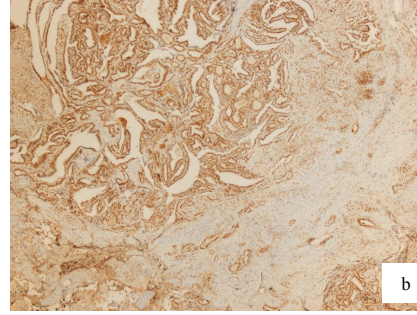
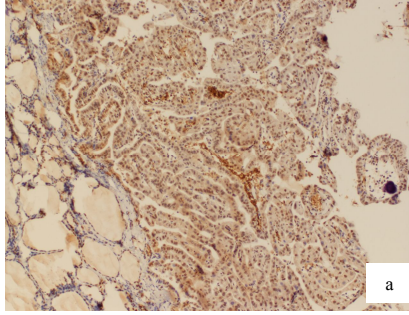
İmmünohistokimya değerlendirmeleri;



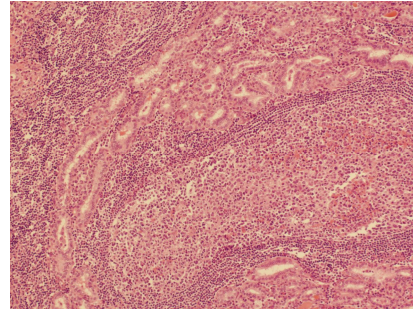
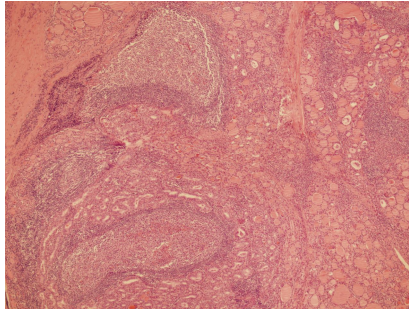
Resim 1: Tiroid papiller karsinomun hematoksilen eozin (HE) ile mikroskopik görünümü, x 10 (a), x 4 (b)



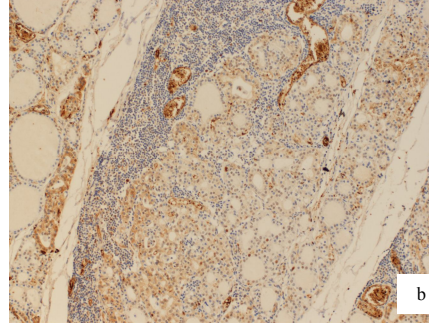
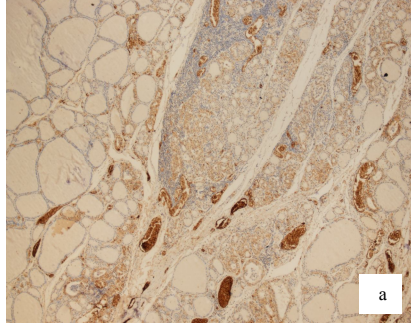
Resim 2: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immn boyanması, %25-49 foliküler hcre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 3: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immn boyanma, %50-100 foliküler hcre pozitifliği, x 10 (a), x 4(b)

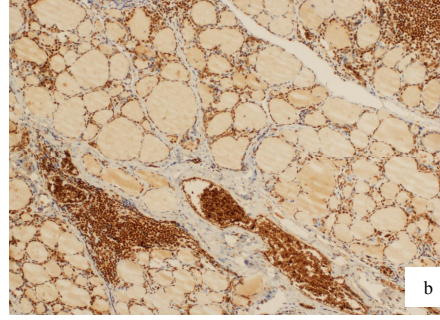
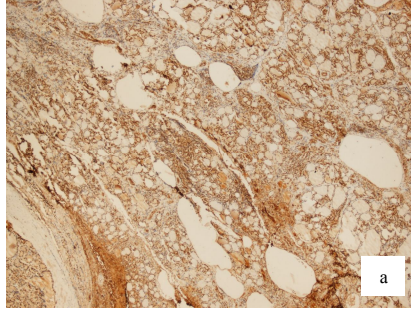


Resim 4 : Kronik lenfositik tiroiditin hematoksilen eozin (HE) ile mikroskopik görünümü, x 4 (a), x 10 (b)



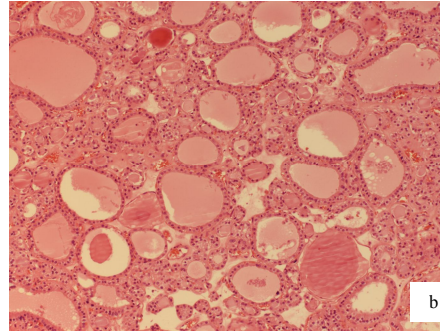
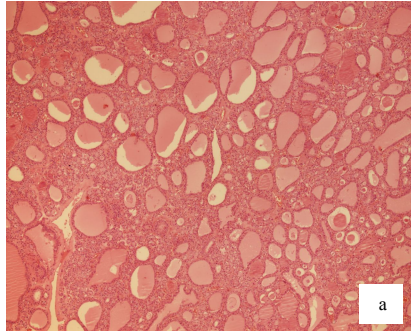
Resim 5: KLT'in MGMT ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10

(b)

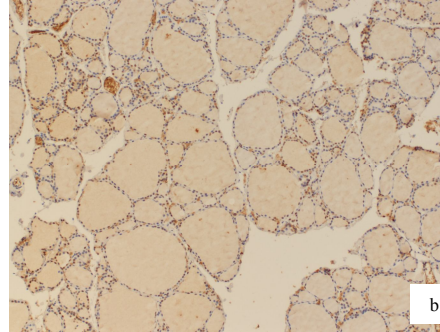
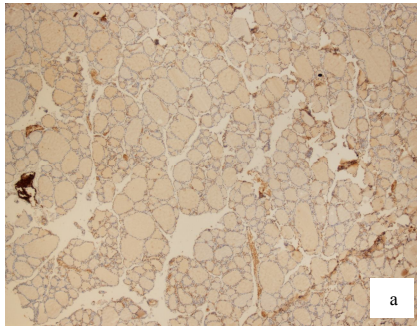


Resim 6: KLT'in MGMT ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x

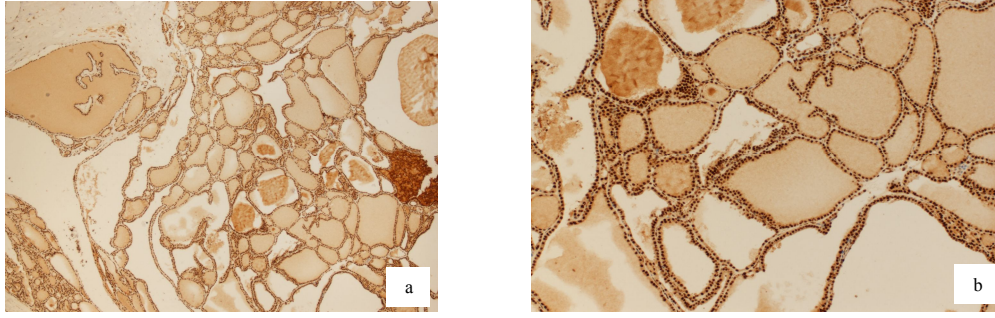
10 (b)



Resim 7 : Koloidal guatrın hematoksilin eozin (HE) ile mikroskopik görünümü, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 8: Koloidal guatrın MGMT ile immun boyanması, %5-24 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 9: Kolloidal guatrın MGMT ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MGMT foliküler hücre pozitifliği arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MGMT foliküler hücre pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen papiller karsinom olguları tablo 7’de de görüldüğü gibi daha yüksek oranda foliküler hücre pozitifliği gösterdi ve bu fark papiller karsinom ve kolloidal guatr arasında daha belirgindi.

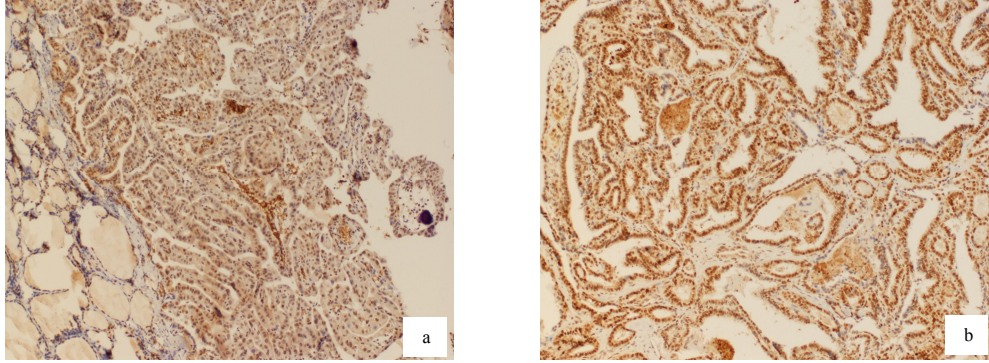
4.4.2. MGMT Boyanma Yoğunluğu

Gruplar MGMT boyanma yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom olgularında; hafif boyanma %13,8, orta boyanma % 48,3, yoğun boyanma %37,9, kronik tiroidit olgularında; hafif boyanma % 6,2, orta boyanma % 55,2, yoğun boyanma %37,9 ve kolloidal guatr olgularında; hafif boyanma % 8, orta boyanma % 64, yoğun boyanma %28 olarak değerlendirildi. Tüm gruplardaki MGMT boyanma yoğunluğu oranları tablo 8’de verilmiştir.

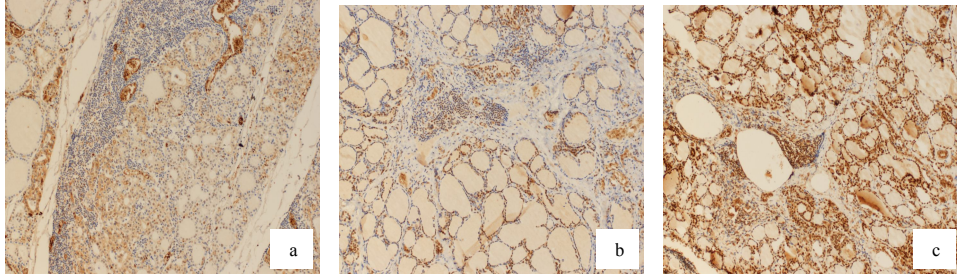
Tablo 8: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının MGMT Boyanma Yoğunluğu Oranları

	MGMT Hafif boyanma (%)	MGMT Orta boyanma (%)	MGMT Yoğun boyanma (%)
Papiller Karsinom	13,8	48,3	37,9
Kronik Tiroidit	6,2	55,2	37,9
Kolloidal Guatr	8	64	28

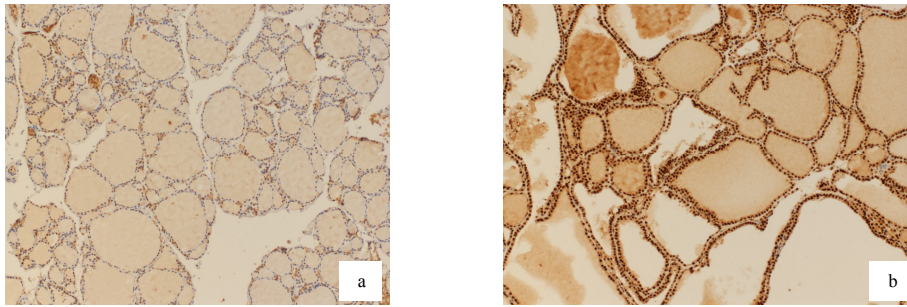
İmmunohistokimya değerlendirmeleri;



Resim 10: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immun boyanması, hafif boyanma x 10 (a), yoğun boyanma x 10 (b)



Resim 11: KLT'in MGMT ile immun boyanması, hafif boyanma x 10 (a), orta boyanma x 10 (b), yoğun boyanma x 10 (c)



Resim 12: Kolloidal guatrın MGMT ile immun boyanması, hafif boyanma x 10 (a), yoğun boyanma x 10 (b)

Tüm gruplar değerlendirildiğinde MGMT boyanma yoğunlukları arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MGMT boyanma yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 8'de de görüldüğü gibi papiller karsinom olguları ile kronik tiroidit olguları arasında yoğun boyanma açısından fark olmamasına karşın, papiller karsinom ve kolloidal guatr arasındaki fark papiller karsinom lehine daha belirgindi.

4.4.3. MGMT İmmunreaktivite Düzeyleri

Grupların MGMT immunreaktivite değerlendirilmesinde, papiller karsinom olgularında orta/güçlü oranı % 100, kronik tiroidit olgularında orta/güçlü oranı %100 ve koloidal guatr olgularında negatif/zayıf oranı % 8, orta/güçlü oranı %92 olarak belirlendi. Tüm gruplardaki MGMT immunreaktivite oranları tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MGMT İmmunreaktivite Oranları

	MGMT İmmunreaktivite Negatif/zayıf (%)	MGMT İmmunreaktivite Orta/güçlü (%)
Papiller Karsinom	-	100
Kronik Tiroidit	-	100
Koloidal Guatr	8	92

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MGMT immunreaktivite değeri arasındaki fark anlamlı idi ($p<0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MGMT immunreaktivite değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 9’da de görüldüğü gibi papiller karsinom olguları ile kronik tiroidit olguları arasında MGMT immunreaktivite değeri açısından fark olmamasına karşın, papiller karsinom ve koloidal guatr arasındaki fark papiller karsinom lehine daha belirgindi.

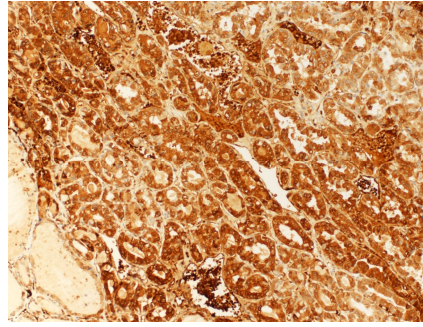
4.4.3. MGMT Boyanma Şekilleri

Gruplar MGMT boyanma şekilleri açısından incelendiğinde, papiller karsinom olguları, nükleer boyanma % 65,5, nükleer ve stoplazmik boyanma % 34,5, kronik tiroidit olguları, nükleer boyanma % 62,1, nükleer ve stoplazmik boyanma % 37,9 ve koloidal guatr olguları, nükleer boyanma % 84, nükleer ve stoplazmik boyanma %16 olarak değerlendirildi. Tüm gruplardaki MGMT boyanma şekilleri ve oranları tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MGMT Boyanma Tipi Oranları

	MGMT boyanma tipi Nükleer (%)	MGMT boyanma tipi Nükleer+Stoplazmik (%)
Papiller Karsinom	65,5	34,5
Kronik Tiroidit	62,1	37,9
Kolloidal Guatr	84	16

İmmunohistokimya değerlendirmesi;



Resim 13: Tiroid papiller karsinomun MGMT ile immun boyanması, nükleer ve sitoplazmik boyanma (x 10)

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MGMT boyanma şekilleri arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MGMT boyanma şekilleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 10’da da görüldüğü gibi papiller karsinom olguları ile kronik tiroidit olguları arasında MGMT boyanma şekilleri açısından belirgin fark olmamasına karşın, papiller karsinom olguları çoğunlukla nükleer ve stoplazmik kolloidal guatr olguları çoğunlukla nükleer boyanma gösterdi.

4.5. MSH2 Sonuçları

4.5.1. MSH2 Foliküler Hücre Pozitifliği

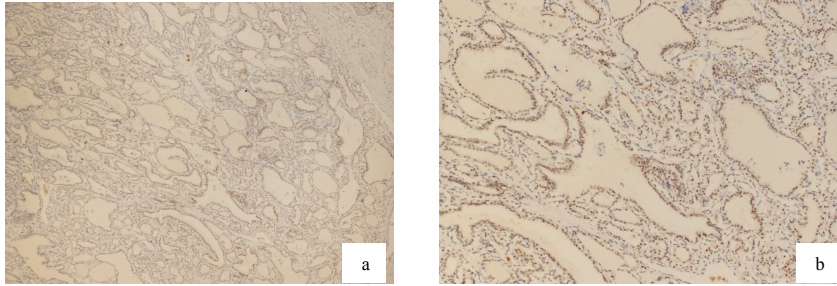
Gruplar MSH2 foliküler hücre pozitifliği açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom olgularında % 5-24 foliküler hücre pozitif oranı % 3,4, % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %10,3, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı %86,2, kronik tiroidit olgularında % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %27,6, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı %72,4 ve kolloidal guatr olgularında % 5-24 foliküler hücre pozitif oranı

% 15,4, % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %42,3, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı %42,3 olarak değerlendirildi. Tüm olgulardaki MSH2 foliküler hücre pozitiflik oranları tablo 11’de verilmiştir.

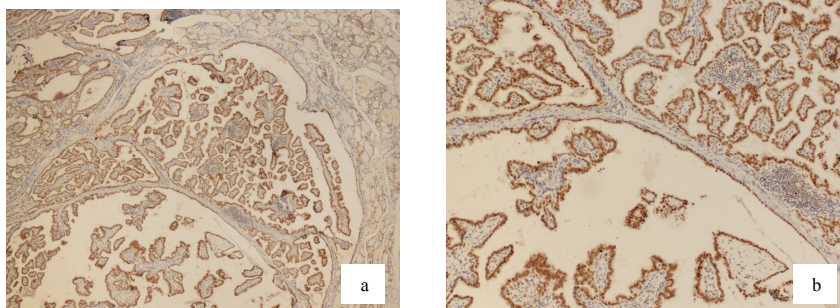
Tablo 11: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatrılı Olguların MSH2 Foliküler Hücre Pozitiflik Oranları

	MSH2 %5-24 Foliküler Hücre Pozitifliği(%)	MSH2 %25-49 Foliküler Hücre Pozitifliği(%)	MSH2 %50-100 Foliküler Hücre Pozitifliği(%)
Papiller Karsinom	3,4	10,3	86,2
Kronik Tiroidit	-	27,6	72,4
Kolloidal Guatr	15,4	42,3	42,3

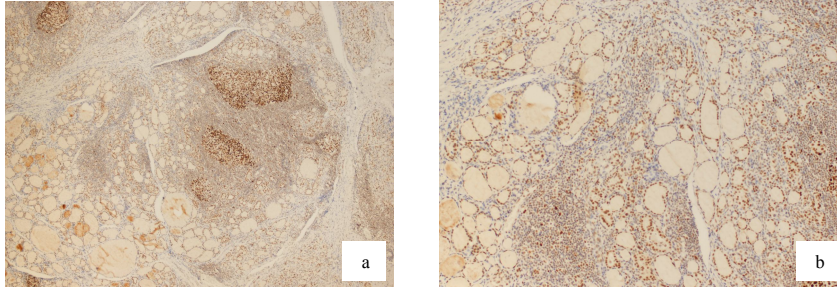
İmmunohistokimya değerlendirmeleri;



Resim 14 : Tiroid papiller karsinomun MSH2 ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 15 : Tiroid papiller karsinomun MSH2 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 16 : KLT'in MSH2 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MSH2 foliküler hücre pozitifliği arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MSH2 foliküler hücre pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen papiller karsinom olguları tablo 11'de de görüldüğü gibi daha yüksek oranda foliküler hücre pozitifliği gösterdi ve bu fark papiller karsinom ve kolloidal guatr arasında daha belirgindi. MSH2 foliküler hücre pozitiflik değerlendirmesinde % 50' az foliküler hücre pozitifliği ile %50 ve üzeri foliküler hücre pozitifliği olarak yapılan istatistiki değerlendirmede kronik tiroidit ve kolloidal guatr arasındaki fark anlamlı idi ($p=0.023$).

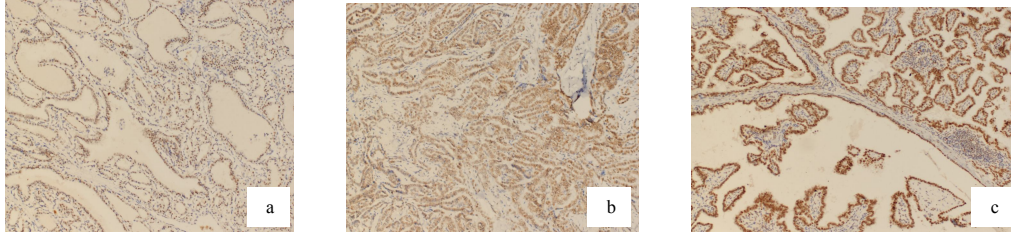
4.5.2. MSH2 Boyanma Yoğunluğu

Gruplar MSH2 boyanma yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom olgularında, hafif boyanma %20.7, orta boyanma % 75.9, yoğun boyanma %3.4, kronik tiroidit olgularında , hafif boyanma % 13.8, orta boyanma % 82.8, yoğun boyanma % 3.4 ve kolloidal guatr olgularında, hafif boyanma % 80.8, orta boyanma % 19.2, yoğun boyanma izlenmedi, olarak değerlendirildi. Tüm gruplardaki MSH2 boyanma yoğunluğu oranları tablo 12'de verilmiştir.

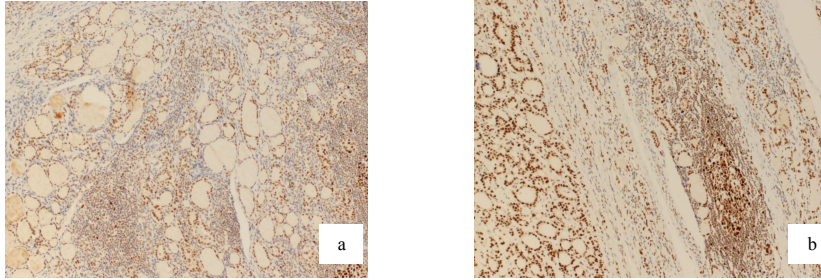
Tablo 12: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının MSH2 Boyanma Yoğunluğu Oranları

	MSH2 Hafif boyanma (%)	MSH2 Orta boyanma (%)	MSH2 Yoğun boyanma (%)
Papiller Karsinom	20,7	75,9	3,4
Kronik Tiroidit	13,8	82,8	3,4
Kolloidal Guatr	80,8	19,2	-

İmmunohistokimya değerlendirmeleri;



Resim 17: Tiroid Papiller Karsinomun MSH2 ile immün boyanması, hafif boyanma x 10 (a), orta boyanma x 10 (b), yoğun boyanma x 10 (c)



Resim 18 : KLT'in MSH2 ile immün boyanması, orta boyanma x 10 (a), yoğun boyanma x 10 (b)

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MSH2 boyanma yoğunluğu arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0,001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MSH2 boyanma yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 12'de de görüldüğü gibi papiller karsinom olguları ile kronik tiroidit olguları arasında MSH2 boyanma yoğunluğu açısından belirgin fark yoktu. Buna karşın, papiller karsinom ve kolloidal guatr arasındaki fark papiller karsinom lehine daha belirgindi. MSH2 boyanma yoğunluğu değerlendirmesinde hafif boyanma ile orta-yoğun boyanma

şeklinde ikili inceleme yapılacak olursa istatistiki değerlendirilmede kronik tiroidit ve kolloidal guatr arasındaki farkın anlamlı olduğu bulundu ($p=0,001$).

4.5.3. MSH2 İmmunreaktivite Düzeyleri

Grupların MSH2 immunreaktivite değerlendirilmesinde, papiller karsinom olgularında negatif/zayıf oranı % 3,4, orta/güçlü oranı % 96,6, kronik tiroidit olgularında orta/güçlü oranı %100 ve kolloidal guatr olgularında negatif/zayıf oranı % 15,4, orta/güçlü oranı % 84,6 olarak belirlendi. Tüm gruplardaki MSH2 immunreaktivite oranları tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının MSH2 İmmunreaktivite Oranları

	MSH2 İmmunreaktivite Negatif/zayıf (%)	MSH2 İmmunreaktivite Orta/güçlü (%)
Papiller Karsinom	3,4	96,6
Kronik Tiroidit	-	100
Kolloidal Guatr	15,4	84,6

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MSH2 immunreaktivite değerlendirmesi arasındaki fark anlamlı idi ($p<0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MSH2 immunreaktivite değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 13’de de görüldüğü gibi papiller karsinom olguları ile kronik tiroidit olguları arasında MSH2 immunreaktivite değeri açısından belirgin fark yoktu. Buna karşın, papiller karsinom ve kolloidal guatr arasındaki fark papiller karsinom lehine daha belirgindi. MSH2 immunreaktivite değerlendirmesinde kronik tiroidit ve kolloidal guatr arasındaki farkın anlamlı olduğu bulundu ($p=0,044$).

4.5.4. MSH2 Boyanma Şekilleri

Gruplar MSH2 boyanma şekilleri açısından incelendiğinde, papiller karsinom olguları, nükleer boyanma % 100, kronik tiroidit olguları, nükleer boyanma % 100 ve

kolloidal guatr olguları, nükleer boyanma% 100 olarak değerlendirildi. Tüm gruplardaki MSH2 boyanma şekilleri ve oranları tablo 14’de verilmiştir.

Tablo 14: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının MSH2 Boyanma Tipi Oranları

	MSH2 boyanma tipi nükleer (%)
Papiller Karsinom	100
Kronik Tiroidit	100
Kolloidal Guatr	100

4.6. MLH1 Sonuçları

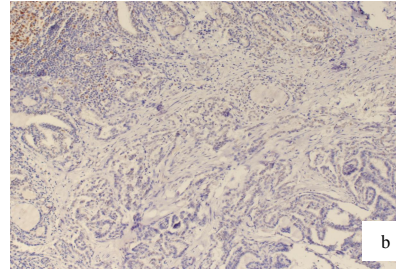
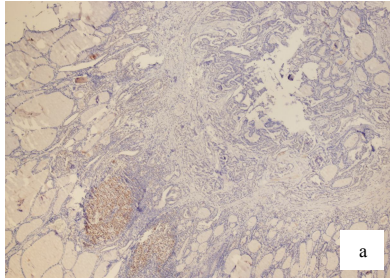
4.6.1. MLH1 Foliküler Hücre Pozitifliği

Gruplar MLH1 foliküler hücre pozitifliği açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom olgularında % 0-4 (negatif boyanma) foliküler hücre pozitif oranı %6,9, % 5-24 foliküler hücre pozitif oranı % 17,2, % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı %20,7, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı % 55,2, kronik tiroidit olgularında % 5-24 foliküler hücre pozitif oranı % 6,9, % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı % 41,4, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı % 51,7 ve kolloidal guatr olgularında % 0-4 (negatif boyanma) foliküler hücre pozitif oranı ve % 15,4, % 5-24 foliküler hücre pozitif oranı % 23,1, % 25-49 foliküler hücre pozitif oranı % 34,6, % 50-100 foliküler hücre pozitif oranı % 26,9 olarak değerlendirildi. Tüm olgulardaki MLH1 foliküler hücre pozitiflik oranları tablo 15’de verilmiştir.

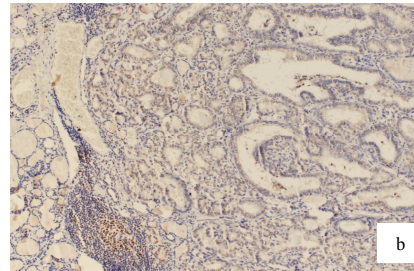
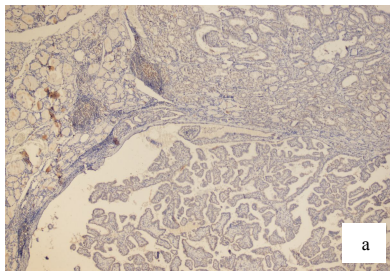
Tablo 15: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Oluların MLH1 Foliküler Hücre Pozitiflik Oranları

	MLH1 %0-4 (Negatif Boyanma) Foliküler Hücre Pozitifliği (%)	MLH1 %5-24 Foliküler Hücre Pozitifliği (%)	MLH1 %25-49 Foliküler Hücre Pozitifliği (%)	MLH1 %50-100 Foliküler Hücre Pozitifliği (%)
Papiller Karsinom	6,9	17,2	20,7	55,2
Kronik Tiroidit	-	6,9	41,4	51,7
Kolloidal Guatr	15,4	23,1	34,6	26,9

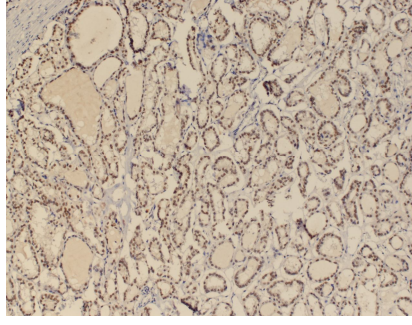
İmmunohistokimya değerlendirmeleri;



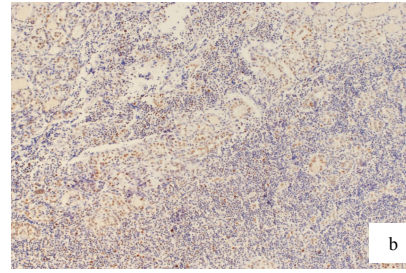
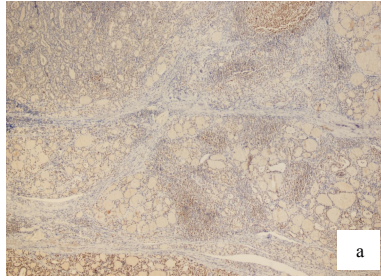
Resim 19 : Tiroid papiller karsinomun MLH1 ile immun boyanması, %0-4 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



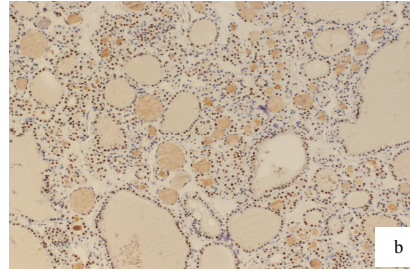
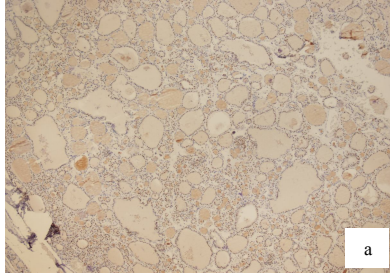
Resim 20 : Tiroid papiller karsinomun MLH1 ile immun boyanması, %25-49 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 21 : Tiroid papiller karsinomun MLH1 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, (x 10)



Resim 22 : KLT'in MLH1 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)



Resim 23 : Kolloidal guatrın MLH1 ile immun boyanması, %50-100 foliküler hücre pozitifliği, x 4 (a), x 10 (b)

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MLH1 foliküler hücre pozitifliği arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MLH1 foliküler hücre pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen papiller karsinom olguları tablo 15'de de görüldüğü gibi daha yüksek oranda foliküler hücre pozitifliği gösterdi ve bu fark papiller karsinom ve kolloidal guatr arasında daha belirgindi. MLH1 foliküler hücre pozitiflik değerlendirmesinde % 50' az foliküler hücre pozitifliği ile %50 ve üzeri foliküler hücre pozitifliği olarak yapılan istatistiki değerlendirmede papiller kanser olguları ile kolloidal guatr olguları arasındaki foliküler hücre pozitiflik farkı anlamlı bulundu ($p = 0,032$). Kronik tiroidit ve kolloidal guatr

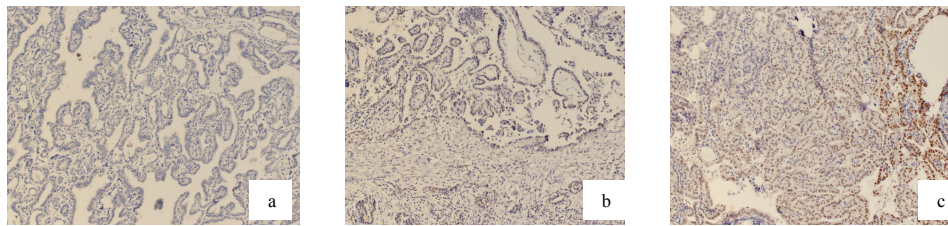
arasındaki foliküler hücre pozitiflik farkı istatistiksel olarak anlam göstermemesine rağmen p değeri 0.054 idi.

4.6.2.MLH1 Boyanma Yoğunluğu

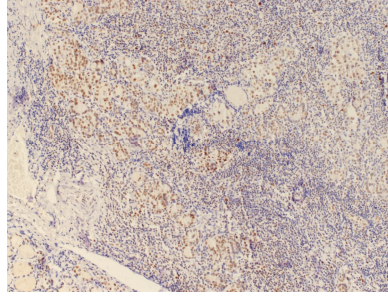
Gruplar MLH1 boyanma yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, papiller karsinom olgularında, negatif boyanma % 6,9, hafif boyanma % 82,8, orta boyanma % 10,3, kronik tiroidit olgularında; hafif boyanma % 75,9, orta boyanma % 24,1 ve koloidal guatr olgularında; negatif boyanma % 15,4, hafif boyanma % 69,2, orta boyanma % 15,4 olarak değerlendirildi. Tüm gruplardaki MLH1 boyanma yoğunluğu oranları tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Koloidal Guatr Olgularının MLH1 Boyanma Yoğunluğu Oranları

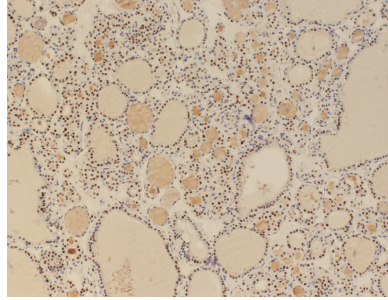
	MLH1 Negatif boyanma (%)	MLH1 Hafif boyanma (%)	MLH1 Orta boyanma (%)
Papiller Karsinom	6,9	82,8	10,3
Kronik Tiroidit	-	75,9	24,1
Koloidal Guatr	15,4	69,2	15,4



Resim 24 : Tiroid Papiller Karsinomun MLH1 ile immün boyanması, negatif boyanma x 10 (a), hafif boyanma x 10 (b), orta boyanma x 10 (c)



Resim 25 : KLT'in MLH1 ile immun boyanması, orta boyanma (x 10)



Resim 26 : Kolloidal guatrın MLH1 ile immun boyanması, orta boyanma (x 10)

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MLH1 boyanma yoğunluğu arasındaki fark anlamlı idi ($p<0,001$). Ancak gruplar ikişerli olarak değerlendirildiğinde MLH1 boyanma yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

4.6.3 MLH1 İmmunreaktivite Düzeyleri

Grupların MLH1 immünreaktivite değerlendirilmesinde, papiller karsinom olgularında negatif/zayıf oranı % 24,1, orta/güçlü oranı % 75,9, kronik tiroidit olgularında negatif/zayıf oranı % 6,9, orta/güçlü oranı %93,1 ve kolloidal guatr olgularında negatif/zayıf oranı % 34,6, orta/güçlü oranı % 65,4 olarak belirlendi. Tüm gruplardaki MLH1 immünreaktivite oranları tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 17: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının MLH1 İmmunreaktivite Oranları

	MLH1 İmmunreaktivite Negatif/zayıf (%)	MLH1 İmmunreaktivite Orta/güçlü (%)
Papiller Karsinom	24,1	75,9
Kronik Tiroidit	6,9	93,1
Kolloidal Guatr	34,6	65,4

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MLH1 immünreaktivite değerlendirmesi arasındaki fark anlamlı idi ($p<0,001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MLH1 immünreaktivite değerlendirmesinde kronik tiroidit ve kolloidal guatr arasındaki farkın anlamlı olduğu bulundu ($p=0.012$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 17’de de görüldüğü gibi papiller karsinom olguları ile kronik tiroidit olguları arasında MLH1 immünreaktivite değeri kronik tiroidit lehine belirgin iken papiller karsinom ve kolloidal guatr arasındaki fark papiller karsinom lehine daha belirgindi.

4.6.4 MLH1 Boyanma Şekilleri

Gruplar MLH1 boyanma şekilleri açısından incelendiğinde, papiller karsinom olgularında nükleer boyanma %93,1, kronik tiroidit olgularında % 100 ve kolloidal guatr olgularında % 84,6 görüldü. Tüm gruplardaki MLH1 boyanma şekilleri ve oranları tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18: Papiller Karsinom, Kronik Tiroidit, Kolloidal Guatr Olgularının MLH1 Boyanma Tipi Oranları

	MLH1 boyanma tipi; boyanma yok (%)	MLH1 boyanma tipi; nükleer (%)
Papiller Karsinom	6,9	93,1
Kronik Tiroidit	-	100
Kolloidal Guatr	15,4	84,6

Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MLH1 boyanma tipi arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0,001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MLH1 boyanma tipinin kronik tiroidit ve kolloidal guatr arasındaki farkın anlamlı olduğu bulundu ($p = 0,044$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen tablo 18’de de görüldüğü gibi kolloidal guatr olgularında negatiflik oranı daha fazla idi.

5. TARTIŞMA

Benign ve malign tiroid lezyonları, son iki dekatta artan oranlarla endokrin bezlerin en sık malignitesini oluşturmaktadır (153, 154). Hızla artan tiroid kanser insidansı özellikle küçük papiller tümör taramalarına bağlanmaktadır (155). Ancak, artan tanısal inceleme tek neden değildir. Büyük ve çok ilerlemiş, genellikle kötü prognozlu kanserler de neredeyse küçük tümörler kadar hızla artmaktadır (156). Papiller tiroid kanseri en sık görülen tiroid malignitesidir. Neredeyse tiroid kanserlerinin %80' inden fazlasını oluşturmaktadır. Papiller ve foliküler tiroid kanserleri diferansiye tiroid karsinomları olarak isimlendirilir ve tüm tiroid kanserlerinin %90' ını oluşturmaktadır (157). Tiroid kanserlerinin akıbeti genellikle iyi olmasına rağmen, hastaların azımsanamayacak bir kısmı da nihayetinde lokal rekürrens ve /veya uzak metastazdan dolayı ölmektedir (16). Hasta yönetimi için TSH düzeyleri, tiroid USG ve ince iğne aspirasyon biyopsisi anahtar klinik testlerdir (158). Ancak birçok vakada patologlar, benign ve malign tiroid lezyonlarını ayırımında oldukça hassas konumdadırlar ve kararları doğrultusunda klinik sonuç ve tedavi yöntemleri değişmektedir (23). Moleküler göstergeler, bu tanısal sorunun çözümünde olası katkıları nedeniyle giderek önem kazanmaktadırlar. Bu bağlamda her geçen yıl tiroid tümörlerinin tanısal biyomarkerları ile ilgili çalışmalar artmaktadır. İnce iğne aspirasyon biyopsisinin doğruluğunun teyit edilmesi ve tümörün agresifliği veya davranışı ile ilgili tahminlerde faydalı olabilecek olmaları bu biyolojik göstergelerin önemini vurgulamakta ve gelişimlerine katkı sağlamaktadır (24, 26).

DNA hasarı metabolik aktivite ve çevresel faktörlerden dolayı oluşmaktadır ve DNA tamiri, hasara karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır (27). DNA tamir proteinlerindeki kalıtsal ve kazanılmış eksikliklerin karsinogenezin başlamasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (28-30). İlgili genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişim ve polimorfizmler ile tiroid kanseri gelişim riskinin artması arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (31). Bunlar arasında, MSH2 (Mut-S-Homologin-2) ve MLH1(Mut-L-Homologon-1) gibi MMR proteinleri tiroid kanseri de dahil baş ve boyun neoplazilerinin gelişmeden, ilerlemesinden ve metastazlarından sorumlu tutulmuş bazı moleküllerdir (32, 35). MMR proteinlerin yanı sıra, direkt DNA tamir enzimi olan metil guanin-DNA-metiltransferaz (MGMT) da tiroid neoplazileri için incelenmiş bir moleküldür (37, 38). MGMT ekspresyon kaybının; hem agresif tümör davranışıyla hem de çeşitli neoplazilerin progresyonuyla bağlantısı olduğu gösterilmiştir (39-43, 159).

Ancak, benign ve malign tiroid lezyonlarında MSH2, MLH1 ve MGMT nin immunohisyo kimya ekspresyonlarının mevcut değerlendirilme verileri yeterli değildir.

Bu çalışmanın amacı, MGMT, MSH2, ve MLH1'in immunohistokimyasal ekspresyonlarını papiller tiroid kanseri, kronik lenfositik tiroidit ve nodüler kolloidal guatr tanısı almış hastaların daha önce alınmış ve arşivlenmiş histopatolojik preparatlarında değerlendirerek, klinik yaklaşımda kullanılabilir olup olmadığını incelemektir,

DNA tamir proteinlerindeki edinilmiş ve kazanılmış yetersizlikler, zararlı mutasyon oranları, genomik instabilite ve kanserin ilerlemesine yol açabileceğinin ilişkili olduğu çok iyi saptanmıştır (160). Özellikle, ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler ve DNA tamir genlerindeki polimorfizm tiroid karsinomunun gelişmesinden sorumlu tutulmaktadır (31). Bu nedenle alışmamızda, MMR mekanizmasına katılan MSH2 ve MLH1 proteinlerinin yanı sıra, direk DNA tamir proteini olan MGMT'nin de immunohistokimyasal ekspresyonu değerlendirilmiştir.

Giaginis ve arkadaşlarının (160) yaptığı çalışmada malign tiroid lezyonlarında MGMT ekspresyon seviyelerinin benign vakalara kıyasla daha dūřuk olduğu saptanmıştır. Papiller karsinom vakalarında da hiperplastik nodüllere kıyasla MGMT ekspresyonunun daha dūřuk olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, MGMT dūřuklūęu tiroid kanseri vakalarında büyük tümör boyutu ile ilişkili bulunmuştur. MGMT' nin metilasyon durumunu gösteren araştırmada, papiller tiroid tümörleri %15 metilasyon insidansı göstermiştir (38). Schagdarsurengin, MGMT hipermetilasyonunun, undiferansiye tiroid karsinomlarında diferansiyelere kıyasla belirgin olduğunu bildirmiştir (37). Dolayısıyla, hepatosellüler, mide, özefagus ve safra yolları gibi bazı kanser dokularında MGMT ekspresyon kaybının, klinikopatolojik parametreler ve zayıf prognoz ile korele olduğu dūřnlmektedir (39, 40, 161). Benzer şekilde oral skuamöz hücre karsinomlu hastalarda MGMT ekspresyon kaybı kanserin evresi, lenf nodu pozitifliği ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (42). Hiperplaziden displaziye kadar çeşitli düzeylerde prekanseröz oral lezyonlarda anlamlı MGMT ekspresyon kaybı görülmesi, erken tmrogenesis durumunda MGMT bozuklūęu olması varsayımını desteklemektedir (42). Dūřuk MGMT ekspresyonu, safra yolları, hepatosellüler kanser ve mide kanserinde de ileri hastalık evresi, lokal invazyon ve kötü prognoz ile korele bulunmuştur (40, 41). Bu verilere dayanarak; malign tiroid lezyonlarında tespit edilen MGMT

ekspresyonunun azalması, tümörün progresyonuna neden olabileceği yorumunu getirmiştir (160). Nükleusta ve ağırlıklı olarak nükleer dağılım gösteren malign tiroid lezyonlarında, foliküler hücre sitoplazmasının MGMT ile boyanması , hiperplastik nodülün aksine, diğer kanser tiplerinde olduğu gibi MGMT gen mutasyonuna bağlanabilir (162). Benzer dağılım paterni Hashimoto tiroiditinde de gözlenmekte ve bu vakalarda neredeyse her zaman, genetik “rearrangement” gelişmektedir. Hashimoto tiroiditi güçlü şekilde papiller tiroid karsinomu ile bağlantılıdır. Bu da iki hastalık arasındaki moleküler bağlantı ihtimalini artırmaktadır (163, 164).

Biz çalışmamızda, MGMT, MSH2 ve MLH1 antikor boyamaları ile immunreaktivite değerlendirmesi dışında foliküler hücre pozitifliği ve boyanma yoğunluğunu da ayrı ayrı inceledik. Literatürden farklı olarak tiroid papiller karsinomu, kronik tiroidit ve kolloidal guatr grupları birlikte değerlendirildiğinde MGMT foliküler hücre pozitifliği arasındaki fark anlamlı idi ($p<0,001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen papiller karsinom olguları MGMT ile daha yüksek oranda foliküler hücre pozitifliği gösterdiği ve bu farkın papiller karsinom ile kolloidal guatr arasında daha belirgin olduğu görüldü. Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde MGMT boyanma yoğunlukları ve MGMT immunreaktivite değeri arasındaki fark anlamlı idi ($p<0,001$). Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde MGMT boyanma yoğunluğu ve MGMT immunreaktivite değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Ancak TPK olguları ile KLT olguları arasında yoğun boyanma ve immunreaktivite değeri açısından fark olmamasına karşın, PTK ve MNG arasındaki fark papiller karsinom lehine daha belirgindi. MGMT boyanma şekilleri açısından belirgin fark olmamasına karşın, literatüre benzer şekilde papiller karsinom olguları çoğunlukla nükleer ve sitoplazmik, kolloidal guatr olguları ise çoğunlukla nükleer boyanma göstermekte idi. Buradan yola çıkarak MGMT için PTK ve KLT’in çok benzer özellikler gösterdiği, MNG dokusunun ise farklı olduğu söylenebilir.

MMR proteinleri içinde, MLH1 ekspresyon seviyelerinin hiperplastik nodül ile karşılaştırılan papiller karsinom vakalarında orta/güçlü ekspresyon sıklığının arttığı gösterilmiştir (160). Aynı çalışmada MSH2 ekspresyonunun malign ve benign tiroid lezyonunun ayrımında anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Papiller karsinom vakalarında hiperplastik nodüllere göre orta/yüksek MSH2 immunreaktivitesinin sıklığının artmış

olduğu ancak bu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı vurgulanmıştır (160). Ruschenburg (34) üç ayrı MMR proteinini incelemiş; MLH1, MSH2 ve PMS1'in malign tiroid lezyonlarında benignlere göre ekspresyon seviyelerinin arttığını bildirmiştir. Giaginis ve arkadaşlarının (160) yaptığı çalışma benign hiperplastik nodul, foliküler adenom ve malign foliküler karsinomları içermektedir. Bu çalışmada negatif/zayıf MSH2 ve MLH1 ekspresyonu foliküler karsinom vakalarının büyük çoğunluğunda (sırasıyla 7/7 and 6/7) saptanmış; medüller karsinom vakalarının büyük çoğunluğunda da negatif/zayıf MSH2 ve MLH1 ekspresyonu görüldüğü bildirilmiştir (160). Yazarlar kesin sonuçlara varabilmek için farklı tiroid kanserlerini kapsayan daha büyük çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir.

MSH2 ve MLH1 in ekspresyon seviyelerinin farkı, tiroid kanserlerinde tümörün gelişmesi ve/veya ilerlemesi ile sonuçlanabilmektedir. MLH1 geninin metilasyonu ile T1799A BRAF mutasyonu olan papiller tiroid karsinomlu hastalarda lenf nodu metastazının olması, MLH1'in epigenetik farklılaşması olarak yorumlanmıştır (35). Bir genomik insitabilite formu olan mikrosatellit instabilite (MSI), yakın zamanda MMR eksikliği ile ilişkili olarak tiroid kanser patogenezi kapsamına girmiştir. Mitmaker (165), papiller (9/14) ve foliküler (10/16) karsinomda MSI'nın artan insidansını göstermiştir. Ek olarak, foliküler adenom ve foliküler karsinom arasındaki MSI sıklığının anlamlı şekilde farklı olduğu bildirilmiştir (165). Diğer yandan bazı çalışmalarda MSI sıklığının benign tiroid lezyonlarında malignden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (166-168). Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada benign lezyonların %70'inde ve malign tiroid lezyonlarının % 65'inde MSI gösterilmiş ve iyot eksikliğinin, MSI'yı foliküler ve anaplastik karsinomlar başta olmak üzere, moleküler yolağı durdurarak etkileyebileceğı belirtilmiştir (169). MMR proteinlerinin immunohistokimyasal analizi, partiküler genlerdeki mutasyon oranlarının saptanmasından daha iyi ve ilk basamak görüntüleme tekniğı olarak uygun bir yöntem olacağı şeklinde değerlendirilmektedir (170). Orta/güçlü MSH2 ve MLH1 immunreaktivitesinin, foliküler hücre proliferasyon kapasitesi artmış olan vakalarda daha sık olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu MMR proteinlerinin tiroid neoplazilerinde gelişen hücre proliferasyonu durumunda, hızla çoğalan foliküler hücrelerde, DNA tamir sisteminin gerekliliğinin sonucunda ortaya çıkıyor gibi görünmektedir (160). DNA tamir proteininin tespiti, tiroid neoplazilerinin tanıs

sürecinde faydalı olabilir (171-173).

Bizim çalışmamızda MSH2 foliküler hücre pozitifliği tüm olgularda anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0.001$). Gruplar birbiriyle kıyaslandığında; istatistiksel olarak anlamlı olmasa da PTK olgularının daha yüksek oranda foliküler hücre pozitifliği gösterdiği ve farkın PTK ve MNG arasında özellikle daha belirgin olduğu görüldü. MSH2 foliküler hücre pozitifliği değerlendirmesinde % 50'den az foliküler hücre pozitifliği ile %50 ve üzeri foliküler hücre pozitifliği olarak yapılan ikinci bir analizde; KLT ve MNG grupları arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p=0,023$), PTK ile KLT arasında ise fark olmadığı ve yine PTK ile MNG grupları arasındaki farkın PTK lehine daha belirgin olduğu bulundu. MSH2 boyanma yoğunluğu değerlendirmesinde KLT ve MNG grupları arasındaki farkın anlamlı olduğu bulundu ($p=0,001$). MSH2 immunreaktivite değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı olmasa da PTK ve MNG arasındaki fark PTK lehine daha belirgindi ve KLT ve MNG arasındaki fark anlamlıydı ($p=0,044$). Değişik açılardan ele alındığında MSH2'nin kronik tiroidit ve PTK olgularında hemen hemen birbirine benzer ancak nodüler guatrden farklı olarak eksprese olduğu görülmüştür. Bu veriler molekülün kanser ve otoimmün tiroidit arasındaki tanı karmaşasını çözmekte çok faydalı olamayacağını ancak benign tiroid lezyonları ile bu iki durumun ayrılmasında kullanılabilirliğinin daha olası olduğunu işaret etmektedir.

MLH1 foliküler hücre pozitifliği PTK ile MNG olguları arasında anlamlı olarak ($p=0,032$) farklı, KLT ve MNG arasında sınırda farksız ($p= 0,054$) ve PTK ve KLT ise benzer bulundu. MLH1 immunreaktivite açısından yine KLT ve MNG arasındaki fark anlamlıydı ($p=0,012$). MLH1 incelemelerimizde de nodüler benign lezyondan farklı olarak KLT ve PTK gruplarının birbirine benzer özellik gösterdiği görülmüştür.

MMR proteinlerinin farklı hücresel lokalizasyonu olduğu ve PTK'lı vakalarda MSH2 ve MLH1 proteinlerinin hiperplastik nodüllerin aksine sadece nükleer boyanma paterni gösterdiği bildirilmiştir (160). Nükleusa transportu engelleyen gen mutasyonlarından dolayı sitoplazmik ribozomlarda MMR proteinlerinin sentezi, tam olarak gerçekleştirilemez. (170,174-177). Hashimoto tiroiditi vakalarında da hem nükleer hem de sitoplazmik MSH2 ve MLH1 protein dağılımı gösterilmiştir (160). Bu olgu PTK ile Hashimoto tiroiditinin morfolojik özellikler, immunohistokimyasal patern ve en önemlisi moleküler profil açısından örtüştüğü savını desteklemektedir (160). Benign olarak değerlendirilmesine rağmen, Hashimoto tiroiditlerinin neredeyse

tamamının, genetik olarak yeniden şekillenmesi her zaman güçlü şekilde ve yüksek spesifite ile papiller tiroid karsinomunu barındırmaktadır (160). Bizim çalışmamızda da MSH2 boyanma paterni tüm gruplarda nükleer boyanma şeklinde bulunmuştur. MLH1; PTK grubunda %93,1, KLT’de % 100 ve MNG’de % 84,6 nükleer boyanma paterni göstermişti (p=0.044). Diğer iki grup boyanma şekli açısından benzer iken, koloidal guatr olgularında negatiflik oranının daha fazla olması dikkat çekicidir. Tüm bu veriler PTK ile KLT’in benzerliklerini destekler niteliktedir.

Çok sayıda araştırma papiller tiroid karsinomlarının 1/3’ünün kronik tiroidit zemininden geliştiğini göstermektedir. Ancak bu çalışmalarda önceden var olan tiroiditi kanıtlayacak serolojik bir gösterge genellikle yoktur (178). Ott ve arkadaşları (179) Hashimoto tiroiditinin tiroid kanserine zemin hazırlayan bir parametre olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bunlara zıt olarak Rio ve arkadaşlarının (180) kronik tiroidit içeren ve içermeyen 175 papiller tiroid karsinomlu olgu ile yaptıkları bir çalışmada; kronik lenfositik tiroiditin tümör gelişiminde minimal etkiye sahip olduğu ve tümör agresifliğini etkilemediğini bildirilmiştir. İyot eksikliğinin neden olduğu endemik guatr bölgelerinde folliküler karsinom daha fazla görüldüğü için uzun süreli multinodüler guatrın kansere yol açtığı ileri sürülmüştür (51). Bizim çalışmamızda da yapılan değerlendirmeler göstermiştir ki; PTK ve KLT olgularında DNA tamir genleri farklı moleküller üzerinden ve farklı açılardan değerlendirildiğinde bile ciddi benzerlikler sergilemekte ve bahsi geçen moleküller çalışma öngörümüzün tersine bu iki durumu ayırmada yeterli olmamaktadır. Ancak öte yandan benign bir lezyon olan nodüler guatrın bu iki patolojiden farklı özellikler sergilemesi –istatistiksel anlam olmasa da- umut vericidir.

Sonuç olarak DNA tamir genlerinin malign tümörlerde benign tümörlere oranla daha yüksek seviyelerde eksprese olması malign dönüşümün bir sonucudur. Bu artış oluşan DNA hasarına cevaben DNA onarım genlerindeki fonksiyonel aktivasyona bağlanmaktadır. Ayrıca malign tiroid tümörlerinde daha önceden tanımlanmış olan mikrosatellit instabilite ve LOH (loss of heterozigosity-heterozigotluk kaybı) DNA onarım genlerinin ekspresyonu ile ilgili sonuçlarda karışıklığa sebep olmaktadır (181-183). Her ne kadar çalışmamız retrospektif ve kesitsel nitelikte bir çalışma olsa da MMR ve MGMT proteinlerinin ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler tümör gelişimi ve/veya ilerlemesi ile ilgili kabul edilebilir. Bu sonuca prospektif bir çalışma ile gidilmesi gerekir ancak verilerimiz PTK grubunun KLT grubuna benzer nitelikte ve

MNG grubundan farklı olduğunu işaret etmektedir. Özellikle tanı kolaylığı getirmesini öngördüğümüz çalışma moleküllerinin bu açıdan diğer araştırmacıların da önerdiği gibi yeni ve güçlü çalışmalarla incelenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Maitra A, Abbas AK. Tiroid Glandı. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Hastalığın Patolojik Temeli. 7. Baskı, 2009; s.:1164-1183
2. Dobrinja C, Trevisan G, Liguori G, Romano A, Zanconati F. Sensitivity evaluation of fine-needle aspiration cytology in thyroid lesions. *Diagn Cytopathol.* 2009;37:230-235
3. Poller DN, Stelow EB, Yiangou C. Thyroid FNAC cytology: can we do it better?. *Cytopathol.* 2008;19:4-10
4. Al Ghuzlan A, Caillou B, Schlumberger M. Galectin-3 for indeterminate thyroid cytology. *Lancet Oncol.* 2008;9:508-510.
5. Bartolazzi A, Orlandi F, Saggiorato E, et al; Italian Thyroid Cancer Study Group (ITCSG). Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. *Lancet Oncol.* 2008;9:543-549.
6. Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, Jones SJ, Gown AM, Walker B, Nabi IR, Wiseman SM. Diagnostic utility of galectin-3 in thyroid cancer. *Am J Pathol.* 2010;176:2067-81.
7. Tan GH, Gharib H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. *Ann Intern Med* 1997;126:226-231. PMID:9027275
8. Hegedus L. Clinical practice. The thyroid nodule. *N Engl J Med* 2004;351:1764-1771. PMID:15496625
9. Mandel SJ. A 64-year-old woman with thyroid nodule. *JAMA* 2004;292:2632-2642. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.292.21.2632> PMID:15572721
10. Lundgren CI, Zedenius J, Skoog L. Fine-needle aspiration biopsy of benign thyroid nodules: an evidence-based review. *World J Surg.* 2008;32:1247-1252.
11. Sanchez N, Selvaggi SM. Utility of cell blocks in the diagnosis of thyroid aspirates. *Diagn Cytopathol.* 2006;34:89-92
12. Nguyen GK, Mark WL, Ginsberg J, Wragg T, Bilodeau D. Fine-needle aspiration of the thyroid: an overview. *Cytojournal.* 2005;2:12.

13. Arora N, Scognamiglio T, Zhu B, Fahey III TJ. Do benign nodules have malignant potential? An evidence-based review. *World J Surg* 2008; 32:1237-1246.
14. Nikiforov YE. Thyroid Tumors; Classification and General Considerations. In: Nikiforov YE, Biddinger PW, Thomson LDR, eds. *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid*. First edition. China: Lippincott Williams&Wilkins, 2009: 94-102.
15. DeLellis RA, Williams ED. Thyroid and parathyroid tumours: Introduction. In: DeLellis RA, LLOYD RV, Heitz PU, Eng C, eds. *WHO classification of tumors, pathology and genetics—tumors of endocrine organs*. Lyon: IARC Press, 2004: 51-56.
16. Gharib H, Papini E: Thyroid nodules: clinical importance, assessment, and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2007; 36: 707-35
17. Yang J, Schnadig V, Logrono R, Wasserman PG. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. *Cancer Cytopathol*. 2007; 11: 306-315
18. Williams MD, Suliburk JW, Staerke GA, Busaidy NL, Clayman GL, Evans DB, Perrier ND. Clinical Significance of Distinguishing Between Follicular Lesion and Follicular Neoplasm in Thyroid Fine-Needle Aspiration Biopsy. *Ann Surg Oncol*. 2009; 16: 3146-53.
19. Nassar A, Cohen C, Siddiqui MT. Utility of milipore filter and cell block in thyroid needle aspirates: which method is superior? *Diagn Cytopathol*. 2007;35:34-38.
20. Mitteldorf CATS, de-Sousa-Canaves JM, Massumoto C, Camara-Lopes LH. Fine needle aspiration biopsy of thyroid nodules as a possible source of molecular studies: analysis of RNA obtained from routine cases. *Diagn Cytopathol*. 2008;36:899-903
21. Liu YY, Morreau H, Kievit J, Romijn JA, Carrasco N, Smit JW. Combined immunostaining with galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, Hector Battifora mesothelial-1, cytokeratin-19, peroxisome proliferator-activated receptor- $\{\gamma\}$, and sodium/iodide symporter antibodies for the differential diagnosis of non-medullary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol*. 2008;158:375-384

22. Franco C, Martínez V, Allamand JP, Medina F, Glasinovic A, Osorio M, Schachter D. Molecular markers in thyroid fine-needle aspiration biopsy: a prospective study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2009;17:211-215.
23. Fischer S, Asa L: Application of immunohistochemistry to thyroid neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*, 2008; 132: 359-72
24. Besic N, Sesek M, Peric B et al: Predictive factors of carcinoma in 327 patients with follicular neoplasm of the thyroid. *Med Sci Monit*, 2008;14(9): CR459-67
25. Vriens MR, Schreinemakers JM, Suh I et al: Diagnostic markers and prognostic factors in thyroid cancer. *Future Oncol*, 2009; 5: 1283-93
26. Golbidi S, Laher I: Antioxidant therapy in human endocrine disorders. *Med Sci Monit*, 2010; 16(1): RA9-24
27. Friedberg EC, McDaniel LD, Schultz RA: The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis. *Curr Opin Genet Dev*, 2004;14: 5-10
28. Jackson SP, Bartek J: The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 2009; 461: 1071-78
29. Peterson CL, Côté J: Cellular machineries for chromosomal DNA repair. *Genes Dev*, 2004; 18: 602-16
30. Muniandy PA, Liu J, Majumdar A et al: DNA interstrand crosslink repair in mammalian cells: step by step. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2010;45: 23-49
31. Gatzidou E, Michailidi C, Tseleni-Balafouta S, Theocharis S: An epitome of DNA repair related genes and mechanisms in thyroid carcinoma. *Cancer Lett*, 2010; 290: 139-47
32. Liu K, Huang H, Mukunyadzi P et al: Promoter hypermethylation: An important epigenetic mechanism for hMLH1 gene inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngology*, 2002; 126: 548-53
33. Demokan S, Suoglu Y, Demir D et al: Microsatellite instability and methylation of the DNA mismatch repair genes in head and neck cancer. *Ann Oncol*, 2006; 17: 995-99

34. Ruschenburg I, Vollheim B, Stachura J et al: Analysis of DNA mismatch repair gene expression and mutations in thyroid tumours. *Anticancer Res*, 2006; 26: 2107-12
35. Guan H, Ji M, Hou P et al: Hypermethylation of the DNA mismatch repair gene hMLH1 and its association with lymph node metastasis and T1799A BRAF mutation in patients with papillary thyroid cancer. *Cancer*, 2008; 113: 247-55
36. Haydon AM, Jass JA: Emerging pathways in colorectal cancer development. *Lancet Oncol*, 2002; 3: 83-88
37. Schagdarsurengin U, Gimm O, Dralle H et al: Island methylation of tumor-related promoters occurs preferentially in undifferentiated carcinoma. *Thyroid*, 2006; 16: 633-42
38. Ishida E, Nakamura M, Shimada K et al: DNA hypermethylation status of multiple genes in papillary thyroid carcinomas. *Pathobiology*, 2007;74: 344-52
39. Matsukura S, Miyazaki K, Yakushiji H et al: Expression and prognostic significance of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in hepatocellular, gastric, and breast cancers. *Ann Surg Oncol*, 2001; 8: 807-16
40. Kohya N, Miyazaki K, Matsukura S et al: Deficient expression of O(6-methylguanine-DNA methyltransferase combined with mismatch-repair proteins hMLH1 and hMSH2 is related to poor prognosis in human biliary tract carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2002; 9: 371-79
41. Matsukura S, Miyazaki K, Yakushiji H et al: Combined loss of expression of O6-methylguanine-DNA methyltransferase and hMLH1 accelerates progression of hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*, 2003; 82:194-200
42. Sawhney M, Rohatgi N, Kaur J et al: MGMT expression in oral precancerous and cancerous lesions: correlation with progression, nodal metastasis and poor prognosis. *Oral Oncol*, 2007; 43: 515-22
43. Cooper WA, Kohonen-Corish MRJ, Chan C et al: Prognostic significance of DNA repair proteins MLH1, MSH2 and MGMT expression in non-small cell lung cancer and precursor lesions. *Histopathology*, 2008; 52:613-22

44. Carcangiu ML. Thyroid. In: Sternberg SS, ed. Histology for pathologists. Second Edition. China: Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 1075-1088.
45. Sadler T. W. Thyroid. Langman's Medical Embryology. Williams and Wilkins, 7th ed. Baltimore, Maryland, 1999; 131.
46. Moore KL, Persaud TVN. The Developing Human Clinically Oriented Embryology, 6th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 1998; 230-232.
47. Dere F. Glandula Thyroidea ve parathyroidea. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı 1999; s:759-763.
48. Arıncı K, Elhan A, Anatomi Kitabı. 1. Cilt 2. Baskı 1995; s.: 349-351
49. Moore K. L. Clinically Oriented Anatomy. 3th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 1999; 567-570
50. Biddinger PW. Normal Anatomy And Histology. In: Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid. Nikiforov YE, Biddinger PW, Thomson LDR, eds. First edition. China: Lippincott Williams&Wilkins, 2009: 1-10.
51. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia, Pennsylvania Elsevier Saunders 2005; 1178-1180
52. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology: Thyroid gland. 9th ed. St Louis: *The CV Mosby Company* 2004; 515-594.
53. Sadler GP, Clark OH. Thyroid and parathyroid. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC (ed). Principles of Surgery. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1999; 1661-87.
54. Hanks JB. Thyroid. Sabiston D.C (ed). Textbook of Surgery. 2001; 603-28.
55. İşgör A. Multinodüler Guatr, İşgör A (ed). Tiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 2000; 233-8.
56. Day AT, Chu A, Hoang HG. Multinodular Goiter. Otolaryng Cli N Am 2003; 36: 35-54.
57. Hay İD. Thyroiditis: A Clinical Update. Mayo Clin Proc 1985; 60:836-43.
58. Lida F, Sugeno A. Thyroiditis: Acute, Subacute, Hashimoto's and Riedel's. İn: Clark OH, Duh QY. eds. Textbook of Endocrine Surgery. 1997:33-8.
59. Ünal G. Tiroititler. Ünal G.(ed). Tiroit Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları; 2000; 260-72.
60. Hirabayashi RN, Lindsay S. The Relation of Thyroid Carcinoma and Chronic Thyroiditis. Surg Gynecol Obstet 1965; 121:243-52.

61. Oguz M, Cihan A, _sgör A, Tiroiditler. _sgör A(ed) Tiroid hastalıkları ve cerrahi tedavisi. 1.baskı, Avrupa Tıp Kitapçılık, _st.,s: 465-72;2000.
62. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease. 5th ed., Saunders, Philadelphia, p:1121-42; 1999.
63. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs, Tumors of the Thyroid and Parathyroid, IARC PressLyon, 2004; 2: 49-134
64. Ruggeri RM, Campenni A, Baldari S, Trimarchi F, Trovato M. What is New on Thyroid Cancer Biomarkers. *Biomark Insights*. 2008; 29: 237-252.
65. Shibru D, Chung KW, Kebebew E. Recent developments in the clinical application of thyroid cancer biomarkers. *Curr Opin Oncol*. 2008; 20:13-8.
66. Serra S, Asa SL. Controversies in thyroid pathology: the diagnosis of follicular neoplasms. *Endocr Pathol*. 2008; 19:156-65.
67. Wang JH, Zhang WP, Liu HX, Wang D, Li YF, Wang WQ, Wang L, He FR, Wang Z, Yan QG, Chen LW, Huang GS. Detection of human parvovirus B19 in papillary thyroid carcinoma. *Br J Cancer*. 2008; 98: 611-8.
68. Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid*. 2009; 19:1351-61
69. 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; 93:1600-8.
70. Saleh HA, Hammoud J, Zakaria R, Khan AZ. Comparison of thin-prep and cell block preparation for the evaluation thyroid epithelial lesions on fine needle aspiration biopsy. *Cytojournal*. 2008; 5: 3
71. LiVolsi VA, Albores-Saavedra J, Asa SL, Baloch ZW, Harach HR. Papillary carcinoma. In: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, eds. WHO classification of tumors, pathology and genetics—tumors of endocrine organs. Lyon: IARC Press, 2004: 57-66.
72. Nikiforov YE, Ohori NP. Papillary carcinoma. In: Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid. Nikiforov YE, Biddinger PW, Thomson LDR, eds. First edition. China: Lippincott Williams&Wilkins, 2009: 160-213.

73. Auger M, Stelow EB, Yang GCH, Sanchez MA, Asa SL, Livolsi VA. Papillary thyroid carcinoma and variants. In: Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. New York, NY: Springer; 2009: 91-116.
74. Baloch ZW, LiVolsi VA. Microcarcinoma of the thyroid. *Adv Anat Pathol.* 2006; 13:69-75.
75. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Sherman SI, Tuttle RM; American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2006; 16:109-142.
76. Guidelines of the Papanicolaou Society of Cytopathology for the examination of fine-needle aspiration specimens from thyroid nodules. The Papanicolaou Society of Cytopathology Task Force on Standards of Practice. *Diagn Cytopathol.* 1996;15:84-89.
77. American Association of Clinical Endocrinologists and Associazione Medici Endocrinologi medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocr Pract.* 2006; 12:63-102.
78. Redman R, Yoder BJ, Massoll NA. Perceptions of diagnostic terminology and cytopathologic reporting of fine-needle aspiration biopsies of thyroid nodules: a survey of clinicians and pathologists. *Thyroid.* 2006; 16:1003-8.
79. Crippa S, Mazzucchelli L, Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for reporting thyroid fine-needle aspiration specimens. *Am J Clin Pathol.* 2010; 134:343-4; author reply 345.
80. Baloch ZW, LiVolsi VA, Asa SL, Rosai J, Merino MJ, Randolph G, Vielh P, DeMay RM, Sidawy MK, Frable WJ. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol.* 2008; 36:425–437.
81. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid.* 2009; 19: 1159-65.
82. Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. New York, NY: Springer; 2009.

83. Shi Y, Ding X, Klein M, Sugrue C, Matano S, Edelman M, Wasserman P. Thyroid fine-needle aspiration with atypia of undetermined significance: a necessary or optional category? *Cancer*. 2009;117:298–304.
84. E.M. Sturgis, C. Zhao, R. Zheng, Q. Wei, Radiation response genotype and risk of differentiated thyroid cancer: a case-control analysis, *Laryngoscope* 115 (2005) 938-945.
85. J.B. Little, Radiation carcinogenesis, *Carcinogenesis* 21 (2000) 397-404.
86. E.C. Friedberg, L.D. McDaniel, R.A. Schultz, The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14 (2004) 5-10.
87. J.H. Hoeijmakers, Genome maintenance mechanisms for preventing cancer, *Nature* 411 (2001) 366-374.
88. L. Pecorino, *Molecular Biology of Cancer: Mechanisms, Targets, and Therapeutics*, first ed., Oxford University Press, New York, 2005.
89. C. Giaginis, E. Gatzidou, S. Theocharis, DNA repair systems as targets of cadmium toxicity, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 213 (2006) 282-290.
90. T. Lindahl, Suppression of spontaneous mutagenesis in human cells by DNA base excision-repair, *Mutat. Res.* 462 (2000) 129-135.
91. H. Nilsen, H.E. Krokan, Base excision repair in a network of defence and tolerance, *Carcinogenesis* 22 (2001) 987-998.
92. G. Frosina, P. Fortini, O. Rossi, F. Carrozzino, G. Raspaglio, L.S. Cox, D.P. Lane, A. Abbondandolo, E. Dogliotti, Two pathways for base excision repair pathways in mammalian cells, *J. Biol. Chem.* 271 (1996)9573-9578.
93. C.L. Peterson, J. Côté, Cellular machineries for chromosomal DNA repair, *Genes Dev.* 18 (2004) 602-616.
94. F. Pâques, J.E. Haber, Multiple pathways of recombination induced by double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63 (1999) 349-404.
95. S.P. Jackson, Sensing and repairing DNA double-strand breaks, *Carcinogenesis* 23 (2002) 687-696.
96. L.H. Thompson, D. Schild, Recombinational DNA repair and human disease, *Mutat. Res.* 509 (2002) 49-78.

97. E. Evans, E. Alani, Roles for mismatch repair factors in regulating genetic recombination, *Mol. Cell Biol.* 20 (2000) 7839-7844.
98. R.D. Kolodner, G.T. Marsischky, Eukaryotic DNA mismatch repair, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 9 (1999) 89-96.
99. B.L. Ray, C.I. White, J.E. Haber, Heteroduplex formation and mismatch repair of the "stuck" mutation during mating-type switching in *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Cell Biol.* 11 (1991) 3380-5372.
100. A.B. Buermeyer, S.M. Deschênes, S.M. Baker, R.M. Liskay, Mammalian DNA mismatch repair, *Annu. Rev. Genet.* 33 (1999) 533-564.
101. T.M. Marti, C. Kunz, O. Fleck, DNA mismatch repair and mutation avoidance pathways, *J. Cell. Physiol.* 191 (2002) 28-41.
102. B.D. Harfe, S. Jinks-Robertson, DNA mismatch repair and genetic instability, *Annu. Rev. Genet.* 34 (2000) 359-399.
103. 103. K.W. Caldecott, J.D. Tucker, L.H. Stanker, L.H. Thompson, Characterization of XRCC1-DNA ligase III complex in vitro and its absence from mutant hamster cells, *Nucleic Acids Res.* 23 (1995) 4836-4843.104.
104. T. Ho, G. Li, J. Lu, C. Zhao, Q. Wei, E.M. Sturgis, Association of XRCC1 polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinoma: a case-control analysis, *Thyroid* 19 (2009) 129-135.
105. F.Y. Chiang, C.W. Wu, P.J. Hsiao, W.R. Kuo, K.W. Lee, J.C. Lin, Y.C. Liao, S.H. Juo, Association between polymorphisms in DNA base excision repair genes XRCC1, APE1, and ADPRT and differentiated thyroid carcinoma, *Clin. Cancer Res.* 14 (2008) 5919-5924.
106. A.R. Evans, M. Limp-Foster, M.R. Kelley, Going APE over ref-1, *Mutat. Res.* 461 (2000) 83-108.
107. L.B. Chiarini, F.G. Freitas, H. Petrs-Silva, R. Linden, Evidence that the bifunctional redox factor/AP endonuclease Ref-1 is an anti-apoptotic protein associated with differentiation in the developing retina, *Cell Death Differ.* 7 (2000) 272-281.
108. D. Russo, M. Celano, S. Bulotta, R. Bruno, F. Arturi, P. Giannasio, S. Filetti, G. Damante, G. Tell, APE/Ref-1 is increased in nuclear

- fractions of human thyroid hyperfunctioning nodules, *Mol. Cell. Endocrinol.* 194 (2002) 71-76.
109. G. Tell, E. Crivellato, A. Pines, I. Paron, C. Pucillo, G. Manzini, A. Bandiera, M.R. Kelley, C. DiLoreto, G. Damante, Mitochondrial localization of APE/Ref-1 in thyroid cells, *Mutat. Res.* 485 (2001) 143-152.
 110. A. Ronen, B.W. Glickman, Human DNA repair genes, *Environ. Mol. Mutagen.* 37 (2001) 241-283.
 111. A.R. Lehmann, The xenoderma pigmentosum group D (XPD) gene: one gene, two functions, three diseases, *Genes Dev.* 15 (2001) 15-23.
 112. H. Guan, M. Ji, P. Hou, Z. Liu, C. Wang, Z. Shan, W. Teng, M. Xing, Hypermethylation of the DNA mismatch repair gene hMLH1 and its association with lymph node metastasis and T 1799A BRAF mutation in patients with papillary thyroid cancer, *Cancer* 113 (2008) 247-255.
 113. I. Ruschenburg, B. Vollheim, J. Stachura, C. Cordon-Cardo, M. Korabiowska, Analysis of DNA mismatch repair gene expression and mutations in thyroid tumours, *Anticancer Res.* 26 (2006) 2107–2112.
 114. M.J. Schofield, P. Hsieh, DNA mismatch repair: molecular mechanisms and biological function, *Annu. Rev. Microbiol.* 57 (2003) 579–608.
 115. Y. Ionov, M.A. Peinado, S. Malkhosyan, D. Shibata, M. Perucho, Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis, *Nature* 363 (1993) 558–561.
 116. J.L. Weber, P.E. May, Abundant class of DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction, *Am. J. Hum. Genet.* 44 (1989) 388–396.
 117. J.M. Wheeler, W.F. Bodmer, N.J. Mortensen, DNA mismatch repair genes and colorectal cancer, *Gut* 47 (2000) 148–153.
 118. R. Parsons, G.M. Li, M.J. Longley, W.H. Fang, N. Papadopoulos, J. Jen, A. de la Chapelle, K.W. Kinzler, B. Vogelstein, P. Modrich, Hypermethylability and mismatch repair deficiency in RER+ tumor cells, *Cell* 75 (1993) 1227–1236.
 119. D. Shibata, M.A. Peinado, Y. Ionov, S. Malkhosyan, M. Perucho, Genomic instability in repeated sequences is an early somatic event in colorectal

- tumorigenesis that persists after transformation, *Nat. Genet.* 6 (1994) 273–281.
120. N.R. Farid, Y. Shi, M. Zou, Molecular basis of thyroid cancer, *Endocr. Rev.* 15 (1994) 202–232.
 121. I.M. Frayling, Microsatellite instability, *Gut* 45 (1999) 1–4.
 122. R.S. Tebbs, Y. Zhao, J.D. Tucker, J.B. Scheerer, M.J. Siciliano, M. Hwang, N. Liu, R.J. Legerski, L.H. Thompson, Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92 (1995) 6354–6358.
 123. N. Liu, J.E. Lamerdin, R.S. Tebbs, D. Schild, J.D. Tucker, et al. XRCC2 and XRCC3, new human Rad51-family members, promote chromosome stability and protect against DNA cross-links and other damages, *Mol. Cell.* 1 (1998) 783–793.
 124. J.Y. Masson, A.Z. Stasiak, A. Stasiak, F.E. Benson, S.C. West, Complex formation by the human RAD51C and XRCC3 recombination repair proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 8440–8446.
 125. M.R. Shen, I.M. Jones, H. Mohrenweiser, Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans, *Cancer Res.* 58 (1998) 604–608.
 126. S. Bell, C. Klein, L. Müller, S. Hansen, J. Buchner, p53 contains large unstructured regions in its native state, *J. Mol. Biol.* 322 (2002) 917–927.
 127. C.J. McCabe, N.J. Gittoes, PTTG – a new pituitary tumour transforming gene, *J. Endocrinol.* 162 (1999) 163–166.
 128. J. Tfelt-Hansen, D. Kanuparthi, N. Chattopadhyay, The emerging role of pituitary tumor transforming gene in tumorigenesis, *Clin. Med. Res.* 4 (2006) 130–137.
 129. A.P. Heaney, V. Nelson, M. Fernando, G. Horwitz, Transforming events in thyroid tumorigenesis and their association with follicular lesions, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (2001) 5025–5032.
 130. K. Boelaert, C.J. McCabe, L.A. Tannahill, N.J. Gittoes, R.L. Holder, J.C. Watkinson, A.R. Bradwell, M.C. Sheppard, J.A. Franklyn, Pituitary tumor transforming gene and fibroblast growth factor-2 expression: potential

- prognostic indicators in differentiated thyroid cancer, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88 (2003) 2341–2347.
131. D. Kim, H. Pemberton, A.L. Stratford, K. Buelaert, J.C. Watkinson, V. Lopes, J.A. Franklyn, C.J. McCabe, Pituitary tumour transforming gene (PTTG) induces genetic instability in thyroid cells, *Oncogene* 24 (2005) 4861–4866.
 132. D.S. Kim, J.A. Franklyn, K. Boelaert, M.C. Eggo, J.C. Watkinson, C.J. McCabe, Pituitary tumor transforming gene (PTTG) stimulates thyroid cell proliferation via a vascular endothelial growth factor/ kinase insert domain receptor/inhibitor of DNA binding-3 autocrine pathway, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91 (2006) 4603–4611.
 133. A.L. Stratford, K. Boelaert, L.A. Tannahill, D.S. Kim, A. Warfield, M.C. Eggo, N.J. Gittoes, L.S. Young, J.A. Franklyn, C.J. McCabe, Pituitary tumor transforming gene binding factor: a novel transforming gene in thyroid tumorigenesis, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90 (2005) 4341–4349.
 134. C. Sáez, M.A. Martínez-Brocca, C. Castilla, A. Soto, E. Navarro, M. Tortolero, J.A. Pintor-Toro, M.A. Japón, Prognostic significance of human pituitary tumor-transforming gene immunohistochemical expression in differentiated thyroid cancer, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91 (2006) 1404–1409.
 135. F. Salehi, K. Kovacs, B.W. Scheithauer, R.V. Lloyd, M. Cusimano, Pituitary tumor-transforming gene in endocrine and other neoplasms: a review and update, *Endocr. Relat. Cancer* 15 (2008) 721–743.
 136. F. Romero, M.C. Multon, F. Ramos-Morales, A. Domínguez, J.A. Bernal, J.A. Pintor-Toro, M. Tortolero, Human securin, hPTTG, is associated with Ku heterodimer, the regulatory subunit of the DNA dependent protein kinase, *Nucleic Acids Res.* 29 (2001) 1300–1307.
 137. T. Rubinek, V. Chesnokova, I. Wolf, K. Wawrowsky, G. Vlotides, S. Melmed, Discordant proliferation and differentiation in pituitary tumor-transforming gene-null bone marrow stem cells, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 293 (2007) C1082–C1092.

138. V. Chesnokova, S. Zonis, T. Rubinek, R. Yu, A. Ben-Shlomo, K. Kovacs, K. Wawrowsky, S. Melmed, Senescence mediates pituitary hypoplasia and restrains pituitary tumor growth, *Cancer Res.* 67 (2007) 10564–10572.
139. M. Santoro, N.A. Dathan, M.T. Berlingieri, I. Bongarzone, C. Paulin, M. Grieco, M.A. Pierotti, G. Vecchio, A. Fusco, Molecular characterization of RET/PTC3; a novel rearranged version of the RET proto-oncogene in a human thyroid papillary carcinoma, *Oncogene* 9 (1994) 509–516.
140. F. Minoletti, M.G. Butti, S. Coronelli, M. Miozzo, G. Sozzi, S. Pilotti, A. Tunnacliffe, M.A. Pierotti, I. Bongarzone, The two genes generating RET/PTC3 are localized in chromosomal band 10q11.2, *Genes Chromosomes Cancer* 11 (1994) 51–57.
141. Y.E. Nikiforov, A. Koshoffer, M. Nikiforova, J. Stringer, J.A. Fagin, Chromosomal breakpoint positions suggest a direct role for radiation in inducing illegitimate recombination between the ELE1 and RET genes in radiation-induced thyroid carcinomas, *Oncogene* 18 (1999) 6330–6334.
142. I. Bongarzone, M.G. Butti, L. Fugazzola, F. Pacini, A. Pinchera, T.V. Vorontsova, E.P. Demidchik, M.A. Pierotti, Comparison of the breakpoint regions of ELE1 and RET genes involved in the generation of RET/PTC3 oncogene in sporadic and in radiation-associated papillary thyroid carcinomas, *Genomics* 42 (1997) 252–259.
143. S. Klugbauer, P. Pfeiffer, H. Gassenhuber, C. Beimfohr, H.M. Rabes, RET rearrangements in radiation-induced papillary thyroid carcinomas: high prevalence of topoisomerase I sites at breakpoints and microhomology-mediated end joining in ELE1 and RET chimeric genes, *Genomics* 73 (2001) 149–160.
144. L.F. Povirk, Biochemical mechanisms of chromosomal translocations resulting from DNA double-strand breaks, *DNA Repair* 5 (2006) 1199–1212.
145. S. Klugbauer, E. Lengfelder, E.P. Demidchik, H.M. Rabes, High prevalence of RET rearrangement in thyroid tumors of children from Belarus after the Chernobyl reactor accident, *Oncogene* 11 (1995) 2459–2467.
146. L. Fugazzola, S. Pilotti, A. Pinchera, T.V. Vorontsova, P. Mondellini, I. Bongarzone, A. Greco, L. Astakhova, M.G. Butti, E.P. Demidchik, F. Pacini, M.A. Pierotti, Oncogenic rearrangements of the RET protooncogene in

- papillary thyroid carcinomas from children exposed to the Chernobyl nuclear accident, *Cancer Res.* 55 (1995) 5617–5620.
147. Y.E. Nikiforov, J.M. Rowland, K.E. Bove, H. Monforte-Munoz, J.A. Fagin, Distinct pattern of ret oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children, *Cancer Res.* 57 (1997) 1690–1694.
 148. J. Smida, K. Salassidis, L. Hieber, H. Zitzelsberger, A.M. Kellerer, E.P. Demidchik, T. Negele, F. Spelsberg, E. Lengfelder, M. Werner, M. Bauchinger, Distinct frequency of ret rearrangements in papillary thyroid carcinomas of children and adults from Belarus, *Int. J. Cancer* 80 (1999) 32–38.
 149. H.M. Rabes, S. Klugbauer, Molecular genetics of childhood papillary thyroid carcinomas after irradiation: high prevalence of RET rearrangement, *Recent Results Cancer Res.* 154 (1998) 248–264.
 150. R. Elisei, B. Cosci, C. Romei, L. Agate, P. Piampiani, P. Miccoli, P. Berti, F. Basolo, C. Ugolini, R. Ciampi, Y. Nikiforov, A. Pinchera, Identification of a novel point mutation in the RET gene (Ala833Thr), which is associated with medullary thyroid carcinoma phenotype only in homozygous condition, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89 (2004) 5823–5827.
 151. Giaginis C, Tsourouflis G, Zizi-Serbetzoglou A et al: Clinical Significance of Ephrin (Eph)-A1, -A2, -A4, -A5 and -A7 Receptors in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res*, 2010; 16(2): 267-76
 152. Giaginis C, Zarros A, Alexandrou P et al: Evaluation of coxsackievirus and adenovirus receptor expression in human benign and malignant thyroid lesions. *APMIS*, 2010; 118: 210-21
 153. Leenhardt L, Grosclaude P, Cherie-Challine L: 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: 1056-60
 154. Jemal A, Siegel R, Ward E et al: Cancer statistics, 2009, CA. *Cancer J Clin*, 2009; 59: 225-49
 155. Davies L, Welch HG: Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA*, 2006; 295: 2164-67

156. Ward EM, Jemal A, Chen A: Increasing incidence of thyroid cancer: is diagnostic scrutiny the sole explanation? *Future Oncol*, 2010; 6: 185-88
157. 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: 2638-48
158. Stang MT, Carty SE: Recent developments in predicting thyroid malignancy. *Curr Opin Oncol*, 2009; 21: 11-17
159. Hoeijmakers JH: Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*, 2001; 411: 366-74
160. Giaginis C, Michailidi C, Stolakis V, Alexandrou P, et al. Expression of DNA repair proteins MSH2, MLH1 and MGMT in human benign and malignant thyroid lesions: An immunohistochemical study *Med Sci Monit*, 2011; 17(3): BR81-90
161. Kitajima Y, Miyazaki K, Matsukura S et al: Loss of expression of DNA repair enzymes MGMT, hMLH1 and hMSH2 during tumor progression in gastric cancer. *Gastric Cancer*, 2003; 6: 86-95
162. Soejima H, Zhao W, Mukai T: Epigenetic silencing of the MGMT gene in cancer. *Biochem Cell Biol*, 2005; 83: 429-37
163. Arif S, Blanes A, Diaz-Cano SJ: Hashimoto's thyroiditis shares features with early papillary thyroid carcinoma. *Histopathology*, 2002; 41: 357-62
164. Kang DY, Kim KH, Kim JM et al: High prevalence of RET, RAS, and ERK expression in Hashimoto's thyroiditis and in papillary thyroid carcinoma in the Korean population. *Thyroid*, 2007; 17: 1031-38
165. Mitmaker E, Alvarado C, Bégin LR, Trifiro M: Microsatellite Instability in Benign and Malignant Thyroid Neoplasms. *J Surg Res*, 2008; 150:40-48
166. Soares P, dos Santos NR, Seruca R et al: Benign and malignant thyroid lesions show instability in microsatellite loci. *Eur J Cancer*, 1997; 33:293-96
167. Lazzereschi D, Palmirotta R, Ranieri A et al: Microsatellite instability in thyroid tumors and tumor-like lesions. *Br J Cancer*, 1999; 79: 340-45
168. Vaish M, Mishra SK, Mandhami A et al: Assessment of microsatellite instability in bladder and thyroid malignancies. *Teratog Carcinog Mutagen*, 2003; Suppl.1: 255-65

169. Vaish M, Mishra A, Kaushal M et al: Microsatellite instability and its correlation with clinicopathological features in a series of thyroid tumors prevalent in iodine deficient areas. *Exp Mol Med*, 2004; 36: 122-29
170. Shia J: Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. the utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn*, 2008; 10: 293-300
171. Tachibana KE, Gonzalez MA, Coleman N: Cell-cycle-dependent regulation of DNA replication and its relevance to cancer pathology. *J Pathol*, 2005; 205: 123-29
172. Giaginis C, Vgenopoulou S, Vielh P, Theocharis S: MCM proteins as diagnostic and prognostic markers in the clinical setting. *Histol Histopathol*, 2010; 25: 351-70
173. Okayasu I, Saegusa M, Fujiwara M et al: Enhanced cellular proliferative activity and cell death in chronic thyroiditis and thyroid papillary carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1995; 121: 746-52
174. Berends MJW, Hollema H, Wu Y et al: MLH1 and MSH2 protein expression as a pre-screening marker in hereditary and non-hereditary endometrial hyperplasia and cancer. *Int J Cancer*, 2001; 92: 398-403
175. Felton KE, Gilchrist DM, Andrew SE: Constitutive deficiency in DNA mismatch repair. *Clin Genet*, 2007; 71: 483-98
176. Shia J, Ellis NA, Klimstra DS: The utility of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair gene proteins. *Virchows Arch*, 2004; 445: 431-41
177. Staebler A, Laf SF, Hedrick Ellenson L: Altered expression of hMLH1 and hMSH2 protein in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *Hum Pathol*, 2000; 31: 354-58
178. Öksüz H. Tiroidin papiller karsinomlarında Galektin-3 ve sitokeratin-19 ekspresyonlarının tümör progresyonu ile ilişkisi. (uzmanlık tezi). Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2005, İstanbul.
179. Ott RA, McCall AR, McHenry C, Jarosz H, Armin A, Lawrence AM, Paloyan E. The incidence of thyroid carcinoma in Hashimoto's thyroiditis. *Am Surg* 1987; 53(8): 442-5.

180. Rio PD, Cataldo S, Sommaruga L, Concione L, Arcuri MF, Sianesi M. The association between papillary carcinoma and chronic lymphocytic thyroiditis. *Minerva Endocrinol* 2008; 33: 1-5.
181. Dobosz T, Lukienczuk T, Sasiadek M et al: Microsatellite instability in thyroid papillary carcinoma and multinodular hyperplasia. *Oncology* 58: 305-310, 2000.
182. Richter HE, Lohrer HD, Hieber L et al: Microsatellite instability and loss of heterozygosity in radiation associated thyroid carcinomas of Belarussian children and adults. *Carcinogenesis* 20: 2247-2252, 1999.
183. Kok K, Naylor SL and Buys CH: Deletion of the short arm of chromosome 3 in solid tumors and the search for suppressor genes. *Adv Cancer Res* 71: 27-92, 1997.

