

Klinik Araştırma

Benign ve Malign Tiroid Lezyonlarının Ayırımında İmmünohistokimyanın Kullanımı

İsmail SAYGIN^{1,a}, Abdulkadir REİS², Yavuz ÖZORAN², Ümit ÇOBANOĞLU¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

²Avrasya Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı benign ve malign tiroid lezyonlarında, ayırıcı tanı güçlüğüne aşılması amacıyla CK19, HBME1, CITED1 ve Galektin3 gibi değişik potansiyel tanısal immünohistokimyasal belirleyicilerin katkısını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu retrospektif çalışmaya FA, FC, PC ve AN/HN tanısı almış toplam 121 vaka dahil edilmiştir. Vakalar tekrar gözden geçirildikten sonra uygun bloklara immünohistokimyasal işaretleyiciler çalışılmıştır. Lezyonun %10 ve üstünün boyanması pozitif olarak kabul edilmiştir. Ayrıca lezyonların boyanma yoğunluğu üç dereceye ayrılarak (hafif-orta-kuvvetli) yorumlanmıştır. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Niteleksel verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

Bulgular: Tüm vakaların İHK işaretleyiciler ile pozitif ve negatif boyanma oranları, lezyonlara göre tekli, ikili ve üçlü olarak karşılaştırmalı sonuçları tablolar ile gösterilmiştir.

Sonuç: Tiroidin benign ve malign lezyonlarının ayırımında CITED1 dışındaki bu üç immünohistokimyasal işaretleyici panel halinde kullanılmalıdır. CITED1 dışındaki diğer üç işaretleyicinin özellikle benign-malign ayırımında yararlı olduğu sonuçlarına varılmıştır. Diğer önemli sonuçlar makale içinde verilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Tiroid, Benign ve Malign, İmmünohistokimya.

ABSTRACT

Diagnostic Use of Immunohistochemical Markers in Benign and Malignant Thyroid Lesions

Objective: The aim of this study is evaluate benign and malignant thyroid lesions and evaluate the contribution of various diagnostic immunohistochemical markers such as CK19, HBME1, CITED1 and Galectin3.

Material and Method: This retrospective study includes 121 cases which were diagnosed as FA, FC, PC and AN/HN. Cases were reviewed again and immunohistochemical markers were studied by the suitable paraffin blocks. By the staining of the lesion, 10% and upper levels of expression were accepted as positive. In addition, the intensity of the expression was interpreted in three degrees (mild-moderate-strong). The results were evaluated statistically. Pearson Chi-square test was used to compare qualitative data. Significance level was taken as $p < 0.05$.

Results: The positive and negative expression rates demonstrated by immunohistochemical markers and the comparative results are shown at the tables.

Conclusion: In the differentiation of benign and malignant lesions of the thyroid, these three immunohistochemical markers other than CITED1 should be used. It was concluded that three markers except CITED1 were particularly useful in the differentiation of benign and malignant. Other results are given in the conclusion of the article.

Keywords: Thyroid, Benign and Malignant, Immunohistochemistry.

Bu makale atıfta nasıl kullanılır: Saygin İ, Reis A, Özoran Y, Çobanoğlu Ü. Benign ve Malign Tiroid Lezyonlarının Ayırımında İmmünohistokimyanın Kullanımı. Firat Tıp Dergisi 2019; 24 (4): 231-236.

How to cite this article: Saygin I, Reis A, Ozoran Y, Cobanoglu U. Diagnostic Usefulness of Immunohistochemical Markers in Benign and Malignant Thyroid Lesions. Firat Med J 2019; 24 (4): 231-236.

Tiroid kansinimleri en sık görülen malign endokrin tümörlerdir (1). Ele gelen tiroid nodülü popülasyonun yalnızca %5-10'unda saptanmakta olup, bunların büyük çoğunluğu benign folliküler neoplazilerden oluşurken yalnızca %2-5'i maligndir. Olguların %95'ten fazlası primer ve epitelyal orjinlidir (1, 2).

Tiroidin follikül hücresi kökenli kanserlerinde morfolojik fenotip, klinik davranış ve genotipik yönden belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Tiroid kanserlerinde majör fenotipik özellikler dikkate alındığında; papiller tiroid kanserinde özgün nükleer yapı, folliküler kanserlerde invazivite, medüller kansinimlerde nöroendokrin

özellik, az diferansiye veya indiferansiye kansinimlerde ise yüksek mitoz, anaplastik hücresel özellik ve yaygın nekroz baskın nitelikler olarak görülür (2). Ancak alınan çok sayıda doku örneğine ve yapılan seri kesitlere rağmen folliküler paternli tiroid lezyonlarının ayırıcı tanısı oldukça zordur. Folliküler paternli tiroid lezyonları olarak adlandırılan lezyonlar; adenomatöz nodül/hiperplastik nodül (AN/HN), folliküler adenom (FA), folliküler kansinom (FC), papiller kansinom folliküler varyant (PCFV), hurtle hücreli adenom ve kansinomdur. Bu lezyonlar en deneyimli patologlar arasında bile farklı yorumlanabilmektedir.

^aYazışma Adresi: İsmail SAYGIN, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

Tel: 0462 325 3205

Geliş Tarihi/Received: 05.07.2018

e-mail: ismailsaygin@ktu.edu.tr

Kabul Tarihi/Accepted: 16.05.2019

Klinik ve cerrahi planlama için kesin ve kusursuz bir patolojik tanı gereklidir. Benign lezyonların daha az agresif prosedürler ile tedavi edilmesi, malign lezyonlara ise farklı yaklaşılması, yapılacak olan ek cerrahi, radyoaktif iyot tedavileri ve hastaların psikolojilerinin korunması nedeni ile benign ve malign ayrımının yapılması önem arz etmektedir.

Bu nedenle tiroid lezyonlarında benign ve malign ayrımında yardımcı yöntemler aranmaktadır. Bizde bu çalışmada benign folliküler paternli tiroid lezyonlarından FA, AN/HN, malign folliküler paternli tiroid lezyonlarından FC ve papiller karsinomların (PC) rutin histolojik ayırımında Galektin3, HBME1 (Hector Battifora Mesothelial Cell 1), CK19 (Sitokeratin 19) ve CITED1'in (CBP/p 300-Interacting Transactivators with glutamic acid [E] and aspartic acid [D]-rich C-terminal domain) katkısını araştırdık. PC'lar içinde klasik ve folliküler varyantlar bulunmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında; 28 FA, 18 FC, 47 PC ve AN veya HN tanısı almış 28 vaka olmak üzere toplam 121 vakaya ait ve lezyonu temsil eden parafin bloklar üzerinden yapıldı. PC grubundaki vakaların ise 43'ü klasik ve 4'ü folliküler varyanttır. Çalışmaya dahil edilen vakaların 108'inde çevre normal tiroid dokusu da temsil edilmiştir. Parafin bloklardan adhezivli lamalar üzerine immünohistokimyasal (İHK) boya yapmak üzere Leica RM 2155 Rotary mikrotom cihazı ile 5 mikron kalınlığında ikişer adet kesit alındı.

İmmünohistokimyasal boyamalar Benchmark XT (Ventana Medical systems, Inc, Tucson, AZ) otomatik cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. İmmünohistokimya için CK19 (Neomarkers, Clone A53-B7/A2.2C), Galektin3 (Neomarkers, Clone PC4), CITED1 (Neomarkers, Rabbit poliklonal), HBME1 (Neomarkers, Monoclonal) antikorları kullanıldı. Pozitif kontrol olarak; CK19 için deri dokusu, HBME1 için mezotelyoma, Galektin3 için büyük hücreli anaplastik lenfoma, CITED1 için meme dokusu çalışıldı (3). Değerlendirme Olympus BX50 mikroskop ile tek bir gözlemci tarafından değerlendirildi. Lezyonun %10 ve daha fazlasının boyandığı olgular pozitif kabul edildi (3). Kolloid, eritrosit ve follikül epitel hücresi dışı diğer boyanmalar ise negatif olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal işaretleyicilerin boyanma derecesi; boyanma yok ise negatif, boyanma hafif derecede ise bir pozitif (+), orta derecede ise iki pozitif (++), kuvvetli derecede ise üç pozitif (+++) olarak kabul edildi (4). Ayrıca farklı grup lezyonlar karşılaştırılırken ise boyanmanın derecesine bakılmaksızın tümü pozitif ve negatif olarak da ele alındı.

Vakaların tümü antikorları ile ekspresyon özellikleri açısından karşılaştırılarak istatistiksel analize tabi tutuldu. Verilerin analiz aşamasında SPSS 18,0 istatistik paket programı kullanıldı. İstatistiksel analizlerde niteliksel verilerin karşılaştırılması "Pearson Ki-kare"

testi ile yapıldı. Sayımla elde edilen veriler % olarak ifade edildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

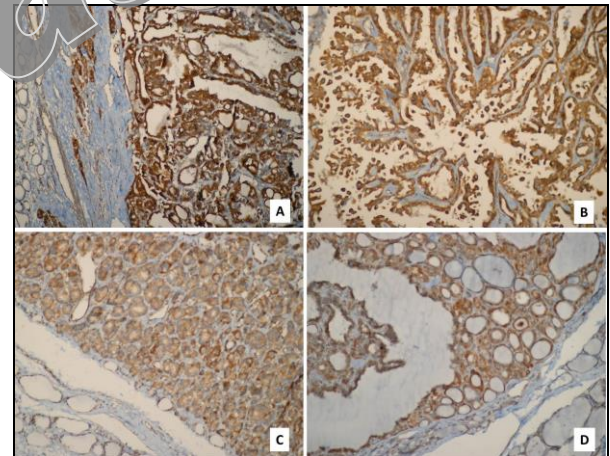
BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen vakaların 18'i FC, 47'si PC, 28'i FA, 28'i AN/HN'dür. Bu vakaların 97'si (%80,2) kadın, 24'ü (%19,8) erkektir. Tüm vakaların İHK işaretleyiciler ile boyanma durumları tablo 1'de birlikte gösterilmiştir.

Tablo 1. Tüm vakaların immünohistokimyasal işaretleyiciler ile olan boyanma şiddetleri.

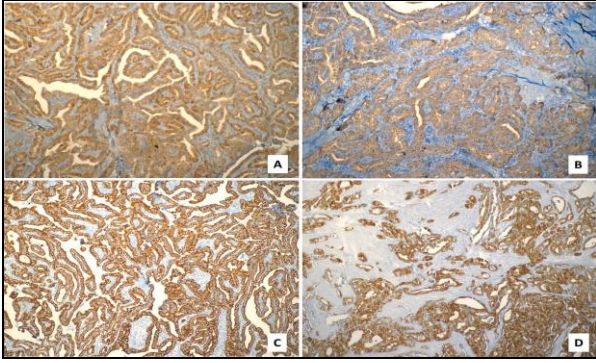
Lezyon Tipi	Boyanma derecesi	HBME1 n (%)	Galektin3 n (%)	CK19 n (%)	CITED1 n (%)
FC	Negatif	9 (50,0)	7 (38,9)	11 (61,1)	0 (0,0)
	Hafif (+)	3 (16,7)	7 (38,9)	0 (0,0)	5 (27,8)
	Orta (++)	4 (22,2)	1 (5,6)	2 (11,1)	6 (33,3)
	Kuvvetli (+++)	2 (11,1)	3 (16,6)	5 (27,8)	7 (38,9)
PC	Negatif	6 (12,8)	14 (29,8)	2 (4,3)	2 (4,3)
	Hafif (+)	8 (17,0)	16 (34,0)	1 (2,1)	2 (4,3)
	Orta (++)	19 (40,4)	21 (44,6)	0 (0,0)	2 (4,3)
	Kuvvetli (+++)	14 (29,8)	12 (25,5)	4 (9,6)	41 (87,2)
FA	Negatif	28 (82,1)	24 (85,7)	11 (35,7)	1 (3,6)
	Hafif (+)	5 (17,9)	4 (14,3)	7 (3,6)	14 (50)
	Orta (++)	0 (0,0)	0 (0,0)	8 (28,6)	10 (35,7)
	Kuvvetli (+++)	0 (0,0)	0 (0,0)	9 (32,1)	3 (10,7)
AN/HN	Negatif	14 (50,0)	28 (100)	15 (53,6)	1 (3,6)
	Hafif (+)	7 (25,0)	0 (0,0)	2 (7,1)	7 (25,0)
	Orta (++)	5 (17,9)	0 (0,0)	8 (28,6)	14 (50,0)
	Kuvvetli (+++)	2 (7,1)	0 (0,0)	3 (10,7)	6 (21,4)

CITED1 hem benign, hem malign lezyonlarda yüksek oranda pozitif sonuç vermiştir (Resim 1).



Resim 1. A: CITED1 X 200: Folliküler karsinom, B: CITED1 X 200: Papiller karsinom, C: CITED1 X 100: Folliküler adenom, D: CITED1 X 200: Adenomatöz nodül / hiperplastik nodül.

AN/HN'lerin tümü Galektin3 ile negatif sonuç vermiştir. PC'lerde ise tüm işaretleyicilerle yüksek oranda pozitiflik görülmüştür (Resim 2).



Resim 2. A: CITED1 X 100: Papiller karsinom, B: HBME1 X 100: Papiller karsinom, C: CK19 X 100: Papiller karsinom, D: Galektin3 x 100: Papiller karsinom.

Tablo 2. Tüm vakaların pozitif (Hafif, orta, kuvvetli boyanmaların tümü) ve negatif olarak İHK işaretleyicilerle boyanma oranları.

Lezyon Tipi	n	HBME1		CK19		Galektin3		CITED1	
		(+) %	(-) %	(+) %	(-) %	(+) %	(-) %	(+) %	(-) %
FC	18	9(50)	9(50)	7(38,9)	11(61,1)	11(61,1)	7(38,9)	18(100)	0(0,0)
PC	47	41(87,2)	6(12,8)	45(95,7)	2(4,3)	33(70,2)	14(29,8)	45(95,7)	2(4,3)
FA	28	5(17,9)	23(82,1)	18(64,3)	10(35,7)	4(14,3)	24(85,7)	27(96,4)	1(3,6)
AN/HN	28	14(50)	14(50)	13(46,4)	15(53,6)	0(0,0)	28(100)	27(96,4)	1(3,6)

FC ve PC’larda tüm işaretleyicilerle yüksek oranda pozitiflik mevcuttur. Ancak FA’da HBME1 ve Galektin3 ile boyanma oranı düşüktür. AN/HN’lerde ise CITED1 dışındaki işaretleyiciler ile boyanma oranı düşüktür. Ayrıca CITED1 malign lezyonlarda olduğu gibi benign lezyonlarda da yüksek oranda pozitiflik göstermektedir. HBME-1’in tek başına PC ile FA ayrımında sensitivitesi %87,2 spesifitesi %82,1 bulunmuştur. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p <0.001). FC ile FA ayrımında ise HBME1’in sensitivitesi %50 spesifitesi %82,1 bulunmuştur ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır (p =0,047). Yüzyedi vakada lezyon çevresinde bulunan normal tiroid dokuda Galektin-3 ile 105 vakada (%97,2) negatif, 3 vakada (%2,8) hafif pozitif boyanma görülmüş. HBME1 ile 101 vakadani çevre dokuda (%93,5) negatif, 5 vakada (%4,7) hafif, 1 vaka (%0,9) orta, 1 vaka (%0,9) kuvvetli boyanma görülmüştür. CK 19 ile çevre dokuda 10 vaka (%9,3) negatif, 44 vaka (%40,7) hafif, 38 vaka (%35,2) orta, 16 vaka (%14,8) kuvvetli boyanma gösterirken ve CITED1 ile 84 (%77,8) vaka hafif, 22 (%20,4) vaka orta şiddette boyanma göstermektedir. Vakaları benign (AN/HN ve FA) ve malign (FC ve PC) diye ayırdığımızda ise tüm işaretleyicilerle boyanma sonuçları tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Tüm İHK’ sal işaretleyiciler ile benign ve malign lezyonlar da boyanma oranları.

İHK Marker	Lezyon Tipi	Negatif n (%)	Pozitif*** n (%)	Toplam n (%)	p değeri
HBME1	Malign *	15 (23,1)	50 (76,9)	65 (100)	<0,001
	Benign**	37 (66,1)	19 (33,9)	56 (100)	
Galektin3	Malign *	21 (32,3)	44 (67,7)	65 (100)	<0,001
	Benign**	52 (92,9)	4 (7,1)	56 (100)	
CITED1	Malign *	2 (3,1)	63 (96,9)	65 (100)	1,000
	Benign**	2 (3,6)	54 (96,4)	56 (100)	
CK19	Malign *	13 (20,0)	52 (80)	65 (100)	0,007
	Benign**	25 (44,6)	31 (55,4)	56 (100)	

*Malign: FC ve PC, **Benign: AN/HN ve FA, ***hafif, orta, şiddetli boyanmaların tümü.

Her bir lezyon için tüm İHK işaretleyiciler ile olan boyanma sonuçları ve boyanma şiddetleri tablo1’de verilmiştir. CK19 tüm lezyonlarda kuvvetli boyanma oranı en yüksek olan İHK işaretleyicidir. CITED1 dışındaki işaretleyiciler benign lezyonların çoğunda negatiftir. Ancak CITED1 hem benign hem malign lezyonlarda yüksek oranda pozitiflik göstermektedir. Tüm lezyonların pozitif (hafif, orta ve kuvvetli boyanmaların tümü) ve negatif olarak değerlendirme sonuçları tablo 2’de görülmektedir.

HBME1 ve CK19 diğer işaretleyicilere göre malign gruptaki vakalarda daha yüksek oranda pozitiflik göstermektedir. Galektin3 ise benign lezyonların önemli bir kısmında negatif sonuç vermiştir. Buna göre benign/malign ayrımında ise Galektin3’ün sensitivitesi %57,7 spesifitesi %92,9’dur (p <0.001). Benign/malign ayrımında CK19 %80 sensitivite ile ilk sıradadır (p <0,007). Ancak HBME1 %76,9 sensitivite ve %66,1 spesifite göstermektedir (p <0.001). CITED1’in benign/malign ayrımında sensitivitesi %96,9 iken spesifitesi ise %3,6’dır. HBME1, Galektin3 ve CK19’un ikili ve üçlü birlikte boyanmaları ise tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. HBME1, Galektin3 ve CK19’un ikili ve üçlü birlikte pozitif boyanma oranları.

İHK Marker	Lezyon Tipi	Pozitif* n (%)	Negatif** n (%)	Toplam n (%)	p değeri
Galektin3 CK19	FC	6 (33,3)	12 (66,7)	18 (100)	<0,001
	PC	33 (70,2)	14 (29,8)	47 (100)	
	FA	4 (14,3)	24 (85,7)	28 (100)	
	HN / AN	0 (0,0)	28 (100)	28 (100)	
HBME1 CK19	Malign	39 (60,0)	26 (40,0)	65 (100)	<0,001
	Benign	4 (7,1)	52 (92,9)	56 (100)	
	FC	6 (33,3)	12 (66,7)	18 (100)	
	PC	41 (87,2)	6 (12,8)	47 (100)	
HBME1 Galektin3	FA	3 (10,7)	25 (89,3)	28 (100)	<0,001
	HN / AN	7 (25,0)	21 (75,0)	28 (100)	
	Malign	47 (72,3)	18 (27,7)	65 (100)	
	Benign	10 (17,9)	46 (82,1)	56 (100)	
HBME1 Galektin3	FC	6 (33,3)	12 (66,7)	18 (100)	<0,001
	PC	31 (66,0)	16 (34,0)	47 (100,0)	
	FA	1 (3,6)	27 (96,4)	28 (100,0)	
	HN / AN	0 (0,0)	28 (100)	28 (100)	
HBME1 Galektin3 CK19	Malign	37 (56,9)	28 (43,1)	65 (100,0)	<0,001
	Benign	1 (1,8)	55 (98,2)	56 (100)	
	FC	5 (27,8)	13 (72,2)	18 (100)	
	PC	31 (66,0)	16 (34,0)	47 (100)	
HBME1 Galektin3 CK19	FA	1 (3,6)	27 (96,4)	28 (100)	<0,001
	HN / AN	0 (0,0)	28 (100)	28 (100)	
	Malign	36 (55,4)	29 (44,6)	65 (100)	
	Benign	1 (1,8)	55 (98,2)	56 (100)	

*Hafif, orta ya da kuvvetli boyanmaların tümü, **HBME1, Galektin3 ve CK19 ile ikili ya da üçlü boyanmalarda en az birinin negatif olması.

HBME1 ve CK19'un birlikte pozitif boyanma oranları benign lezyonlarda %17,9 iken malign lezyonlarda bu oran %72,3 olarak bulunmuştur. Buna göre HBME1 ve CK19'un benign/malign ayırımında sensitivitesi %72,3 spesifitesi %82,2'dir (p <0.001). HBME1 ve Galektin3'ün birlikte pozitifliğinin benign/malign ayırımında sensitivitesi %56,9 spesifitesi %98,2 iken CK19 ve Galektin3'ün birlikte pozitifliğinin ise sensitivitesi %60 spesifitesi %92,9'dur (p <0.001).

HBME1, Galektin3 ve CK19'un üçünün birlikte malign lezyonlarda pozitif boyanma oranı %55,4 iken benign lezyonlarda bu oran %1,8'dir. Benign/malign ayırımında HBME1, Galektin3 ve CK19 üçlüsünün sensitivitesi %55,4 iken spesifitesi %98,2'dir. P değerlerine bakıldığında ikili ya da üçlü boyanmaların tümünde anlamlı bulunmuştur (p <0,001).

TARTIŞMA

Tiroid tümörlerinin histolojik sınıflandırmasında gözlemciler arasında bazen kabul edilebilir ölçüde fark vardır. Saxen ve ark. (5) intra ve interobserver tekrarlanabilirliği belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada değerlendirilen olguların yalnızca %58'sinde tüm gözlemcilerin aynı tanıda birleştiği saptanmıştır. Tanı uyumsuzluğu %7 ile en az PC'larda gözlenirken, %27 ile en fazla FC'larda gözlenmiştir. En fazla birbirinden uzaklaşan tanıları FC yerine PC ve benign tiroid lezyonu yerine FC denmesi olmuştur.

Çalışmamızda CITED1'in benign/malign tüm tiroid lezyonlarında ve normal tiroid dokusunda oldukça yüksek oranlarda pozitif sonuç verdiği görülmüştür. CITED1'in benign/malign ayırımında sensitivitesi çok yüksek iken spesifitesi ise oldukça düşüktür. CITED1'i pozitif-negatif olarak değerlendirdiğimizde benign/malign lezyonları birbirinden ayırma katkıda bulunmadığı görülmüştür. Ancak boyanma şiddetine göre bakıldığında, çevre normal ya da guatrli tiroid dokusunda CITED1 ile kuvvetli pozitif boyanma saptanmamıştır. Daha çok hafif şiddette boyanma görülmüştür. Buna göre CITED1, benign/malign ayırımında malign lezyonlarda boyanma şiddetinin daha yüksek olması ile anlam kazanmaktadır. Manju ve ark. (3) yaptığı çalışmada, bizim çalışmamıza benzer nitelikte nonneoplastik tiroid dokuda hafif fokal, malign lezyonlarda ise kuvvetli diffüz boyanma görülmüştür.

FC, FA ve AN/HN'lerde CITED1 boyanma şiddetleri bakımından anlamlı bir fark göstermemektedir. Buna rağmen PC'da ise 41 vakada kuvvetli pozitif boyanma dikkat çekmektedir. Böylece boyanma şiddetine göre değerlendirildiğinde; PC'lar için %87,2 oranında kuvvetli pozitif boyanma, FC'lar ve benign lezyonlar ile karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuçtur. Yani CITED1 PC'ları kuvvetli pozitif boyanma ile ayırt etmektedir diyebiliriz. Manju ve ark. (3) yaptığı çalışmada bizim çalışmaya benzer olarak CITED1'i PC için yüksek spesifik bulunmuştur. Scognamiglio ve ark. (6) ise yaptığı çalışmada CITED1'i, PC'lar için CK-19'dan daha az sensitif ve HBME1'den daha az spesifik bulunmuş-

tur. Yine Manju ve ark. (7) yaptığı başka bir çalışmada CITED1, PC'lar için "öncelikli tercih edilebilecek tanısal bir işaretleyicidir" ifadesi kullanılmıştır.

Benign/malign ayırımında Galektin3 faydalı bulunmuştur. Galektin3 malign lezyonlar içerisinde PC'larda FC'lara oranla daha yüksek oranda pozitif boyanmaktadır. Park ve ark. (8) yaptığı çalışmada Galektin3 için benzer sonuçlar elde etmişler. Bizim sonuçlarımıza zıt olarak Galektin3'ün benign/malign ayırımında faydalı olmadığını bildiren çalışmalarda olmuştur (9). Dikkat çekilen bir başka nokta ise Galektin3'ün malign lezyonlarda genellikle kuvvetli pozitif boyanmasına karşın, fokal pozitifliğin de olabileceği, bu nedenle Galektin3 negatif olgularda yanlış negatif sonuçtan korunmak için seri kesitlerle tekrar değerlendirilmesinin uygun olacağıdır (9, 10).

Bizim çalışmamızda Galektin3'ün FA'lar için %14,3 oranında pozitif boyanma göstermektedir. Literatürde FA için Galektin3 ile pozitif boyanma %0-33 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (4). Bazı çalışmalarda FA'dan FC'ya progresyon tiroid karsinogenezinde henüz cevaplanmamış bir soru olması birlikte, özellikle atipili ve Galektin-3 pozitif FA'ların, invazyonun henüz görülebilir hale gelmediği FC öncüsü ya da alınan örneklerde invazyon alanını içermediği için atlanmış bir MIFC (minimal invaziv folliküler karsinom) olabileceği ileri sürülmektedir (4, 9, 11). Coli ve ark. (12) yaptığı bir çalışmada FA ve HN'lerin bazılarında PC nükleuslarına benzeyen ancak tüm özelliklerini karşılamayan fokal Galektin3 pozitif alanların bulunduğu bildirilmiş, ancak bu alanların malign transformasyon olup olmadığının aydınlatılması için moleküler ve genetik çalışmalar gerektiği vurgulanmıştır. Bu gibi durumlarda Suh ve ark. (13) PC'lar için moleküler çalışmaların katkı sağlayacağı belirtmiştir.

Çalışmamızda CK19 ile çevre tiroid dokuda hafif, orta ve kuvvetli boyanmalar görülmüştür. Dockhorn ve ark. (14) çalışmasında da bizim çalışmamıza benzer nitelikte normal tiroid doku, FA ve guatr nodüllerinde CK19'un fokal ve heterojen boyanmalar gösterdiği bulunmuştur. CK19 malign lezyonlarda yüksek oranda kuvvetli pozitif iken benign lezyonlarda çok daha az oranda kuvvetli pozitiflik görülmüştür. Buna göre benign/malign ayırımında CK19 anlamlıdır. Yalnızca PC'lara göre baktığımızda ise pozitiflik açısından CK19'un sensitivitesi %95,7'lere ulaşmaktadır. Scognamiglio ve ark. (6) çalışmasında bizimkine benzer şekilde CK19 bu 4 işaretleyici arasında PC için en sensitif olarak bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda CK19 PC'larda yüksek oranında kuvvetli pozitif boyanmasına karşın FC'da ise bu oranın oldukça azaldığı görülmektedir. Bu durum PC'ları (özellikle PCFV) ile FC ayırımında CK-19'un faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Benzer bulgular Park ve ark. (8) çalışmasında da bulunmuştur.

FA'lar ile PC'ların boyanmalarını karşılaştırmalı olarak değerlendirdiğimizde; HBME-1 ve Galektin-3 FA ile PC ayırımında katkı sağlayabileceği görülmektedir. CK-19'daki boyanma oranları ve boyanma şiddetlerine göre değerlendirildiğinde; PC'un %93,6 oranında kuv-

vetli pozitif, FA'un ise %32,1 oranında kuvvetli pozitif olması CK19'un PC'lar lehine anlamlı olduğunu göstermektedir. Ancak burda CK19 ile pozitif reaksiyon veren FA'ları son zamanlarda gündemde olan Papiller Nükleer Özellikli Noninvaziv Foliküler Neoplazm'dan (NIFTP) ayırt etmek önem kazanmaktadır. Çünkü bu neoplazmlarda da CK19, HBME1 ve Galektin3 pozitiflikleri görülmektedir (15). Bu nedenle bazı durumlarda moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bizim çalışmamızda HBME1 ile malign lezyonların çoğu pozitifdir. Buna göre HBME1 benign/malign ayırımında tek başına sensitivite ve spesifitesi en iyi olan işaretleyicidir. HBME1, FC'lar ve AN/HN'lerin ise yarısında pozitifdir, ancak bunlarda kuvvetli pozitiflik oranı daha düşüktür. FA'ların ise HBME1 ile az bir kısmında pozitiflik bulunmuştur. HBME1'in PC'lardaki boyanma oranının yüksek olması tanısaldan önemlidir. Carol ve ark. (16) çalışmasında bizim çalışmamızdan farklı olarak HBME1, bütün AN/HN'lerde ve FA'larda negatif sonuç vermiştir. Bu sonuçlara göre bizim çalışmada HBME1 ile PC ile FA ayırımında sensitivitesi ve spesifitesi oldukça yüksektir. FC ile FA ayırımında ise HBME1'in spesifitesi yüksek sensitivitesi ise daha düşük bulunmuştur. Kapran ve ark. (17) HBME1 antikoru için tiroidin folliküler kökenli iyi diferansiye tümörlerinde klasik histopatolojik kriterlere yardımcı olarak kullanılabilmesi, özellikle negatifliği (yüksek gradeli karsinomlar dışında) benign lezyon lehine bir bulgu olarak değerlendirilebileceği söylemişlerdir.

HBME1 ve Galektin3'ün birlikte boyanma oranlarına bakacak olursak; AN/HN'lerin hiçbiri birlikte boyanmamıştır. FA'ların ise çok azının bu iki işaretleyici ile birlikte boyanmasına karşın PC'lar %66,7 PC'lar ise %33,3 oranında birlikte pozitif boyanma göstermektedir. Buna göre benign/malign ayırımında HBME1 ve Galektin3'ün birlikte boyanmasının spesifitesi oldukça yüksek olmasına karşın sensitivitesi düşüktür. Buna göre benign lezyonlardan yalnızca birinde birlikte pozitif olan Galektin3 ve HBME1 birlikteliği için birlikte pozitif olmadık durumlar kuvvetle benign lezyonlardır diyebiliriz. Benign/malign ayırımında CK19 ve Galektin3'ün birlikte pozitifliğinin spesifitesi oldukça yüksektir. Benzer olarak Park ve ark. (8) çalışmasında da Galektin-3 ve HBME-1 veya Galektin-3 ve CK-19 koekspresyonu benign/malign ayırımı için çok spesifik bulunmuştur.

Bizim çalışmamıza göre HBME1 ve CK19'un birlikte boyanma oranının PC'larda oldukça yüksek olması nedeniyle PC tanısında en önemli kombinasyon olduğunu söylenebilir. Benign/malign ayırımında bu ikili en yüksek oranda birlikte pozitif boyanma göstermektedir ve benign/malign ayırımında HBME1 ve CK19 kombinasyonunun diğerleri ile kıyaslandığında en sensitif kombinasyon olduğu açıkça görülmektedir. Ancak spesifitesi diğer kombinasyonlara oranla daha düşük bulun-

muştur. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Scognamiglio ve ark. (6) da yaptığı çalışmada da, PC için ikili kombinasyonlarda (özellikle HBME1 ve CK19) %90 ve üzerinde spesifite bulmuşlar.

Böylece malign lezyonların işaretleyicilerle tek tek pozitif boyanmalarından daha ziyade birlikte pozitif boyanmaları daha anlamlıdır. Öte yandan benign lezyonların immünohistokimyasal işaretleyicilerle birlikte pozitif olma oranları ise oldukça düşük saptanmıştır. Buna rağmen birlikte pozitif boyanmanın olmaması durumunda da bu lezyonlara kesin benigndir diyemeyiz. Çünkü malign lezyonlarda da immünohistokimyasal işaretleyicilerin birlikte pozitif olmama oranı %43,1'lere ulaşmaktadır.

HBME1, Galektin3 ve CK19'un üçünün birlikte boyanma oranları da yine ikili kombinasyonlara benzer bulunmuştur. Benign/malign ayırımında HBME1, Galektin3 ve CK19 üçlüsünün sensitivitesi biraz düşük iken spesifitesi oldukça iyidir. Böylece HBME1, Galektin3 ve CK19'un beraber boyandığı lezyonlar kuvvetle maligndir diyebiliriz. Bu üç işaretleyici birlikte en yüksek oranda PC'larda pozitif sonuç vermiştir. Rossi ve ark. (18) çalışmasında bizim çalışmamızı destekler nitelikte HBME1 ve Galektin3 birlikte pozitifliği yanı sıra HBME-1, Galektin-3 ve CK-19'unda birlikte pozitifliği PC'ların çoğunda mevcut iken, FA ve guatrların tamamında negatiftir. Arcolia ve ark. (19) çalışmasında da üçlü pozitifliğin PC'lar için en sensitif ve spesifik işaretleyici olduğu söylenmiştir. Teng ve ark. (20) çalışmalarında, tiroid tümörlerinin ayırıcı tanısında CK19, Galektin3 ve HBME1 kombinasyonunda, bu üç antikordan en az ikisinin pozitif olma oranlarının, bu antikoların ayrı ayrı ekspresyonları ile kıyaslandığında, malign olgularda belirgin derecede yükselirken, benign olgularda düşüş gösterdiğini izlemişlerdir. Bu nedenle bizde bu antikoların birlikte yorumlanması gerektiğini destekliyoruz.

Sonuç: CITED1'in tiroide benign/malign ayırımında kullanımı anlamlı değildir. Ancak çevre normal tiroid dokusunda hafif, karsinomlarda daha kuvvetli boyanma göstermesi ile yardımcı olabilir. CK19 ve HBME1 tek başlarına benign/malign ayırımında en faydalı işaretleyicilerdir. CK19 PC'lar için en sensitif işaretleyicidir. Galektin3 ise tek başına kullanıldığında benign/malign ayırımında en spesifik işaretleyicidir ve boyanmaması kuvvetle benign lezyon lehinedir. İkili kombinasyonlardan HBME1 ve CK19 diğer kombinasyonlar ile kıyaslandığında hem PC'lar için, hem de benign/malign ayırımında en sensitif olanıdır. Galektin3, HBME1 ve CK19'un üçünün birlikte diffüz kuvvetli pozitifliği ise kuvvetle malignensi lehinedir.

Son söz olarak bu dört immünohistokimyasal işaretleyiciden HBME1, CK19 ve Galektin3'ün panel halinde birlikte kullanılması benign/malign ayırımında oldukça faydalı olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. De Lellis R. Tumours of the thyroid and parathyroid. Tumors, Pathology and Genetics of Endocrine Organs, WHO Blue Books. Lyon IARC Pres 2004; 50-66.
2. Rosai J. Thyroid gland. In: Rosai J eds. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10th ed. Vol I, Mosby 2011; 496-524
3. Manju L Prasad, Natalia S Pellegata, Ying Huang, et al. Galectin3, fibronectin1, CITED1, HBME1 and cytokeratin19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Modern Pathology* 2005;18: 48-57
4. Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. *Histopathology* 2002; 41: 236-43.
5. Saxen E, Franssila K, Bjarnason O, et al. Observer variation in histologic classification of thyroid cancer. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1978; 86: 483-6.
6. Scognamiglio T, Hyjek E, Kao J, et al. Diagnostic usefulness of HBME1, Galectin-3, CK19, and CITED1 and Evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2004; 126: 700-8
7. Manju L. Prasad, Natalia S. Pellegata, Richard T. Kloos, et al. CITED1 protein expression suggests papillary thyroid carcinoma in high throughput tissue microarray-based study. *Thyroid* 2004; 14: 169-75.
8. Park YJ, Kwak SH, Kim DC, et al. Diagnostic value of Galectin-3, HBME1, Cytokeratin 19, High Molecular Weight Cytokeratin, Cyclin D1 and p27 in the differential diagnosis of thyroid nodules. *J Korean Med Sci* 2007; 22: 621-8.
9. Aratake Y, Umeki K, Kiyoyama K. Diagnostic utility of galectin-3 and CD26/DPPIV as preoperative diagnostic markers for thyroid nodules. *Diagn Cytopathol* 2002; 26: 366-72.
10. Inohara H, Honjo Y, Yoshii T, et al. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer* 1999; 85: 2475-84.
11. Oestreicher-Kedem Y, Halpern M, Roizman P, et al. Diagnostic value of galectin-3 as a marker for malignancy in follicular patterned thyroid lesions. *Head Neck* 2004; 26: 960-6.
12. Coli A, Bigotti G, Zucchetti F, et al. Galectin-3, a marker of well differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules. *Histopathology* 2002; 40: 80-7.
13. Suh YJ, Moon HJ, Choe JY, et al. the cancer genome atlas validation of ancillary tests for classifying papillary thyroid carcinoma. *Int J Thyroidol* 2017; 10: 24-35.
14. Dockhorn-Dworniczak B, Frank WW, Schroder S, et al. Patterns of cytoskeletal proteins in human thyroid gland and thyroid carcinoma. *Differentiation* 1987; 35: 53-71.
15. L. D. R. Thompson, "Update on follicular variant of papillary thyroid carcinoma with an emphasis on new terminology: Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features." *Diagnostic Histopathology* 2016; 22: 171-8.
16. Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14: 338-42.
17. Kapran Y, Yavuz E, Giles Y, ve ark. Folliküler kökenli tiroid tümörlerinin tanısında HBME-1 antikorunun yeri. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası* 2000; 63: 62.
18. Rossi ED, Raffaelli M, Mule A, et al. Simultaneous immunohistochemical expression of HBME-1 and galectin-3 differentiates papillary carcinomas from hyperfunctioning lesions of the thyroid. *Histopathology* 2006; 48: 795-800.
19. Arcolia V, Journe F, Renaud F, et al. Combination of galectin-3, CK19 and HBME1 immunostaining improves the diagnosis of thyroid cancer. *Oncology Letters* 2017; 14: 4183-9.
20. Teng XD, Wang LJ, Yao HT, et al. Expression of cytokeratin19, galectin-3 and HBME1 in thyroid lesions and their differential diagnoses. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2004; 33: 212-6.

İsmail SAYGIN 0000-0002-6013-6378
 Abdulkadir REİS 0000-0002-0325-4511
 Yavuz ÖZORAN 0000-0001-9795-5329
 Ümit ÇOBANOĞLU 0000-0001-6429-427X