



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
MİSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

**DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİNDE VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ VE RESEPTÖRLERİNİN
İMMÜNİSTOKMYASAL EKSPRESYONLARI VE SERUM
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, İNSÜLİN
BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ VE VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ-RESEPTÖR DÜZEYLERİ**

Proje No:
2469 TST 08-493

Proje Türü
Tıpta uzmanlık

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Adı Soyadı Prof Dr Kürşad Ünlühızarcı
Birimi/Bölümü: İç Hastalıkları-Endokrinoloji

Araştırmacı Adı Soyadı Züleyha C. Karaca
Birimi/Bölümü: İç Hastalıkları-Endokrinoloji

Mart 2010
KAYSERİ



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI

BİLİM DALI

**DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİNDE VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ VE RESEPTÖRLERİNİN
İMMÜNİSTOKİMYASAL EKSPRESYONLARI VE SERUM
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, İNSÜLİN
BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ VE VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ-RESEPTÖR
DÜZEYLERİ**

Dr. ZÜLEYHA C. KARACA

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

KAYSERİ- 2010



T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI

BİLİM DALI

**DİFERANSİYE TİROİD KANSERLERİNDE VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ VE RESEPTÖRLERİNİN
İMMÜNİSTOKİMYASAL EKSPRESYONLARI VE SERUM
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, İNSÜLİN
BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ VE VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ-RESEPTÖR
DÜZEYLERİ**

Dr. ZÜLEYHA C. KARACA

DANILMAN

Prof Dr KÜRLAD ÜNLÜHIZARCI

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

KAYSERİ - 2010

TELEKKÜR

Yan dal eğitimime baėladėđan günden itibaren bana gúvenip hiçbir konuda destekini esirgemeyen saygėdeđer hocam Prof Dr Fahrettin Keleėtimurđa ve hem tezim sėrasında hem de eğitimim súresince bana birer ağabey yakėnlėđında davranan Prof Dr Kürıad Ünlühəzarcė ve Yrd Dođ Dr Fatih Tanrėverdiöye, eğitimime katkıdarėndan ötürü saygėdeđer hocam Prof Dr Fahri Bayramđa saygėve telekkürlerimi sunarėn.

Tezim sėrasında patolojik değerlendirmeleri yapan Sayėn Prof Dr Figen Öztürköe, sitokin düzeylerini ölçen Prof Dr Selma Gökahmetoğluğa, teknik desteklerinden dolayı Celil Tekcan ve Münevver Baranđa telekkür ederim.

Ayrđa baėladėđan günden beri güler yüzünü, emekini esirgemeyen tüm Endokrinoloji personeli ve çalıma arkadaşlarėna, çalımalarėnėđn ayrėmaz bir parçasė olan sevgili test hemlíremiz Nilgün Yėddėđnđa telekkür eder, uyumlu çalımalarėnėđn devamėnė dilerim.

Son olarak da eğitim ve çalıma hayatėnėn yokunluğu sėrasında bana gösterdikleri anlayđ ve desteklerinden ötürü sevgili elime, biricik oğluma ve tüm aileme sevgilerimi sunarėn.

KİÇİK İÇERİKLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR.....	iii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER	3
Tiroid kanserleri	3
Vasküler endotelial büyüme faktörleri ve reseptörleri	13
GEREK VE YÖNTEM	17
BULGULAR	23
TARTIŞMA.....	28
SONUÇLAR.....	34
KAYNAKLAR.....	36

KISALTMALAR

VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGF-1 R	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü
Tg	: Tiroglobulin
Anti-Tg	: Anti-tiroglobulin
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
RAI	: Radyoaktif iyot
Anti-TPO	: Anti-tiroid peroksidaz antikoru
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
AP-1	: Aktivatör protein-1
HIF-1 α	: Hipoksiyle indüklenen faktör-1 α
ELISA	: Enzim ilemleri immunosorbant assay
Ab	: Antikor
TııAB	: Tiroid ince iıne aspirasyon biyopsisi

İLEKİL LİSTESİ

İlekil 1: VEGF ve VEGFR-1'ın immunhistokimyasal boyanma yoğunluklarının	
puanlanması	21
İlekil 2: IGF-1 ve IGF-1R'ın immunhistokimyasal boyanma yoğunluklarının	
puanlanması	22

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Tiroid Tümörlerinin Sınıflandırılması.....	4
Tablo 2: Diferansiye Tiroid Kanserlerinde TNM Sınıflandırılması.....	9
Tablo 3: Rekürrens Riskinin Değerlendirilmesi	10
Tablo 4: VEGF reseptörleri, ligand ve etkileri	14
Tablo 5: Hastaların yaşı ve cinsiyet özellikleri.....	23
Tablo 6: Tiroid kanserli hastaların tanılarındaki tümöral özellikleri	24
Tablo 7: Tiroid kanseri progresyon gösteren ve kontrol altında olan hastaların serum VEGF, VEGF-R1 ve IGF-1 düzeyleri.....	25
Tablo 8: Tiroid kanserli ve nodüler guatr hastaların immunhistokimyasal boyanma Özellikleri	26
Tablo 9: Nodüler guatr ve tiroid kanserli hastaların immunhistokimyasal boyanma özelliklerinin kendi aralarındaki korelasyonları.....	26
Tablo 10: İlerlemiş hastalığa olan tiroid kanserli hastaların özellikleri	27

ÖZET

Amaç: Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1)ün tiroid tümör gelişimi ile ilişkisi bilinmekte ancak bu faktörlerin insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve reseptörüyle ilişkisi konusundaki bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1R'ün diferansiye tiroid kanserlerindeki rolünü ortaya koymaktır.

Gereç-yöntem: Çalışmada diferansiye tiroid kanseri (DTK) tanış olan 40 hasta ve 25 patolojik olarak nodüler guatr (NG) tanışalmış hasta incelendi. Serum VEGF, VEGFR-1 ve IGF-1 düzeyleri her iki hasta grubunda da ölçüldü. Hastaların retrospektif olarak dosya bilgileri gözden geçirildi ve serum örneklerinin alındığı sıradaki klinik durum bilgileri kaydedildi. VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1 reseptör ekspresyonu hastaların tiroidektomi materyallerinin parafin bloklarında immunohistokimyasal yöntemle araştırıldığı

Bulgular: DTK'de hastalarda NG'de hastalara göre VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1 reseptör immunohistokimyasal boyanma skoru daha yüksek bulundu. Sadece VEGFR-1 ekspresyonu tanış anında lenf nodu metastazı varlığıyla ilişkili bulundu. Ekspresyonların hiçbirisi hastaların uzun dönem prognozu ile ilişkili bulunmadığı DTK'de ve NG'de hastaların serum VEGF ve IGF-1 düzeyleri benzer iken VEGFR-1 ölçülemeyecek düzeylerde saptandığı ilerleyici hastalığı olan DTK'de hastalarda serum VEGF düzeyleri klinik olarak remisyonunda olan hastalardan daha yüksek saptandığı

Sonuç: VEGFR-1 ekspresyonu tiroidektomi sırasında lenf nodu metastazı varlığının bir göstergesi olabilir, ancak VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1 receptor ekspresyonu uzun dönem prognozla ilişkili değildir. DTK'de hastalarda serum VEGF düzeyleri hastalık progresyonunu gösteren bir belirteç olarak kullanılabilir.

ABSTRACT

Objective: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) are known to be related to thyroid tumourigenesis, but data are limited about their relationship with insulin like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-1 receptor (IGF-1R). The aim of this study was to investigate the role of VEGF, VEGFR-1, IGF-1 and IGF-1R in thyroid tumorigenesis.

Methods: We examined 40 patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC) who had a clinical history of at least 2 years and compared them with 25 patients who had pathological diagnosis of nodular goiter (NG) after thyroidectomy. Serum VEGF, VEGFR-1 and IGF-1 levels were measured in both patient groups with DTC and NG. Data regarding clinical history of thyroid carcinoma were reviewed and the clinical situation of the patients were determined with basal or stimulated thyroglobulin and neck ultrasonography in individual basis. Immunohistochemical analysis for VEGF, VEGFR-1, IGF-1 and IGF-1 receptor were carried out in the paraffin-blocks of thyroidectomy materials of the patients.

Results: The scores of the immunostainings of VEGF, VEGFR-1, IGF-1 and IGF-1 receptor were higher in the patients with DTC than in the patients with NG. Only the expression of VEGFR-1 was related to the lymph node metastasis at the time of surgery. None of the expressions were related to the long term prognosis of the patients. Serum levels of VEGF and IGF-1 were similar in patients with DTC and NG. Serum levels of VEGFR-1 were all in undetectable limits. Serum levels of VEGF were found to be increased in patients with progressive DTC when compared with the patients in clinical remission.

Conclusion: VEGFR-1 expression may be an important index for the presence of lymph node metastasis at the time of thyroidectomy, but expressions of VEGF, VEGFR-1, IGF-1 and IGF-1 receptor do not seem to be related to the long-term prognosis. Serum levels of VEGF may be used as a tumour marker demonstrating progressive disease in DTC.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diferansiye tiroid kanserleri yaklaşık 10000'de bir görülen ve sıklıkla giderek artan tümörlerdir. Tiroid kanserlerinin sıklığındaki artış büyük olasılıkla mikrokanserlerin daha sık tespitine bağlıdır. Etiyolojide RET/PTK, RAS, BRAF mutasyonları radyasyon sorumlu tutulmaktadır.

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) anjiyogenik faktörler içerisinde hem vasküler endotelial hücrelere mitojenik olması hem de kanser hücrelerinden salgılanıyor olması sebebiyle özgündür. VEGF 121, 145, 165, 189 ve 206 aminoasitli 5 farklı izoform halinde bulunmaktadır. Aynı zamanda VEGF olarak da adlandırılan VEGF-A'nın özellikle VEGF-121 ve VEGF-165 izoformları tümör anjiogenezinin ana sorumlusudur (1). VEGF ekspresyonu diferansiye tiroid kanserlerinde normal tiroide göre daha fazladır (2-4). Tiroid kanseri progresyonunda anjiogenezin önemli bir basamak olduğu ve VEGF'nin rolü olduğu düşünülmektedir (5).

Tiroid kanser hücrelerinde VEGF üretiminin nasıl düzenlendiği tam olarak bilinmemektedir. Hücre kültüründe yapılan bir çalışmada aktivatör IGF-1'in VEGF üretimini artırdığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada geldanamisin verildiğinde bazal ve IGF-1 bağımlı VEGF salgılanmasının azaldığı gösterilmiştir (6). VEGF, vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR)-1 ve VEGFR-2'ye bağlanarak etki göstermektedir.

Bu çalışmada en az 2 yıl önce tanı almış olan diferansiye tiroid kanserli hastaların ilk ameliyata ait tümör dokularında VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF1-R'lerinin immunhistokimyasal yöntemle ekspresyonlarının bakılması ve değerlendirmeye alındığı sırada alınan serum örneklerinde VEGF, VEGFR-1 ve IGF-1 düzeylerinin ölçülerek

hastaların klinik seyri ile ilişkisinin araştırılması planlanmıştır. VEGF'nin tiroid kanserlerinde daha fazla eksprese olduğu ve VEGF ekspresyonunun IGF-1 ile ilişkisi hücre kültüründe gösterilmiştir. Ancak tümör dokusunda bu ilişki ve reseptörlerin birlikte ekspresyonu daha önce araştırılmamıştır. Bu faktörlerin tümörün tanı anındaki özellikleri ve sonraki dönemde hastaların ilerleyici seyriyle ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

Tiroid Kanserleri

i. Epidemiyoloji

Tiroid kanserleri tüm malign neoplazilerin %1'inden daha azını oluşturmaktadır. Yaşıla beraber sürekli artan tiroid kanserleri 2, 3 ve 4. dekadlarda görülen en sık 5 kanser arasında yer almaktadır. Diferansiye tiroid kanserleri kadınlarda erkeklere göre 2-4 kat daha fazla görülmekte, prepubertal ve postmenapozal yaşlarda azalma seks hormonlarının patogenezi de rolü olduğunu düşündürmektedir.

Tiroid nodüllerinin insidansı yıllık 1000 kişiye birken, tiroid kanseri sürekli dünyanın değişik yerlerinde 100000 kişiye 0.5 ile 10 arasında değişmektedir. Endemik guatr bölgelerinde tiroid kanserlerinin artmasına dair kesin bir bilgi olmayıp folliküler ve anaplastik lezyonlarda artış olmaktadır. Tiroid kanserlerinin sürekli artarak giderek artması da biyolojik olarak önemi çok tartışılan mikrokanser sürekli artışıyla ilgili olabilir (7).

Diğer kanserlerle karşılaştırıldığında tiroid kanserleri en iyi tedavi edilebilen ve özellikle iyi diferansiye kanserlerde yaşam beklentisinin oldukça uzun olduğu tümörlerdir.

ii. Patoloji

Tiroid tümörlerinin sınıflandırılması Tablo 1'de sunulmuştur. Diferansiye tiroid kanserleri olarak isimlendirilen papiller ve folliküler kanserler en sık olanlardır. Tiroglobulin (Tg) ile boyanma hemen her zaman pozitifdir ve metastazların doğrulanmasında yol göstericidir.

Tablo 1: Tiroid Tümörlerinin Sınıflandırılması

Epitelyal Tiroid Tümörleri	Non-epitelyal Tümörler
Benign-foliküler adenom	
Malign-Papiller karsinom	Malign-sarkom
-Foliküler karsinom	-hemanjiyotelyoma
-Anaplastik karsinom	-lenfoma
-Medüller karsinom	-sekonder tümörler

Papiller tiroid kanserleri boyutu ve yayılımına göre mikrokarsinom, tiroid parankimine sınırlı ve tiroid parankimini alan tümörler olarak sınıflandırılabilir. Mikrokarsinomlar 1 cm'den küçük tümörler olup otopsideki sıklıkla %5-35 arasında değişmektedir (8, 9). Papiller tiroid kanserlerinin *foliküler*, *diffüz-sklerozan*, *tall-cell*, *columnar-cell*, *enkapsüle* varyantları olabilir.

Foliküler kanserler ise invazyon durumuna göre minimal invaziv, yaygın invaziv tümörler olarak sınıflandırılır. Foliküler kanserlerin de *effaç-hücreli*, *Hurthle-hücreli*, *insüler karsinom* varyantları bulunmaktadır. Papiller karsinomda lenfatik yayılım, foliküler kanserler de ise hematojen yayılım daha sık görülmektedir.

Anaplastik karsinom tiroidin az diferansiye tümörleridir. En agresif kanserlerden olup lokal yayılım ve uzak metastaz kurallıdır. Medüller tümörler parafoliküler-C hücrelerinden köken alır ve kalsitonin ile pozitif boyanır. Tiroid lenfoması ve diğer hücrelerden köken alan tümörler daha nadir olarak görülmektedir (7).

iii. Etiyoloji

1. Onkogenler: Moleküler biyolojideki gelişmeler tiroid karsinomlarının patogenezinin daha iyi anlaşılmasına sağlamıştır. RET ve TRK proto-onkogenlerini içeren gen yeniden düzenlemeleri tiroid kanserlerinin bazı histolojik tiplerinde belirleyici rol oynamaktadır. Bu genlerin onkogenik aktivasyonu sonucu genlerin tirozin kinaz kinazlarıyla, aynı ya da başka kromozomdaki diğer genlerin N-terminal promotor dizilimlerinin birleşmesi gerçekleşmektedir. TRK onkogenleri bir sinir büyüme faktörü reseptörünü kodlayan

NRK1 geninin yeniden düzenlenmesiyle olur ve en az 3 farklı aktivasyon geniyile ilişkilidir (10). RET yeniden düzenlenmesi durumunda ortaya çıkan İimerik onkogenlere papiller tiroid kanseri anlamında PTC adı verilmektedir ve birçok formu tanımlanmıştır. Papiller kanserle yakın ilişkisine karşın radyasyonla ilgili olmayan vakaların yarısından daha azında RET/PTC bulunmaktadır (11). En sık formları RET/PTC 1, 2, 3 olup Çernobil sonrası radyasyona maruz kalan çocuklarda RET/PTC 3, spontan tümörlerde ve klasik radyasyona bağlı papiller kanserlerde RET/PTC 1 daha sık görülmektedir (12, 13). Son dönemlerde BRAF onkogeni yaklaşık %20 oranında papiller tiroid kanseriyle ilişkili olarak bildirilmektedir (14). H-ras, K-ras, N-ras onkogenlerinin mutasyona uğramış formları hem benign hem de malign tiroid tümörlerinde görülmektedir (15). RB tümör supresor gen mutasyonu ya da delesyonu yine tiroid tümörlerinde sık olarak görülmektedir (16). Folliküler tümörlerde ise tümör supresor gen mutasyonu sonucu oluşan PAX8/PPAR gamma malign fenotiple ilişkilidir (17). Diferansiye tiroid kanserlerinde kanserli dokunun iyot konsantrasyon yeteneği azalmıştır. NIS geni (iyotun tiroid folliküler hücrelerine aktif transportunu sağlayan membran proteinini kodlamaktadır) tiroid tümörlerinde daha az eksprese olmaktadır.

2. İyonize Radyasyon: Çocukluk çağında boyna eksternal radyasyon uygulanması papiller tiroid kanser riskini artırmaktadır (18). Radyasyona maruziyet ve tiroid kanseri tanısı arasında yaklaşık 5 yıllık bir süre bulunur. Bu süre 20 yıla kadar uzayabilir ve bundan sonra azalır. 10-1500 cGy arasında alınan radyasyonla tiroid kanseri arasında doğrusal bir ilişki vardır. Daha yüksek dozlarda tiroid hücre ölümüne bağlı tiroid kanseri sıklığı azalmaktadır. Radyasyona maruziyet sırasında genç yaşta olmak majör bir risk faktörüdür.

3. Diğer faktörler: İyot eksikliğinin olmadıkça yerlerde papiller kanser en sık tiroid kanseri iken iyot eksikliği olan bölgelerde folliküler ve anaplastik kanserler artmaktadır. Ancak bu ülkelerde tiroid kanseri prevalansında bir artış gösterilememiştir (19).

iv. Tanı Klinik Özellikler

Diferansiye tiroid kanserlerinde genellikle ilk belirti asemptomatik tiroid nodülüdür. Daha nadir olarak papiller kanserlerde boyun lenf nodlarına metastaz, folliküler kanserlerde uzak metastazla tanı konabilir. Ses kısıklığı, yutma güçlüğü, nefes darlığı ilerlemiş tiroid kanserini düşündürür. Nodül özellikleri genellikle benign nodüllerden farklı değildir, ancak normal bir tiroid dokusunda tek nodül varlığında, çocuk veya

adobe'san yar, erkek cinsiyet, e'lik eden lenfadenopati, boyun bölgesine radyoterapi öyküsü söz konusu olduğunda karsinomdan lüphelenmek gerekir.

ilk belirti ne olursa olsun kesin tanı için ince iğne aspirasyon biyopsisi gereklidir. Sitoloji benign, malign ya da lüpheli olabilir. Papiller karsinomlar uzun süre tiroid bezinde kalabilir ve hastaların yarısına yakınında multisentrik lezyonlar görülebilir. Hastaların üçte birinde tanı anında nodal metastaz, %10'unda ekstratiroidal yayılma, %7.5 uzak metastaz görülebilir (20). Bu tümörler uzun yıllar boyunca belirgin bir semptom ya da mortaliteye yol açmadan da kalabilir (21).

Tümörler genellikle servikal lenf nodu metastaz ve sonrasında akciğer metastaz yapma eğilimindedir. Genç yaşta genellikle benign seyrederken 40 yaşın üzerindeki hastalarda daha invaziv bir seyir gösterir ve servikal lenfadenopati kötü prognozu gösterir. Hemen tüm papiller tiroid kanserleri tanı anında iyot tutma yeteneğine sahiptir. Nadiren fazla miktarda tiroid hormonu üretebilirler.

Papiller kanserin mortalitesi %8-20 arasında değişmektedir ve invaziv servikal lezyonlar ve uzak metastaz varlığında daha siktir. Folliküler kanserler daha ileri yaşta ortaya çıkmakta, ekstratiroidal invazyon %25, lokal lenf nodu tutulumu %5-10, uzak metastaz %10-20 oranında görülmektedir. Folliküler kanserler akciğer ve kemik metastaz yapma eğilimindedir. Papiller tümörlere göre mortalitesi daha yüksektir.

v. Prognostik faktörler

Papiller ve folliküler tiroid kanserlerinde rekürens ve kanser ile ilişkili ölüm yaşla doğru orantıda olarak artmaktadır (22). Yaşlı hastalarda tedaviden sonra rekürens ile ölüm arasındaki süre kısalmıştır. Lokal agresif tümörler ve tanı sırasında uzak metastaz yaşlı hastalarda daha fazla görülmektedir. Erkek cinsiyet bazı serilerde bağımsız bir risk faktörü olarak belirtilmektedir, ancak prognostik olarak yaştan daha az önemlidir (7).

Otoimmünite ilişkisine bakıldığında ise birçok araştırmada Graves hastalığı varlığının diferansiye tiroid kanserinin klinik özelliklerine ve tümöre bağlı mortalite üzerine etkisi gösterilememiştir (23, 24). Hashimoto tiroiditi veya lenfositik infiltrasyon varlığında papiller kanserde iyi prognoz göstergesidir (25). Tiroid otoantikor varlığının ise diferansiye tiroid kanserlerinde %23 oranında görüldüğü, antikor pozitif ve negatif olanlarda sonuçlar açısından anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir (26). Dolayısıyla

antikollinazı kaybolmasa etkin tedaviyi gösterirken dolaylı kalması stabil veya progresif hastalığa gösterir (27).

Papiller tiroid kanserinde *tall-cell*, *columnar-cell*, *oxyphilic* varyantlar kötü prognoza, *enkapsüle* ve *folliküler* varyantlar iyi prognoza, *diffüz-sklerozan* varyant orta dereceli prognoza sahiptir. Yaygın folliküler kanserler minimal invaziv olanlara göre daha kötü prognozludur. Diğer *hürthle- hücreli*, *insüler* ve *trabeküler* varyantlar da genellikle kötü prognozla ilişkilidir (7). Tümörün histolojik derecesi ve DNA aneuploidi mortalite artışıyla ilişkilidir.

Tümör boyutunun özellikle papiller kanserlerde belirleyici önemi vardır. Mikrokarsinomlar yaşam süresi ve hastalıksız yaşam süresi açısından bakıldığında çok iyi prognozludur. Tümör boyutu arttıkça nüks ve tümöre bağlı mortalite oranları artmaktadır (28). İntratiroidal metastaz ya da birden fazla tümör odaklarının göstergesi olan *multisentrite* yüksek oranda lenf nodu metastazı lokal persistan hastalık, uzak metastaz ve 30 yıllık mortaliteyle ilişkilidir (29, 30). Ekstratiroidal invazyon papiller kanserlerin %5-10'unda, folliküler tümörlerin %3-5'inde görülür ve daha fazla lokal nüks ve uzak metastaza yol açmanın yanı sıra tümöre bağlı mortaliteyi artırmaktadır (31). Hem tiroid kapsülüne invazyon hem de tümörün tiroid kapsülünü alarak çevre dokulara infiltrasyon göstermesi prognozu olumsuz olarak etkilemektedir.

Lenf nodu metastazı papiller kanserde %37-65, folliküler kanserde ise yaklaşık %17 oranında bildirilmektedir. Lenf nodu metastazı hem mikrokarsinomlarda hem de büyük tümörlerde görülebilmekte bilateral tümör varlığında bilateral olabilmektedir. Lokal lenf nodu metastazının daha fazla tümör nüksü ve tümöre bağlı mortalitesi olduğunu gösteren araştırmalar olmasına karşın bazıları da kümülatif yaşam süresinin belirgin etkilenmediğini belirtmektedir (7, 30, 32). Bilateral servikal ve mediastinal lenf nodları kansere bağlı ölümlerle ilişkilendirilebilir. Sonuçta lenf nodu metastazı potansiyel bir ölüm sebebi olup erken ve etkin tedaviyi gerekli kılmaktadır.

Tamamıyla uzak metastaz olması diferansiye tiroid kanserlerinde en kötü prognoza sahiptir. Uzak metastaz varlığında 5 yıllık mortalite %36-47 olup 15 yılda %70'e ulaşmaktadır (33, 34). Uzak metastaz varlığında hastanın genç yaşta olması iyi diferansiye histolojik tipte olması kemik yerine akciğerde metastaz olması metastaz boyutunun küçük olması lezyonun iyot tutması olumlu işaretlerdir. Metastaz yerinden çok metastazın boyutu tümörün prognozunda önemli olup radyolojik yöntemlerle

görüntülenemeyen, ancak tüm vücut taramada gözlenen mikronodüler akciğer metastazları iyi prognoza sahiptir (34).

Tiroide duyarlı TSH reseptör, Tg, anti-TPO gibi bazı farklılaşma genlerinin ekspresyonu, p53 onkogen somatik mutasyonu, ras gen mutasyonu, p21 proteini alfa ekspresyonu, c-myc ekspresyonu kötü prognoz işaretleridir (35-37).

Cerrahinin boyutu özellikle lokal nüksler açısından önemlidir. Total ya da totale yakın tiroidektomi yapılan hastalarda nüks ve tümöre bağlı ölümler azalmaktadır (38). RAI tedavisi de tiroid kanserinin seyrini olumlu olarak etkilemekte, tüm vücut I-131 taramanın duyarlılığı ve serum Tg ölçümlerinin özgüllüğünü artırmaktadır (32). İlk tedaviden sonra serum Tg düzeylerinin ölçülemeyecek düzeylerde olması kür açısından önemli bir belirteçtir.

vi. Tedavi

Bir cm'den büyük tiroid kanserlerinde ilk tedavi total ya da totale yakın tiroidektomi olmalıdır. Lobektomi 1 cm'den küçük, düşük riskli, tek odaklı intratiroidal papiller kanserlerde boyun bölgesine radyoterapi öyküsü ve klinik olarak lenf nodu tutulumu yoksa uygulanabilir. Bunun dışında kalan tümörlerde cerrahi öncesi tanı bilinmeden lobektomi yapıldıysa tamamlayıcı tiroidektomi gerekir. Santral boyun diseksiyonu klinik olarak santral veya lateral boyun lenf nodu varlığında tedavi amaçlı olarak önerilmektedir. Klinik olarak lenf nodu tutulumu olmayan ancak tümör boyutunun 4 cm'yi aştığı durumlarda profilaktik santral boyun diseksiyonu uygulanabilir. Klinik olarak lenf nodu tutulumu olmayan papiller kanserlerde ve folliküler kanserlerin çoğunluğunda santral boyun diseksiyonuna gerek kalmamaktadır. Ancak rutin santral lenf nodu diseksiyonun yaklaşık %20-30 vakada tümörün evresini dolayısıyla tedavi yaklaşımını değiştirdiği de akılda tutulmalıdır. Tek taraflı santral boyun diseksiyonun 6 aylık hastalaksız yaşam süresini artırdığına dair veriler olmasına karşın başka çalışmalarda hastalık nüksünde farklılıkta yol açmadığı ve daha fazla komplikasyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir (39-41). Bilateral santral boyun diseksiyonun tek taraflı santral boyun diseksiyonuna üstünlüğü gösterilemediği gibi postoperatif komplikasyonları artırdığı saptanmıştır (42). Buna karşın deneyimli ellerde profilaktik santral boyun diseksiyonun morbiditesi düşüktür. Lateral boyun diseksiyonu biyopsiyle lenf nodu tutulumu doğrulanmış vakalarda yapılmalıdır (43).

Diferansiye tiroid kanserlerinde postoperatif evreleme postoperatif RAI, L-tiroksin baskılamaya tedavilerini planlamak, hastalığın tekrarlama durumu ve mortalite riskinin hesaplanarak takip şekli ve yoğunluğunun belirlenmesi açısından önemlidir. Bir çok evreleme sistemi olup en çok kullanılanlar mortalite riskini değerlendiren AJCC/UICC TNM sınıflaması ve rekürens riskini değerlendiren klinik ve patolojik sınıflama sistemleridir (Tablo 2, 3) (43, 44). Evreleme sırasında dikkat edilen özellikler tanı ve ilk tedaviden sonra erken dönemde bakılan özellikler olduğundan zamanla değişiklik göstermez. Ancak hastalığın klinik seyri, tedavi sonrası nüks ve mortalite riski zamanla değişebilir. Bu nedenle takip sırasında elde edilen yeni verilerle nüks ve mortalite açısından hastalar tekrar değerlendirilmelidir.

Tablo 2: Diferansiye Tiroid Kanserlerinde TNM Sınıflaması

Tanı	
T1: Tümör çapı ≤ 1 cm	
T2: Tümör çapı 1-2 cm	
T3: Tümör çapı > 2 cm, tiroid içine sınırlı veya minimal ekstratiroidal invazyon olması	
T4a: Tiroid kapsülünü aşıp subkütan doku, larinks, trakea, ösofagus veya reküren larinjeal siniri invaze eden herhangi bir boyutta tümör	
T4b: Prevertebral fasya, karotid arter veya mediastinal damar invazyonu olan tümör	
TX: Boyutu bilinmeyen ancak ekstratiroidal yayılımı olmayan tümör	
N0: Metastatik lenf nodu olmayan	
N1a: 6. bölge lenf nodlarına metastaz (pretrakeal, paratrakeal, prelarinjeal lenf nodları)	
N1b: Servikal veya üst mediastinal lenf nodu metastazı	
NX: Cerrahi sırasında lenf nodu değerlendirilmemiştir	
M0: Uzak metastaz olmayan	
M1: Uzak metastaz olan	
MX: Uzak metastaz değerlendirilmemiştir	

Evreler	Hastanın yaşı <45	≥45
Evre I	herhangi bir T ve N, M0	T1, N0, M0
Evre II	herhangi bir T ve N, M1	T2, N0, M0
Evre III		T3, N0, M0
		T1/T2/T3, N1a, M0
Evre IVA		T4a, N0/N1a, M0
		T1/T2/T3/T4a, N1b, M0
Evre IVB		T4b, herhangi bir N, M0
Evre IVC		herhangi bir T ve N, M1

43 numaralı kaynaktan alınmıştır.

Tablo 5: Rekürrens Riskinin Değerlendirilmesi

Düşük-risk	1. Lokal veya uzak metastaz yok
Yandaki özelliklere sahip	2. Tüm makroskopik hastalık çıkarılmış
	3. Çevre dokulara invazyon yok
	4. Tall-cell, insular-cell, columnar-cell gibi agresif histolojiye sahip değil veya vasküler invazyon yok
	5. RAI sonrası postablatif taramada tiroid yatağı dđđnda tutulum yok
Orta-risk	1. İlk cerrahide peritiroidal yumuşak dokulara mikroskopik invazyon
Yandaki özelliklerden herhangi birine sahip	2. Servikal lenf nodu metastazı veya RAI sonrası tiroid yatağı dđđnda tutulum
	3. Tümörün agresif histolojiye sahip olması veya vasküler invazyon göstermesi
Yüksek-risk	1. Makroskopik tümör invazyonu
	2. Tümör tam olarak çıkarılamamış
	3. Uzak metastaz var
	4. Tedavi sonrası taramada bakiye doku ile açıklanamayacak tiroglobulinemi olması

RAI: Radyoaktif I-131
43 numaralı kaynaktan alınmıştır.

Cerrahi tedavi sonrası diferansiye tiroid kanserlerinin iyot tutma özelliğinden yararlanılarak radyoaktif I-131 (RAI) tedavisi verilmektedir. RAI tedavisinin bakiye tiroid dokusunu yok etme, olası mikroskopik metastazları ve bilinen metastazları tedavi edici özelliğı vardır. Bu nedenle bilinen metastazı olan tüm hastalarda, ekstratiroidal yayılmış olan tümörlerde, 4 cm'in üzerindeki tümörlerde diğerk risk faktörleri aranmaksızın, 1-4 cm arasındaki tümörlerde seçilmiş hastalarda önerilmektedir. Papiller mikrokarsinomlarda tek odak varsa veya multifokal olup her bir odak 1 cm'den küçükse RAI önerilmemektedir (45, 46). Papiller kanser dđđnda kalan folliküler veya Hürthle hücreli kanserlerde RAI tedavisi hemen tüm vakalarda önerilmektedir. RAI verilmeden önce hastalar ya L-tiroksin kesilerek ya da rekombinan TSH ile hazırlanır. Düşük riskli hastalarda en az 30-100 mCi, cerrahi sonrası mikroskopik hastalığı kalan veya kaldığı tahmin edilenlerde ve agresif tümör histolojisi olanlarda 100-200 mCi gibi daha yüksek dozlar verilmektedir (43). RAI tedavisi sonrası 2-10 gün sonra tarama yapılarak tiroid

yatakları ve diğer tutulumları değerlendirilir. Ablasyon sonrası taramada sadece tiroid yatağında tutulum varsa 6-12 ay sonra TSH ile uyarılmı Tg, tüm vücut tarama ve boyun USG ile hasta değerlendirilir. Tiroid yatağı dışında tutulum varsa daha ileri değerlendirme ve gerektiğinde tedavi uygulanır (43).

Cerrahi ve RAI tedavisi sonrası TSH supresyon tedavisi uygulanır. Diferansiye tiroid kanserleri hücre membranında TSH eksprese etmektedir ve TSH uyarışına hücre büyümesini ve Tg, sodyum-iyot symporter gibi çeşitli proteinleri artırarak yanıt verir. TSH'nin L-tiroksinin ile baskılanması önemli istenmeyen klinik olayları engellemektedir (47). Orta-yüksek riskli hastalarda TSH'nin 0.1 mU/L'nin altında düşük riskli hastalarda ise 0.1-0.5 mU/L düzeylerinde tutulması uygundur (48).

Primer tümörün tedavisi için eksternal radyoterapi cerrahi sırasında makroskopik ekstratiroidal uzanmış olup geride mikroskopik rezidü kalma olasılığı olan ve cerrahi ve RAI tedavisinin etkili olmayacağı büyük rezidü tümörlerde uygulanabilir (49). RAI ve radyoterapinin sırası tümörün RAI tutma özelliğine göre belirlenir.

vii. izlem

Diferansiye tiroid kanserlerinin uzun dönem takibinde L-tiroksinin altında TSH, Tg ve anti-Tg antikoru ölçümü, boyun USG'de lenf nodu değerlendirilmesi yapılır. Boyun USG'de lüpheli lenf nodu durumunda ince iğne aspirasyonu ve Tg yakama, pozitif sonuç gelirse lenf nodu diseksiyonu yapılır. Boyun USG normal, Tg 1 ng/ml'nin altında ve anti-Tg antikoru negatif olan hastalarda uyarılmı Tg ve I-131 tarama yapılır. Tüm vücut taramasında tutulumu olanlarda veya tutulum olmayıp Tg 5-10 ng/ml'nin altında olan, boyun USG'de patoloji saptanmadıkça halde Tg düzeyleri artan hastalarda RAI tedavisi düşünülmelidir. Tüm vücut taramada tutulumu olmayıp Tg 5-10 ng/ml'nin üzerinde olan hastalarda diğer boyun ve toraks bilgisayarlı tomografi (BT), magnetik rezonans görüntüleme veya PET-BT gibi görüntüleme yöntemlerinden yararlanılır. Gösterilebilen odak varsa ve çıkarılabilirse cerrahi, odak var ve çıkarılamıyorsa RAI, radyoterapi veya hastanın yeni tedavileri kapsayan klinik çalışmalara alınması odak yoksa RAI verilmesi düşünülmelidir (43).

viii. Yeni Tedavi Seçenekleri

Diferansiye tiroid kanseri tedavisinde cerrahi ve RAI tedavisi genellikle yeterli olurken küçük bir grup hastada tümörün ilerleyici, hayatı tehdit eden büyüme ve metastatik

yaygın göstermesi söz konusu olabilir. Kanser patogenezinin daha iyi anlamaya başlanmasıyla beraber hedefe yönelik tedaviler gündeme gelmiştir. Axitinib, motesanib, sorafenib, pazopanib, thalidomide Faz II ilaç çalışmalarında etkinliği gösterilmiş ve halen birçok ilaçla araştırmalar sürmektedir. Ancak bu ilaçların birbirine üstünlüğünü değerlendiren Faz III ilaç araştırmaları henüz yapılmamıştır. Ayrıca henüz bu ilaçların hiçbirisinin metastatik tiroid kanserinde kullanışlı onaylanmamıştır. Bu ilaçları aşağıdaki gibi sınıflamak mümkündür.

1. Onkogenik sinyal yolağı inhibitörleri: Tiroid kanserlerinde kullanılan tirozin kinaz inhibitörlerinin çoğu papiller tiroid kanserlerinin çoğunda aktive olan MAP kinaz yolağına hedef almaktadır. Aynı yolağın diğer üyelerini hedefleyen RET, RAS, RAF ve MEK kinazlar da kullanılmaktadır (43).
2. Büyüme ve apoptozisi düzenleyen ilaçlar: Siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri gibi PPAR-gama aktivatörleri, RXR'yi aktive eden retinoidler, proteazom inaktivatörü bortezomib ve hsp-90 proteinini hedefleyen geldanamisin türevleri bu grupta yer alır.
3. Anjiyogenez inhibitörleri: Yeni damar oluşumundan sorumlu VEGFR'ye hedefler ve böylelikle tümörün kanlanması bozarak büyümesini engeller. Araştırmalarda kullanılan kinaz inhibitörlerinin çoğu aynı zamanda VEGFR tirozin kinazının güçlü birer inhibitörüdür.

Anjiyogenezin inhibisyonu yalın başlı makula dejenerasyonu, diyabetik retinopati, romatoid artrit gibi neovaskülerizasyonun olduğu hastalıklarda, tümör büyümesi ve metastazlarının tedavisinde potansiyel bir tedavi seçimidir (50). Sunitinib VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3 ve diğer protein kinazları inhibe eden metastatik renal hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümörlerin tedavisinde kullanılan bir ilaçtır (51). Sorafenib VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Raf ve diğer protein kinazları inhibe eden renal hücreli karsinom ve ileri hepatoselüler karsinomda onaylanmış bir ajandır.

Tiroid kanserleri oldukça vasküler tümörler olup hem VEGF düzeyleri hem de mikrovasküler yoğunluğun normal dokuya göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (52, 53). Tiroid tümör dokusunda VEGF düzeyleri tümörün evresi, boyutu, nodal tutulumu, ekstrasitroidal invazyon ve uzak metastaz durumuyla korelasyonu gösterilmiştir (3). Bu gözlemler axitinibin tiroid kanserinde kullanışlı desteklemektedir. Faz II çalışmalarda ileri evre tiroid kanserinde axitinibin serum VEGFR-2 ve VEGFR-3 düzeylerini azaltarak tüm histolojik tiplerde kısmi etkinlik gösterdiği saptanmıştır (54). Sorafenibin

metastatik papiller tiroid kanseri olan hastalarda iyi tolere edilebilen klinik ve biyolojik antitümöral etkinliği olan bir ajan olduğu bildirilmiştir (55). Motesanib ile yapılan çok merkezli bir Faz II çalışmada 93 progresif radyoaktif iyota dirençli, lokal ileri veya metastatik diferansiye tiroid kanseri olan hastanın 13'ünde kısmi yanıt olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada stabil hastalık oranı %67 iken kalıcı stabil hastalık %35 ve progresyonsuz medyan yaşam süresi 40 hafta olarak bildirilmiştir (56).

4. Gen Tedavisi: Hücre kültüründe kısmi etkinliği gösterilmiştir.

Hedefe yönelik olan tedaviler, geleneksel tedaviye yanıt vermeyen ilerleyici tiroid kanseri vakalarında umut verici seçenekler olarak yer almaktadır.

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve VEGF Reseptörü (VEGFR)

Vasküler endotelial büyüme faktörü ailesi endotelial hücrelerin büyümesini ve tümör ilişkili yeni damar oluşumunu sağlayan büyüme faktörleridir. Bu grup içinde VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve plasental büyüme faktörü (PlGF) bulunmaktadır. VEGF 121, 145, 165, 189 ve 206 aminoasitli 5 farklı izoform halinde bulunmaktadır. Aynı zamanda VEGF olarak da adlandırılan VEGF-A'nın özellikle VEGF-121 ve VEGF-165 izoformları tümör angiogenezinin asıl sorumlusudur (1). Bu izoformlar temel olarak VEGFR-2 üzerinden etki etmektedir. VEGFR-1'in VEGF ilişkili angienez üzerine etkisi çok iyi bilinmemektedir. VEGF vasküler endotelial hücrelerin büyümesi ve yaşaması için gerekliliğinin yanı sıra vasküler endotelial hücre ve monosit motilitesinden sorumludur. VEGF-B angienez, VEGF-C embriyogenez sırasında lenfangienez ve erişkinlerde farklılaşmış endotelin sürekliliğinin korunmasında önemlidir. VEGF-D vasküler ve lenfatik endotelial hücrelerin büyümesini uyarır. İlk olarak plasentada tanımlanmış olmasına karşın PlGF angienez, yara iyileşmesi ve inflamatuvar yanıtta rol alır (51).

VEGFR protein-tirozin kinazları 7 immünglobulin benzeri parçadan oluşan bir ekstraselüler bileşen, tek bir transmembran kısmı bir juxtamembran kısmı 70 aminoasitten oluşan intraselüler protein-tirozin kinaz ve karboksi ucundan oluşmaktadır. Büyüme faktörlerinin reseptörlerin de kısmına bağlanması reseptör dimerizasyonu, protein kinaz aktivasyonu, transotofosforilasyon ve sinyal yolağının başlamasına yol açar. VEGF, VEGFR-1'in 2. immünglobulin kısmına, VEGFR-2'nin 2. ve 3. immünglobulin kısmına bağlanır. VEGF-C ve VEGF-D'nin VEGFR-3'ün 2. ve 3.

immünojeniteyi artırarak bağışıklıkla düğünölmekle birlikte kesin olarak gösterilmemiştir (50). VEGFR'leri, ligand ve etkileri Tablo 4'de özetlenmiştir.

Tablo 4: VEGF reseptörleri, ligand ve etkileri

Reseptör	Ligand	Etki
VEGFR-1	VEGF VEGF-B PIGF	Vaskülogenez, anjiogenez, monosit/makrofaj motilitesi
VEGFR-2	VEGF, VEGF-C VEGF-D	Vaskülogenez, anjiogenez, vasküler geçirgenlik, endotelial hücre motilitesi
VEGFR-3	VEGF-C VEGF-D	Vasküler, lenfatik gelişim ve korunması
Nöropilin-1	VEGF VEGF-B PIGF VEGF-C VEGF-D	Vasküler gelişim, dallanma ve kalp gelişimi
Nöropilin-2	VEGF VEGF-C VEGF-D	lenfanjiogenez

50 numaralı kaynaktan alınmıştır.

VEGF'nin VEGFR-1'e uyarması sonucu oluşan tirozin kinaz fosforilasyon aktivitesi zayıftır. VEGF, VEGFR-1'e VEGFR-2'den 10 kat daha güçlü bağlanmaktadır, ancak sinyal iletili özellikleri daha zayıftır (57). VEGF ve PIGF'nin her ikisi de VEGFR-1'e bağlanmalarına karşın fosforilasyon yerleri ve etkileri farklıdır.

Subakut tiroidit, kronik lenfositik tiroidit ve Graves hastalığında VEGF alfa ekspresyonu gösterilmiştir (58, 59). Diferansiye tiroid kanserlerinde normal tiroide göre daha güçlü VEGF ekspresyonu daha önce tanımlanmıştır (2-4, 60). Metastatik tiroid kanser lezyonlarında VEGF mRNA ve protein ekspresyonunun primerlerine göre daha fazla olduğu ve serum VEGF düzeylerinin metastatik tiroid kanserli hastalarda arttığı

saptanabilir (2, 3, 51). Neoplastik dokulardaki endotelial hücrelerin mitojenik aktivitesi tümöral olmayan dokulara göre daha fazladır (3). Bütün bu bilgiler tiroid kanserinin progresyonunda VEGF'nin rolü olduğunu düündürmekte ve tümörün metastatik potansiyelinin saptanmasında umut verici bir belirteç olarak görülmektedir.

Mikroskopik bir karsinomun metastatik potansiyeli olan klinik olarak saptanabilir bir tümöre dönülmesi için immun sistemi alması ve ekstraselüler matriksi yıkmaları ve kendi vasküler yapışını oluşturmaları gereklidir. Bir tümörün prevasküler fazda 2-3 mm³den büyük olması nadir görülür. Tümörün kendi vaskülarizasyonu oluşturmalarıyla birlikte tümörün büyümesi hızlanır (5). Bu vaskülarizasyonun oluşması alması sırasında vasküler yapıların büyümesini düzenleyen pozitif ve negatif faktörler arasında bir denge söz konusu olur. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve VEGF tümörlerde en sık bulunan angiogenezi artıran proteinler olup sinerjistik etkileri bildirilmiştir (62). Klinik açıdan bakıldığında neovaskülarizasyon bir tümörün büyümesini ve metastaz potansiyelini artırmakta ve klinik bulguların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Ancak angienez her zaman bir tümörün hızlı büyümesi anlamına da gelmemektedir. Melanomların neovaskülarizasyonla beraber muhtemelen IL-6 salgısına bağlı regrese olması ya da primeri çıkarılan bir tümörün angiogenezi inhibe eden etkilerinin kalkmasıyla metastazının büyümesi bu duruma örneklerdir (63).

Tiroid kanseri progresyonunda angiogenik bir basamağın olduğu düünölmektedir. Bu basamak öncesinde tümör uzun bir süre mikroskopik bir kanser odağı olarak kalmakta ve kliniğe yansınmamaktadır. Ancak angienezle birlikte tümörün büyümesinde hızlanma olduğu düünölmektedir.

Tiroid kanser hücrelerinde VEGF üretiminin nasıl düzenlendiği tam olarak bilinmemektedir. Tümörlerde VEGF ekspresyonunu uyaran hipoksi, düşük pH, IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, seks hormonları ve kemokinler gibi çok çeşitli çevresel faktör bulunmaktadır (57). Hücre kültüründe yapılan bir çalışmada aktivatör protein-1 (AP-1) ve hipoksiyle indüklenen faktör-1 α (HIF-1 α) aracılığıyla IGF-1'in VEGF üretimini artırdığı gösterilmiştir (6). Hsp90'ın etkisi IGF-1R ve Akt gibi kinazların fonksiyonu için gereklidir. Yine aynı çalışmada Geldanamisin ile Hsp90'ın etkisinin azaltılmasının bazal ve IGF-1 bağımlı VEGF salınımını azalttığı gösterilmiştir (6).

Bu çalışmada tiroid kanserlerinde VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF1-R'lerinin immunhistokimyasal yöntemle ekspresyonlarının ve serumda VEGF, VEGFR-1 ve IGF-1 düzeylerinin araştırılması planlanmıştır. Tümör dokusunda VEGF, IGF-1 ve reseptörlerinin birbiri üzerine etkilerinin gösterilmesi ve bu faktörlerin tanı anında tümörün özellikleri ve daha sonraki hastalık progresyonuyla ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta Özellikleri

Çalışmaya Endokrinoloji Kliniğinde tiroid kanseri tanısıyla izlenen 40 hasta ve kontrol grubu olarak tiroidektomi olmuş ve patolojide nodüler guatr tanısı almış 25 hasta alındı. Tiroid kanseri tanısıyla izlenen hastalarda tanının üzerinden en az 2 yıl geçmiş olması aranmış. Hastaların retrospektif olarak dosya bilgileri tarandı. Tiroid kanseri tanısı ne zaman alındı, kaç kez operasyon geçirdiği, kaç kez RAI tedavisi alındı, ilk RAI tedavisinden sonra postablatif tüm vücut iyot taramasındaki özellikleri, tanı anında lenf nodu metastaz ya da uzak metastaz olup olmadığı öğrenildi. Hastaların tiroidektomi öncesi operasyon endikasyonları öğrenildi. Hastalar çalışmaya alındığında sadece tiroid kanseri yönünden son 3 ay içinde yapılan durum değerlendirmeleri kaydedildi. Dosya bilgilerinden boyun USG ve son tüm vücut I-131 tarama çalışmaları sonuçları öğrenildi. Hastalardan ve kontrol grubundan serum TSH, IGF-1, VEGF ve VEGFR-1 düzeyleri ölçüldü. Tiroid kanserli hastalardan ayrıca Tg ve anti-Tg düzeyleri ölçüldü. VEGF ve VEGFR-1 düzeyleri için alınan serum örnekleri çalışma gününe kadar -80 C derecede saklandı.

Hastaların ilk tanı konan tiroidektomiye ait patoloji raporu bilgilerinden tümör çapı, lenf nodu metastaz, tümörün multisentrik olup olmadığı, invazyon durumu (lenfatik, vasküler, tümör kapsülüne, tiroid kapsülüne, damara, çevre dokuya) belirlendi. Hastaların ve kontrol grubunun patolojide bulunan parafin bloklarından VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1R ekspresyonu immunhistokimyasal yöntemle değerlendirildi.

Serum VEGF , VEGFR-1 ve IGF-1 Düzeyleri

Serum VEGF düzeyleri, Human VEGF (Invitrogen, Camarillo, CA) kitiyle enzim ilâretli immunosorbant assay (ELISA) yöntemiyle ölçüldü. Alınan serum örnekleri ve standartlar inkübasyon çözeltisinde 2 saat bekletildi. 4 kez yıkamanın ardından sırayla biyotin konjüгат ile 1 saat, streptavidin ile 30 dakika ve kromojenle 30 dakika inkübe edildikten sonra durdurma solüsyonu eklenerek 450 nm'de okundu. Standart konsantrasyonuna karşılık gelen standartların absorbansları grafikte ilâretlenerek standart eğri çizildi. Elde edilen sonuçlar daha önce yapılan dilüsyon nedeniyle ikiyle çarpıld ve pg/ml olarak belirtildi.

Serum VEGFR-1 düzeyleri Human VEGFR-1 BMS268/2 ve BMS268/2TEN (Bender MedSystems, Viyana, Avusturya) kitiyle ELISA yöntemiyle ölçüldü. Alınan serum örnekleri ve standartlar tampon çözeltisi eklenip biyotin konjüгат ile 2 saat, streptavidin ile 1 saat inkübe edildikten sonra durdurma solüsyonu eklenerek 450 nm'de okundu. Standart konsantrasyonuna karşılık gelen standartların absorbansları grafikte ilâretlenerek standart eğri çizildi. Standartlar çift çalışıldı. Elde edilen sonuçlar daha önce yapılan dilüsyon nedeniyle ikiyle çarpıld ve ng/ml olarak belirtildi.

Serum IGF-1 düzeyleri rutinde kullanılan DSL-2800 ticari kitiyle ekstraksiyonsuz IRMA yöntemiyle çalışıldı. Kitin duyarlılığı 2.06 ng/ml idi.

İmmunohistokimyasal İncelemeler

İmmunohistokimya 5 µm kalınlığındaki parafin doku kesitlerine uygulandı. Parafin kesitler ksilol ve etanol ile bekletildikten sonra distile suda 10 dakika yıkandı. Tripsin solüsyonu damlatıldı. 10 dakika bekletildikten sonra antijen retrieval solüsyonu içinde 10 dakika % 50'lik güç seviyesinde mikrodalgada ısıtılıp soğumaya bırakıldı. % 3'dük hidrojen peroksit damlatılması ve yıkamasının ardından primer antikör uygulandı ve inkübasyon sürelerince beklendi (VEGF Ab-7 için 1/150 dilüsyonda 1 saat, VEGFR1 Ab1 1/25 dilüsyonda 60 dakika, IGF-1 1/50 dilüsyonda 1 saat, IGF1R Ab 1/50 dilüsyonda 1 saat). Bu işlemlerin ardından sırayla biyotin, streptavidin ve kromojen inkübasyonları yapıld ve Mayer's hematoksilen ile kesitler boyandı.

VEGF immunoreaktivitesi VEGF Ab-7 (Clone VG1) (Lab Vision Corporation, UK) fare poliklonal antikoru ile bakıldı. Ab-7 VEGF'nin 121, 165 ve 189 izoformlarını tanımlamaktadır. VEGFR1 Ab-1 (Lab Vision Corporation, UK) tavlanmış poliklonal antikoru

ile, IGF-1 (H-70). sc-9013 (Santa Cruz Biotechnology) IGF-1'ın 49-118. aminoasitlerine karşı geliştirilmiş tavlama poliklonal antikoru ile, IGF1 reseptör antikoru (SPM138) (Gene Tex, USA) monoklonal fare antikoru ile bakıldığında

immünohistokimyasal incelemelerde VEGF ve VEGFR-1 için anjiosarkom, IGF-1 için renal karsinom, IGF-1R için meme karsinomu pozitif kontrol olarak boyandı

immünohistokimyasal Boyanmaların Puanlanması

immünohistokimyasal boyanmaların derecesini puanlamak için daha önce literatürde belirtilen yöntemler kullanıldı (3, 64). Puanlama Patoloji Bölümünde Prof Dr Figen Öztürk tarafından yapıldı

VEGF ve VEGFR-1: Boyanan tirosit yüzdesi ve boyanma yoğunluğu puanlandıktan sonra ikisinin toplamı alındı Boyanma yoğunluklarının puanlanması Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Boyanan tirosit yüzdesi

- 0: Hücre boyanması yok
- 1: Tirositlerin % 30'undan daha azında boyanma
- 2: Tirositlerin % 30-60'ında boyanma
- 3: Tirositlerin % 60'ından fazlasında boyanma

Boyanmanın yoğunluğu

- 0: Boyanma yok
- 1: Zayıf
- 2: Hafif
- 3: Kuvvetli

IGF-1 ve IGF-1R

- 0: Boyanma yok
- 1: Hafif boyanma
- 2: Orta düzeyde boyanma
- 3: Yoğun boyanma

İstatistiksel Analizler

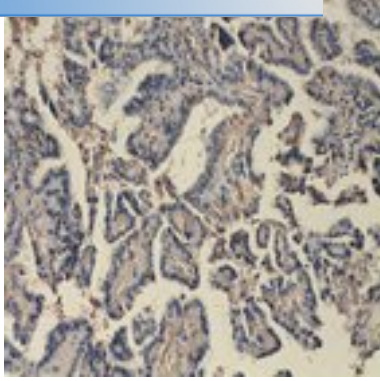
Veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS)-11 for windows paket programında analiz edildi. Ölçülebilen değerler ortalama±standart sapma (ss) olarak belirtildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov normal analiz testiyle değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilerin analizinde unpaired T-test, boyanma skorlarının gruplar arasında karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. İmmunohistokimyasal boyanmaların korelasyonu Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Yaşıa göre düzeltilmiş IGF-1 düzeylerinin hesaplanmasında ANCOVA'dan yararlanıldı. Tüm testlerde $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



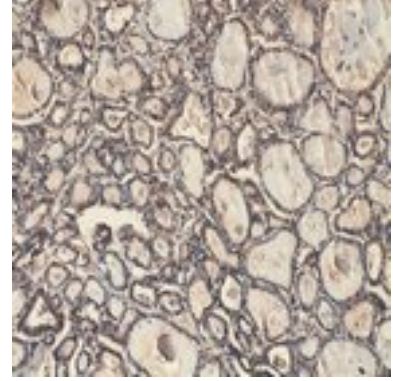
PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

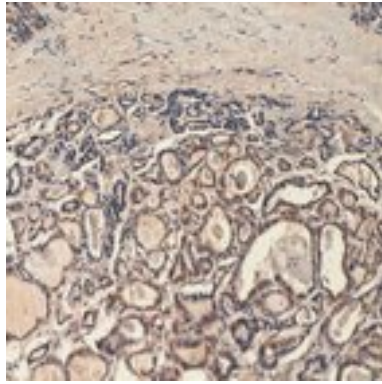
[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



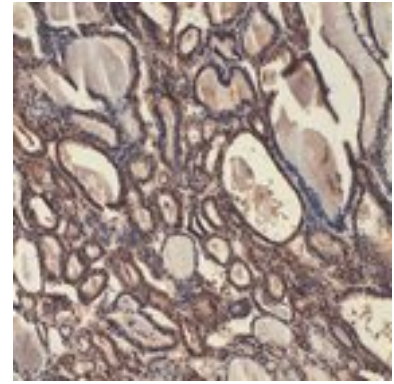
A1. VEGF zayıf boyanma



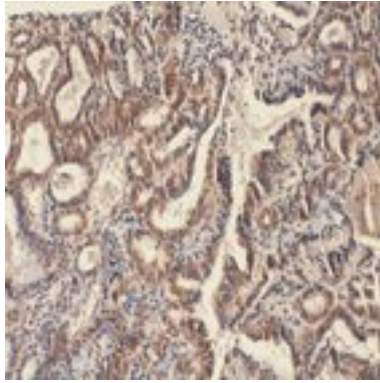
B1. VEGFR-1 zayıf boyanma



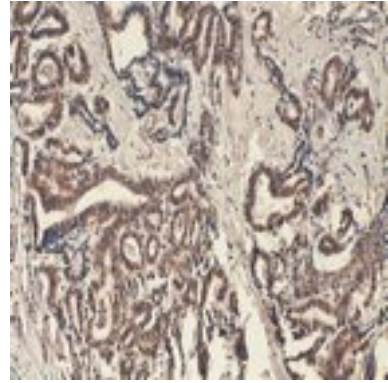
A2. VEGF hafif boyanma



B2. VEGFR-1 hafif boyanma



A3. VEGF-3 kuvvetli boyanma



B3. VEGFR-1 kuvvetli boyanma

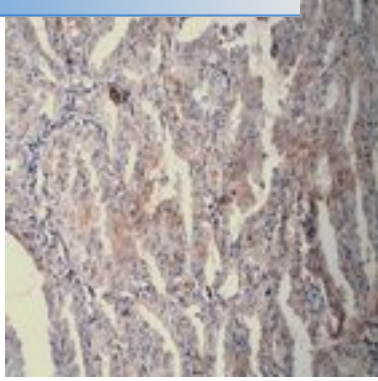
**Şekil 1: VEGF ve VEGFR-1'in immunhistokimyasal boyanma yoğunluklarının
puanlanması**



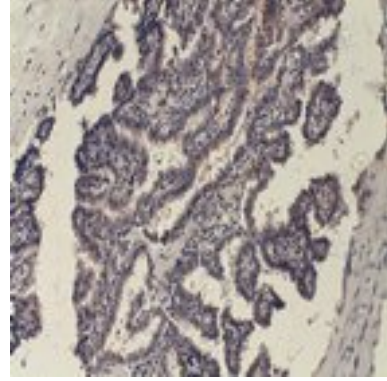
PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

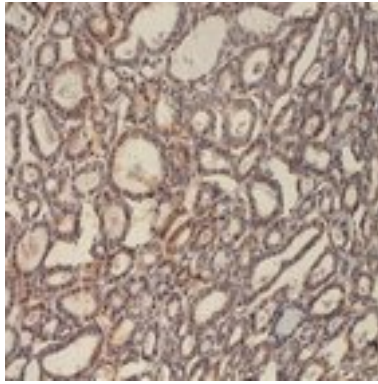
[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



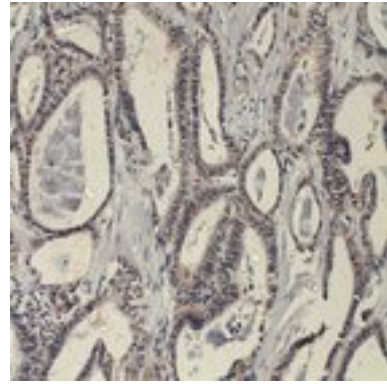
C1. IGF-1 hafif boyanma



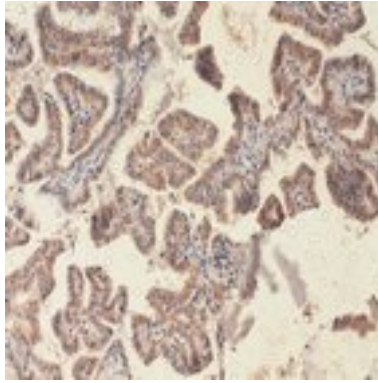
D1. IGF-1R hafif boyanma



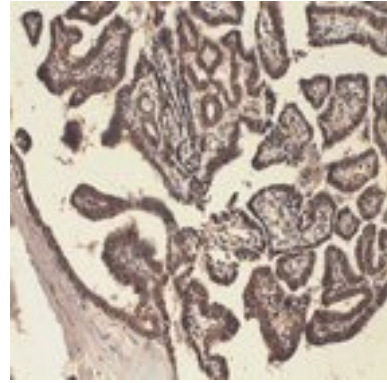
C2. IGF-1 orta düzeyde boyanma



D2. IGF-1R orta düzeyde boyanma



C3. IGF-1 yoğun boyanma



D3. IGF-1R yoğun boyanma

**Ėekil 2: IGF-1 ve IGF-1RĖin immunhistokimyasal boyanma yĖkunluklarĖnĖn
puanlanmasĖ**

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan tiroid kanserli ve nodüler guatrli hastaların yaşı ve cinsiyet özellikleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 5).

Tablo 5: Hastaların yaşı ve cinsiyet özellikleri

	Nodüler guatr	Tiroid kanseri	P değeri
Yaşı Tanışmasında hastanın yaşı	46.76±11.28 (26-69) 44.68±10.34 (25-69)	45.18±11.58 (22-78) 41.35±11.74 (19-73)	0.59 0.24
Cinsiyet Kadın Erkek Toplam	23 (%92) 2 (%8) 25 (%100)	36 (%90) 4 (%10) 40 (%100)	0.78

Tiroid kanserli hastalarda tiroidektomi endikasyonu 6 hastada (%15) klinik İüphe, 6 hastada (%15) malign tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi (TıAB), 4 hastada (%10) İüpheli TıAB, 1 hastada (%2.5) TıABta folliküler lezyon, 2 hastada (%5) büyük nodül, 4 hastada (%10) lenf nodunda papiller tiroid kanseri metastazı saptanması iken 17 hasta (%42.5) diğr nedenlerle opere edilmiıti.

Hastaların 30ü papiller karsinom, 6ı papiller kanser folliküler varyant, 2ı folliküler karsinom, 1ı papiller kanser onkositik varyant ve 1ı papiller kanser tall-cell varyant

idi. Kık tiroidektomi sırasında tümörün patolojik özellikleri Tablo 6'da sunulmuştur. Tiroid kanserli hastaların değerlendirmeye alındıklarında tanılan geçen süre ortalama: 43 ± 38 (24-252) ay idi.

Tablo 6: Tiroid kanserli hastaların tanılanındaki tümöral özellikleri

	OLMAYAN	OLAN
Multisentrik	34 (%85)	6 (%15)
Tümör kapsülüne invazyon	32 (%80)	8 (%20)
Damar invazyonu	38 (%95)	2 (%5)
Lenfatik invazyon	38 (%95)	2 (%5)
Tiroid kapsülüne invazyon	39 (%97.5)	1 (%2.5)
Tiroid dışına yayılma	37 (%92.5)	3 (%7.5)
Lenf nodu metastaz	29 (%72.5)	11 (%27.5)
Uzak metastaz	40 (%100)	0 (%0)

Serum VEGF düzeylerinde tiroid kanserli hastalar (313.4 ± 196 pg/ml) ve nodüler guatrli olanlar (287.4 ± 172 pg/ml) arasında anlamlı farklılık saptanmadı VEGF-R1 düzeyleri ise tüm hasta ve kontrol grubunda kullanılan kitin ölçülebilir limitinin altında saptandı (<0.16 ng/ml). Hastalar tanılanında tümörü multisentrik veya tümör kapsülüne invazyon veya lenf nodu metastazli olan ve olmayan olarak alt gruplara ayrıldığında gruplar arasında serum VEGF düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmadı Serum VEGF düzeyleri ölçüldüğü dönemde hastaların durumu ilerlemiş (uzak metastaz veya lenf nodu metastazli) olanların VEGF düzeyleri hastaların kontrol altında olanlardan anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 7). IGF-1 düzeylerinde ise tiroid kanserli ve nodüler guatrli hastalar arasında anlamlı farklılık saptanmadı Değerlendirme sırasında ilerlemiş tiroid kanseri olanların IGF-1 düzeyleri hastaların kontrol altında olanlardan anlamlı olarak düşük bulundu, ancak yalnız IGF-1 düzeylerini etkileyen bir faktör olması ve ilerlemiş tiroid kanseri olanların hastaların kontrol altında olanlara göre daha ileri yaşta olmasından dolayı IGF-1 düzeyleri yalnız faktörü dikkate alındığında anlamlı bulunmadı

Tablo 7: Tiroid kanseri progresyon gösteren ve kontrol altında olan hastaların serum VEGF, VEGF-R1 ve IGF-1 düzeyleri

	Kontrol altında olan	İlerlemiş hastalığa olan	P değeri
Serum VEGF (pg/ml)	261±144	436±247	0.019
Serum VEGF-R1 (ng/ml)	<0.16	<0.16	
IGF-1 (ng/ml)	242±146	102±26	0.026
Yaşıa göre düzeltilmiş IGF-1	234±23	150±60	0.053

Tiroid kanserli ve nodüler guatrli hastaların immunhistokimyasal boyanma özellikleri Tablo 8’de sunulmuştur. VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1R boyanma skorları tiroid kanserli hastalarda nodüler guatre olanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Nodüler guatr grubunda VEGF ve IGF-1 boyanma skorları arasında, tiroid kanserli hastalarda ise bütün immunhistokimyasal boyanma skorları arasında pozitif yönlü korelasyon saptandı (Tablo 9). Tiroid kanserli hastalar tanı anında lenf nodu metastazli olan-olmayan, multisentrik olan-olmayan, tümör kapsül invazyonu olan-olmayan olarak patolojik özelliklerine göre gruplara ayrıldı. Tanı anında VEGFR-1 skoru lenf nodu metastazli olan hastalarda olmayanlara göre daha yüksek bulundu ($p=0.007$). Lenf nodu metastazli olan ve olmayan gruplar arasında VEGF, IGF-1, IGF-1R ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca tümörü multisentrik veya tümör kapsül invazyonu olan ve olmayan gruplar arasında VEGF, VEGFR-1, IGF-1, IGF-1R ekspresyonları bakımından anlamlı fark saptanmadı. Değerlendirme sırasında progresif hastalığa olanların özellikleri Tablo 10’da sunulmuştur.

Tablo 8: Tiroid kanseri ve nodüler guatrli hastaların immunhistokimyasal boyanma özellikleri

	Nodüler guatr		Tiroid kanseri		P değeri
	ortalama±ss	Ortanca (minimum-maksimum)	ortalama±ss	Ortanca (minimum-maksimum)	
VEGF ile boyanan tiroisit yüzdesi	0.28±0.54	0 (0-2)	1.82±1.03	2 (0-3)	<0.001
VEGF ile boyanma yoğunluğu	0.28±0.54	2 (0-3)	1.67±1.02	1 (0-3)	<0.001
VEGF boyanması toplam skoru	0.56±1.044	0 (0-3)	3.5±1.91	3 (0-6)	<0.001
VEGFR-1 ile boyanan tiroisit yüzdesi	0.76±0.93	0 (0-3)	2.15±0.89	2 (0-3)	<0.001
VEGFR-1 ile boyanma yoğunluğu	0.48±0.59	2 (0-3)	1.87±0.88	2 (0-3)	<0.001
VEGFR-1 boyanması toplam skoru	1.24±1.451	0 (0-4)	4.02±1.64	4 (0-6)	<0.001
IGF-1 boyanma skoru	0.48±0.59	0 (0-2)	1.33±0.92	1 (0-3)	0.006
IGF-1R boyanma skoru	0	0 (0-0)	1.03±0.78	1 (0-2)	<0.001

Tablo 9: Nodüler guatr ve tiroid kanserli hastaların immunhistokimyasal boyanma özelliklerinin kendi aralarındaki korelasyonları

		r	p
Nodüler guatr	VEGF-IGF-1	0.56	0.03
Tiroid kanseri	VEGF-IGF-1	0.52	0.001
	VEGF-VEGFR-1	0.57	<0.001
	VEGF-IGF-1R	0.47	0.003
	VEGFR-1-IGF-1	0.56	<0.001
	VEGFR1-IGF-1R	0.60	<0.001



Tablo 10: Keriemin hastalığı olan tiroid kanserli hastaların özellikleri

	MM	Ek	HD	NY	HA	ET
Hasta	78 yaşı, E 72 ay*	48 yaşı, K 66 ay*	49 yaşı, K 44 ay*	75 yaşı, K 26 ay*	50 yaşı, K 252 ay*	47 yaşı, K 24 ay*
VEGF skoru	6	6	3	6	0	6
VEGFR-1 skoru	6	6	5	6	2	6
IGF-1 skoru	3	3	2	3	0	1
IGF-1R skoru	2	2	0	1	0	2
Patolojik özellikler**	-TÇ: 4 cm -Multis. -LN met	-TÇ: 1.8 cm -kapsül inv -tiroid dâire yaygın	-TÇ: 2 cm -kapsül inv -lenf inv -LN met	-TÇ: 5 cm -Multis. -LN met	-TÇ: ?	-TÇ: 0.8 cm
Tedavi	3 cerrahi 5 RAI	1 cerrahi 3 RAI	1 cerrahi 4 RAI	1 cerrahi 2 RAI	1 cerrahi 4 RAI	1 cerrahi 1 RAI
Postablatif I-131 tarama	Bakiye Lüpheli akciğer met Tg: ?	Bakiye Tg: 12	Bakiye Akciğer met Tg: 36	Bakiye Lenf nodu Akciğer met Tg: ?	Bakiye Akciğer met Tg: 41	Bakiye Tg: ?
Serum VEGF (pg/ml)	220	800	340	280	208	700
Serum VEGFR-1 (ng/ml)	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16
Serum IGF-1 (ng/ml)	125	75	102	69	109	134
Metastaz	Akciğer LN Kemik	LN	LN	LN	LN	LN

*Hastaların tanısından değerlendirilmesine kadar geçen süre **Patolojide var olan özellikler belirtilmiştir. Belirtilmeyenler hasta için negatiftir. ? bilinmiyor, TÇ: tümör çapı Multis: multisentrik LN: lenf nodu, inv: invazyon, met: metastaz

5. TARTILMA

Tümör dokusunda neovaskülarizasyon neoplastik hücreler tarafından üretilen anjiogenik faktörler aracılığıyla olmaktadır. Bunlardan biri de VEGF'dir. Tiroid kanserlerinde VEGF'nin ekspresyonunun arttığı daha önce yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir (2-4, 53).

Diferansiye tiroid kanserlerinde VEGF ekspresyonundaki artmanın yanı sıra bunun prognostik önemi olabileceği düşünülmektedir. Ekspresyonun fazla olduğu durumlarda metastaz ve rekürens riskinin arttığına dair yayınlar mevcuttur (2, 3, 65, 66). Kâçarslan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 12 reküren/metastatik ve 36 rekürensi olmayan papiller tiroid kanserli hastada VEGF'nin immunhistokimyasal ekspresyonunun ve mikrovasküler yoğunluğunun papiller kanserde normal tiroid dokusuna göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca metastatik veya reküren hastalığa olanların daha fazla VEGF ekspresyonu gösterdiği saptanmıştır (52). Çocuk ve genç erişkinlerde yapılan bir çalışmada tümör boyutunun VEGF ekspresyonuyla ilişkili olduğu gösterilmiş olmasına karşın (67) daha ileri yıllardaki hastalarda yapılan çalışmalarda böyle bir ilişki bildirilmemiştir (52, 65). Tümör boyutuyla ilişkisi olmasa da tanı anında lenf nodu ve uzak metastaz durumunu göstermede (52, 65) ve hastalıksız yaşam süresinin belirlenmesinde (66) VEGF'nin önemli olabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada diferansiye tiroid kanserlerinde VEGF ekspresyonunun nodüler guatrli hastalara göre arttığı gösterilmiştir. Ancak VEGF'nin immunhistokimyasal boyanmasının tümör boyutu, kapsül invazyonu, lenf nodu metastaz ve ileri dönemde hastalık progresyonuyla ilgisi saptanmamıştır. Bu çalışmaya destekleyen papiller tiroid kanserinde VEGF ekspresyonunun prognostik önemi olmadığı gösteren veriler de

mevcuttur (66). Her ne kadar tanıdan en az 2 yıl geçmiş olma kolu arandysa da alımanın retrospektif dizaynı sebebiyle hastaların izlem süresinin standart olmaması hastalık progresyonun değerlendirilmesini sınırlayan bir faktör olabilir.

VEGFnin tümör dokusunda nasıl arttıke hangi faktörlerle uyarıldıke çok iyi bilinmemektedir. BRAF-V600E mutasyonunun VEGF ekspresyonu ve tümör volümü, ekstrasitroidal invazyon gibi kötü prognostik özelliklerle ilgisini gösteren verilerin aksine mutasyonun VEGF ve reseptörlerinin ekspresyonu ile ilişkisinin saptanmadıke bir alıma da vardır (69, 70). Dolayısıyla BRAF mutasyonunun VEGF ve reseptörlerinin ekspresyonu üzerine etkisi konusunda net bir yorum yapmak mümkün değildir.

Tiroid kanserlerinde VEGFR ekspresyonu temel olarak endotelial hücrelerde gösterilmiş olmasına karşın (3, 53) aynı zamanda papiller kanser hücrelerinde de eksprese olduğunu gösteren alımlar vardır (67, 70). VEGFnin VEGFR-1 ve VEGFR-2 ile koekspresyonu klasik papiller kanserlerde folliküler varyantlara göre daha fazla olup lenf nodu yayılmaıyla da ilişkili bulunmuştur. (70).

VEGFnin VEGFR-2 üzerinden etkisi daha iyi bilinmekle birlikte VEGFR-1 üzerinden etkisi çok net değildir. Bu alımda VEGF ile birlikte VEGFR-1 ekspresyonu da incelenmiş ve tiroid kanser dokusunda ekspresyonlarının korele olduğu gösterilmiştir. Histopatolojik özellikler yönünden bakıldıkında VEGF ekspresyonunun lenf nodu metastazı ile bir ilişkisi yokken VEGFR-1 ekspresyonunun tanı anında lenf nodu metastazı olanlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak bu ekspresyonun uzun dönem prognoz üzerine etkisi saptanmamıştır.

Papiller tiroid kanserlerinin temel yayılma yolu lenfatiktir. Lenfatik büyüme faktörlerinden VEGF-C ve VEGF-D VEGFR-3 üzerinden etki göstermektedir (71). VEGF-C ve VEGF-Dnin diferansiye tiroid kanserlerinde lenf nodu metastazı ile ilişkisi daha önce gösterilmiştir (72-75). VEGF-Cnin uyarılmasında nitrik oksit sentaz (NOS), siklooksijenaz-2 (COX-2), IL-1, IL-6, nikotin, her-2/NEU ve IGF-1R etkili olmaktadır. Lenfanjiogenez daha çok VEGFR-3 ile ilgili olsa da bu alımda VEGFR-1in de lenfatik metastaz ile ilişkisi ortaya konmuştur.

Fenton ve arkadaşları çocuk ve genç yaştaki diferansiye tiroid kanserli hastalarda yaptıkları alımda VEGF ile beraber VEGFR-1 ekspresyonunun tümör boyutu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (67). Ancak bizim alımamızda her iki ekspresyonun da tümör boyutu ile ilişkisi saptanmamıştır.

Tiroid hücre kültüründe yapılan çalışmalar TSH'nin mitojenik etkilerinin diğer büyüme faktörlerinin olmadıkça durumlarda az olduğunu gösterse de fizyolojik konsantrasyonlarda insülin ve IGF-1 ile bu etkiler artmaktadır (76, 77). IGF-1 ve IGF-1R'nin tiroid kanserinde eksprese olduğu daha önce gösterilmiştir (78, 79). IGF-1 miktarının kanserli tiroid dokusunda normal tiroid dokusuna göre daha fazla olduğu, hücre kültüründe ise tiroid hücrelerinde değil de kanserli örneklerin fibroblastlarında IGF-1 mRNA ekspresyonunun olduğu saptanmıştır. Bu da IGF-1'in üretim yerinin stromal hücreler olduğunu düşündürmektedir (80). IGF-1R miktarı ise iyi diferansiye karsinomlarda normal dokudan 2 kat daha fazla bulunmuştur (80).

Tiroid kanserlerinin IGF1 ve IGF-1R eksprese ettiği bilinmesine karşın klinik önemi açık değildir. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda IGF-1'in papiller kanserde eksprese olduğu ancak klinik seyir üzerine etkisi olmadıkça gösterilmiştir (81, 82). IGF-1R ekspresyonunun sadece transformasyonla değil, aynı zamanda tümör boyutu ve agresif klinik davranışla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (83, 84). Gyde ve arkadaşlarının 23 papiller, 6 folliküler tiroid kanserli çocuk ve adolesanda yaptıkları çalışmada tümör dokusunda IGF-1 ve IGF-1R'nin eksprese olduğu ve IGF-1R ekspresyonu fazla olanların daha agresif seyrettiği saptanmıştır (64). Bizim çalışmamızda ise IGF-1 ve IGF-1 ekspresyonu tiroid kanserli hastalarda nodüler guatr olanlara göre daha fazla bulunmuştur, ancak ne tümörün histopatolojik özellikleriyle ne de tümörün prognozuyla ilişkisi saptanmamıştır.

Poulaki ve arkadaşları hücre kültüründe yaptıkları bir araştırmada IGF-1'in VEGF ekspresyonunu HIF-1 α ve AP-1 aktivasyonu ile fosfatidil-inozitol 3-kinaz (PI-3K)/Akt yoluyla uyardığını göstermişlerdir (6). Bu çalışmada tiroid kanserinde IGF-1 ekspresyonunun nodüler guatrli hastalara göre arttığı IGF-1 ekspresyonunun hem nodüler guatr hem de tiroid kanserli hastalarda VEGF ekspresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Yani *in vivo* ortamda elde edilen bu veriler IGF-1'in VEGF ekspresyonunu düzenlediğini desteklemektedir. Ayrıca IGF-1'in nodüler guatrli hastalarda VEGFR-1 ile ilişkisi yokken diferansiye tiroid kanserinde her ikisinin ekspresyonunun korele olarak arttığı sonucuna ulaşılmıştır. IGF-1 hem benign hem de malign dokuda VEGF ile ilişkili olduğu halde malign tiroid dokusunda IGF-1 VEGFR-1 ekspresyonunu da artıran faktörlerden birisi olabilir.

Bu çalışmada immünohistokimyasal ekspresyonların yanı sıra serum VEGF, VEGFR-1, IGF-1 düzeyleri de araştırıldı. Serum VEGF düzeyleri birçok agresif kanser türünde yaşam süresi, ileri evre hastalık ve venöz invazyonla ilişkilendirilmiştir (85, 86). Bu çalışmada serum VEGF düzeylerinde tiroid kanserli hastalar ve nodüler guatrli olanlar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak serum VEGF düzeyleri progresif hastalıklı olanlarda olmayanlara göre daha yüksek bulundu. Serum VEGF düzeylerinin tiroid kanserli hastalarda arttığını gösteren çalışmalar olmasına karşın (87, 88), kontrollere göre fark saptanmadığını gösteren çalışmalar da vardı (89).

Serum VEGF düzeylerinin papiller kanserdeki rolü tartışmalıdır. Yu ve arkadaşları papiller kanserli hastaların preoperatif VEGF ve VEGF-C düzeylerinin benign tiroid hastalıklı olanlara göre daha yüksek olduğunu ve operasyon sonrası papiller kanserli hastaların VEGF-C düzeylerinin düştüğünü ancak benign tiroid hastalıklı olanlarda anlamlı bir değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada preoperatif VEGF-C düzeylerinin lenf nodu metastaz için bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanmıştır (90). Serum VEGF düzeylerinin diferansiye tiroid kanserli hastalarda artmış olduğunu gösteren veriler mevcuttur (91, 92). Preoperatif VEGF düzeylerinin papiller tiroid kanserli hastalarda tümör boyutu, ekstratiroidal invazyon, lenf nodu ve uzak metastaz gibi prognostik faktörlerle ilişkisi daha önce ortaya konmuştur (93). Serum VEGF düzeylerinin uzak metastazlı olan hastalarda remisyonda olanlara ve sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (91). Bir başka çalışmada ise serum VEGF ve VEGF-C düzeyleri papiller kanserlerin rekürrensi durumunda artarken VEGF'nin spesifik olarak uzak metastaz varlığında arttığını saptanmıştır (92). Bu çalışmada değerlendirme sırasında uzak metastazlı olan sadece bir hasta bulunmaktadır. Hastaların progresyon durumu serum büyüme faktörlerinin ölçüldüğü dönemde değerlendirildi. Değerlendirme anında lenf nodu ve uzak metastazlı olan hastaların ortalama VEGF düzeyleri hastalıklı kontrol altındaki olanlardan daha yüksek bulundu. Bu da serum VEGF düzeylerinin tiroid kanseri progresyonunun belirteçlerinden biri olabileceğini düşündürmektedir. Ancak ortalama VEGF düzeylerinin tiroid kanseri ve nodüler guatrda benzer olması normal düzeylerinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Hangi değerlerin üzerindeki serum düzeylerinin patolojik olduğu bilinmemektedir. Diferansiye tiroid kanserli hastalarda serum VEGF düzeylerini prospektif olarak değerlendiren ve klinik seyir ile ilişkisini inceleyen çalışmalar yol gösterici olabilir.

Serum VEGF düzeylerini etkileyen faktörlerden birisi TSH'dır. Hem endojen TSH hem de rekombinan TSH'nin tiroid dokusu olsun ya da olmasın VEGF düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (91, 94, 95). Tiroid dokusu yokken TSH'nin VEGF'yi uyarabilmesi de tiroid dışı dokulardaki reseptörler aracılığıyla bu uyarının gerçekleştikini düşündürmektedir. Buna karşın rekombinan TSH uyarışının serum VEGF düzeylerinde belirgin bir değişiklikte yol açmayacağı da bir başka çalışmada gösterilmiştir (61). Sonuçta bu çalışmada hastaların serum örnekleri endojen veya rekombinan TSH uyarışı olmadan alındığından VEGF düzeylerini etkileyebilecek artmış TSH düzeyleri söz konusu değildir.

Tiroid kanserlerinde serum VEGFR düzeylerini değerlendiren veriler oldukça sınırlıdır. Hedayati ve arkadaşları ince iğne aspirasyon biyopsisi ile tanı alan 35 tiroid kanseri ve 10 folliküler neoplazisi olan hastanın serum VEGF düzeylerinin saklılıkla kontrollerle karşılaştırıldığında daha yüksek, VEGFR konsantrasyonlarının ise hem benign hem de malign hastalarda düşük olduğunu göstermişlerdir (96). Bu çalışmada serum VEGFR-1 düzeyleri hem nodüler guatr olan hem de tiroid kanserli hastalarda kitin ölçülebilir limitinin altında saptandı Normalde serumda VEGFR-1'in saptanmadığı bu çalışmada kullanılan kit prospektüsünde belirtilmektedir.

Tiroid kanseri dışında sebeplerle VEGFR-1 düzeylerini aynı kitle araştıran akciğer kanserli hastalarda yapılmış bir çalışmada serum VEGFR-1 düzeylerinin kontrollere göre farklı olmadığ ve kemoterapiyle değişiklik göstermediği saptanmıştır. Bahsedilen çalışmada VEGFR-1 ortalama değerlerinin oldukça yüksek standart sapması bulunmaktadır (97). Elde edilen veriler VEGFR-1 ekspresyonunun tanı anında lenf nodu metastaz varlığıyla ilişkisine karşın geç dönemde tiroid kanseri tekrarlasa da serumda ölçülebilir düzeylere ulaşmadığını etkisinin muhtemelen lokal olarak sürdüğünü düşündürmektedir. Ancak preoperatif dönemde VEGFR-1 düzeyleri ölçülmediği için o dönemde tespit edilebilir düzeyde olup olmadığı ve lenf nodu metastaz ile ilişkisi konusunda yorum yapmak mümkün değildir.

DeneySEL çalışmalar IGF-1'in tiroid büyümesi ve guatr üzerine önemli etkilerinin olduğunu düşündürmektedir (98, 99). Bu konuyla ilgili bilgilerin artmasına önemli katkıye büyüme hormonu fazlalığı ve buna bağlı IGF-1 yüksekliği ile seyreden bir hastalık olan akromegali ve tiroid hastalıkları konusunda yapılan araştırmalar sağlamıştır. Akromegali hastalarında tiroid vaskülaritesinin yanı sıra tiroid boyutu ve

nodül olurluğu hastalık aktivitesi ve süresine paralel olarak artmaktadır (100-103). Akromegaliği hastalarda tiroid kanser prevalansında da değilik düzeylerde artđ olduğu bildirilmiştir (103-105). İtalya'da 125 akromegaliği hastada yapığan araştışmada tiroid kanser prevalansđ %5.6 gibi beklenenden çok daha yüksek bir oranda saptanmıştır (106).

Sadece akromegalide değil normal kılilerde de IGF-1 düzeylerinin tiroid hastalıklarđyla ilışkisi incelenmiştir. Multinodüler guatrđ olan hastalarda dokuya özđu IGF-1 konsantrasyonlarđ sağıllık bireylerden daha yüksektir (107, 108). Serum IGF-1 düzeyleri tiroid hastalđđe olmayan 3662 kılide araştışılmıştır. Yüksek IGF-1 düzeylerinin guatrla ve erkeklerde tiroid nodülü olulumuyla ilışkili olduğu gösterilmiştir (109).

Bu çalışmada serum IGF-1 düzeylerinin tiroid kanserli ve nodüler guatrđ hastalarda farklılık göstermediği, tiroid kanseri progresyonu olanlarda ise olmayanlara göre daha düşük olduğu saptandı Ancak yaşla beraber IGF-1 düzeylerinin düştüğu bilinmektedir. Çalışma grubunda progresyon gösteren hastaların daha ileri yaşta olmasđ sebebiyle yaş faktörü dikkate alındığında IGF-1 düzeylerinin iki grup arasındaki farklılığın anlamlı olmadıđđı sonucuna ulağıldı. Çalışmanın kesitsel özelliği nedeniyle serum IGF-1 düzeylerinin tiroid kanseriyle ilışkisi konusunda yorum yapmak güçtür. Ancak tiroid kanseri progresyonunu belirlemede serum IGF-1 düzeyi uygun bir belirteç gibi görünmemektedir.

Sonuç olarak diferansiye tiroid kanserinde VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1R nodüler guatra göre daha fazla eksprese olmaktadır. Tanđ anında lenf nodu metastazđ olan hastalarda VEGFR-1'in immunhistokimyasal skoru metastaz olmayanlardan daha yüksektir. Serum VEGFR-1 düzeyleri tiroid kanserli ve nodüler guatrđ hastalarda ölçülemeyecek düzeydedir. Serum VEGF düzeyleri tiroid kanserli ve nodüler guatrđ hastalarda farklılık göstermemekle birlikte progresif hastalđđe olanlarda daha yüksektir. Serum IGF-1 düzeyleriyse tiroid kanseri veya kanser progresyonuyla ilışkili bulunmamıştır. İlk cerrahi sırasında VEGFR-1 ekspresyonu lenf nodu metastazđ takipte ölçülen serum VEGF düzeyleri de hastalık progresyonunu değerlendirmede kullanılabilecek belirteçler olabilir.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya alınan tiroid kanserli ve nodüler guatrli hastaların yaşı ve cinsiyet özellikleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı
2. Hastaların 30'ü papiller karsinom, 6'sı papiller kanser folliküler varyant, 2'si folliküler karsinom, 1'i papiller kanser onkositik varyant ve 1'i papiller kanser tall-cell varyant idi.
3. Tiroid kanserli hastaların %15'i multisentrik idi. %20'sinde tümör kapsül invazyonu, %5'inde damar invazyonu, %5'inde lenfatik invazyon, %7.5'unda tiroid kapsülüne invazyon ve tiroid dışı yayılım, %27.5'unda lenf nodu metastaz saptandı Tanınanında hiçbir hastada uzak metastaz saptanmadı
4. Serum VEGF düzeylerinde tiroid kanserli hastalar ve nodüler guatre olanlar arasında anlamlı farklılık saptanmadı
5. VEGF-R1 düzeyleri tüm hasta ve kontrol grubunda kullanılan kitin ölçülebilir limitinin altında saptandı
6. Hastalar tanınanında tümörü multisentrik veya tümör kapsülüne invazyon veya lenf nodu metastaz olan ve olmayan olarak alt gruplara ayrıldığında gruplar arasında serum VEGF düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmadı
7. Serum VEGF düzeyleri ölçüldüğü dönemde hastaların durumu ilerlemiş (uzak metastaz veya lenf nodu metastaz) olanların VEGF düzeyleri hastaların kontrol altında olanlardan anlamlı olarak yüksek bulundu.
8. IGF-1 düzeylerinde tiroid kanserli ve nodüler guatrli hastalar arasında anlamlı farklılık saptanmadı

9. Değerlendirilme sırasında ilerlemiş tiroid kanseri olanların IGF-1 düzeyleri hastalığa kontrol altında olanlardan anlamlı olarak düşük bulundu, ancak yalnız faktörü dikkate alındığında anlamlı bulunmadı
10. VEGF, VEGFR-1, IGF-1 ve IGF-1R boyanma skorları tiroid kanserli hastalarda nodüler guatr olanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu.
11. Nodüler guatr grubunda VEGF ve IGF-1 boyanma skorları arasında, tiroid kanserli hastalarda ise bütün immunhistokimyasal boyanma skorları arasında pozitif yönlü korelasyon saptandı
12. Tanı anında VEGFR-1 skoru lenf nodu metastaz olan hastalarda olmayanlara göre daha yüksek bulundu.
13. Lenf nodu metastaz olan ve olmayan gruplar arasında VEGF, IGF-1, IGF-1R ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmadı
14. Tümörü multisentrik veya tümör kapsül invazyonu olan ve olmayan gruplar arasında VEGF, VEGFR-1, IGF-1, IGF-1R ekspresyonları bakımından anlamlı fark saptanmadı

7. KAYNAKLAR

1. Kerbel RS: Tumor angiogenesis. N Engl J Med 2008;358:2039-2049.
2. Bunone G, Vigneri P, Mariani L, Buto S, Collini P, Pilotti S, Pierotti MA, Bongarzone I: Expression of angiogenesis stimulators and inhibitors in human thyroid tumors and correlation with clinical pathological features. Am J Pathol 1999;155:1967-1976.
3. Klein M, Picard E, Vignaud JM, Marie B, Bresler L, Toussaint B, Weryha G, Duprez A, Leclere J: Vascular endothelial growth factor gene and protein: strong expression in thyroiditis and thyroid carcinoma. J Endocrinol 1999;161:41-49.
4. Soh EY, Duh QY, Sobhi SA, Young DM, Epstein HD, Wong MG, Garcia YK, Min YD, Grossman RF, Siperstein AE, Clark OH: Vascular endothelial growth factor expression is higher in differentiated thyroid cancer than in normal or benign thyroid. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:3741-3747.
5. Folkman J: Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. N Engl J Med 1995;333:1757-1763.
6. Poulaki V, Mitsiades CS, McMullan C, Sykoutri D, Fanourakis G, Kotoula V, Tseleni-Balafouta S, Koutras DA, Mitsiades N: Regulation of vascular endothelial growth factor expression by insulin-like growth factor I in thyroid carcinomas. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:5392-5398.
7. Pacini F, DeGroot LJ: Thyroid Neoplasia; in: DeGroot L J, Jameson J.L. (eds): Endocrinology Philadelphia, Elsevier Saunders, 2006, pp 2147-2180.

8. Lang W, Bortusch H, Bauer L: Occult carcinomas of the thyroid. Evaluation of 1,020 sequential autopsies. *Am J Clin Pathol* 1988;90:72-76.
9. Mortensen JD, Woolner LB, Bennett WA: Gross and microscopic findings in clinically normal thyroid glands. *J Clin Endocrinol Metab* 1955;15:1270-1280.
10. Bronner MP, Clevenger CV, Edmonds PR, Lowell DM, McFarland MM, LiVolsi VA: Flow cytometric analysis of DNA content in Hurthle cell adenomas and carcinomas of the thyroid. *Am J Clin Pathol* 1988;89:764-769.
11. Santoro M, Carlomagno F, Hay ID, Herrmann MA, Grieco M, Melillo R, et al: Ret oncogene activation in human thyroid neoplasms is restricted to the papillary cancer subtype. *J Clin Invest* 1992;89:1517-1522.
12. Klugbauer S, Lengfelder E, Demidchik EP, Rabes HM: High prevalence of RET rearrangement in thyroid tumors of children from Belarus after the Chernobyl reactor accident. *Oncogene* 1995;11:2459-2467.
13. Nikiforov YE, Rowland JM, Bove KE, Monforte-Munoz H, Fagin JA: Distinct pattern of ret oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children. *Cancer Res* 1997;57:1690-1694.
14. Fukushima T, Suzuki S, Mashiko M, Ohtake T, Endo Y, Takebayashi Y, et al: BRAF mutations in papillary carcinomas of the thyroid. *Oncogene* 2003;22:6455-6457.
15. Challeton C, Bounacer A, Du Villard JA, Caillou B, De Vathaire F, Monier R, et al: Pattern of ras and gsp oncogene mutations in radiation-associated human thyroid tumors. *Oncogene* 1995;11:601-603.
16. Farid NR, Shi Y, Zou M: Molecular basis of thyroid cancer. *Endocr Rev* 1994;15:202-232.
17. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW, Tallini G, et al: RAS point mutations and PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2318-2326.

18. Favus MJ, Schneider AB, Stachura ME, Arnold JE, Ryo UY, Pinsky SM, et al: Thyroid cancer occurring as a late consequence of head-and-neck irradiation. Evaluation of 1056 patients. *N Engl J Med* 1976;294:1019-1025.
19. Franceschi S, Boyle P, Maisonneuve P, La Vecchia C, Burt AD, Kerr DJ, MacFarlane GJ: The epidemiology of thyroid carcinoma. *Crit Rev Oncog* 1993;4:25-52.
20. Hay ID: Papillary thyroid carcinoma. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990;19:545-576.
21. Woolner LB, Lemmon ML, Beahrs OH, Black BM, Keating FR: Occult papillary carcinoma of the thyroid gland: a study of 140 cases observed in a 30-year period. *J Clin Endocrinol Metab* 1960;20:89-105.
22. McConahey WM, Hay ID, Woolner LB, van Heerden JA, Taylor WF: Papillary thyroid cancer treated at the Mayo Clinic, 1946 through 1970: initial manifestations, pathologic findings, therapy, and outcome. *Mayo Clin Proc* 1986;61:978-996.
23. Dobyns BM, Sheline GE, Workman JB, Tompkins EA, McConahey WM, Becker DV: Malignant and benign neoplasms of the thyroid in patients treated for hyperthyroidism: a report of the cooperative thyrotoxicosis therapy follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;38:976-998.
24. Hales IB, McElduff A, Crummer P, Clifton-Bligh P, Delbridge L, Hoschl R, et al: Does Graves' disease or thyrotoxicosis affect the prognosis of thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:886-889.
25. Segal K, Ben Bassat M, Avraham A, Har-El G, Sidi J: Hashimoto's thyroiditis and carcinoma of the thyroid gland. *Int Surg* 1985;70:205-209.
26. Pacini F, Mariotti S, Formica N, Elisei R, Anelli S, Capotorti E, Pinchera A: Thyroid autoantibodies in thyroid cancer: incidence and relationship with tumour outcome. *Acta Endocrinol* 1988;119:373-380.
27. Chiovato L, Latrofa F, Braverman LE, Pacini F, Capezzone M, Masserini L, et al: Disappearance of humoral thyroid autoimmunity after complete removal of thyroid antigens. *Ann Intern Med* 2003;139:346-351.

28. Shan JP, Loree TK, Dnarker D, Strong EW, Begg C, Vlamis V: Prognostic factors in differentiated carcinoma of the thyroid gland. *Am J Surg* 1992;164:658-661.
29. Carcangiu ML, Zampi G, Rosai J: Papillary thyroid carcinoma: a study of its many morphologic expressions and clinical correlates. *Pathol Annu* 1985;20 Pt 1:1-44.
30. Mazzaferri EL: Impact of initial tumor features and treatment selected on the long-term course of differentiated thyroid cancer. *Thyroid Today* 2010;18:1.
31. Simpson WJ, McKinney SE, Carruthers JS, Gospodarowicz MK, Sutcliffe SB, Panzarella T: Papillary and follicular thyroid cancer. Prognostic factors in 1,578 patients. *Am J Med* 1987;83:479-488.
32. DeGroot LJ, Kaplan EL, McCormick M, Straus FH: Natural history, treatment, and course of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:414-424.
33. Hoie J, Stenwig AE, Kullmann G, Lindegaard M: Distant metastases in papillary thyroid cancer. A review of 91 patients. *Cancer* 1988;61:1-6.
34. Schlumberger M, Challeton C, De Vathaire F, Travagli JP, Gardet P, Lumbroso JD, et al: Radioactive iodine treatment and external radiotherapy for lung and bone metastases from thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 1996;37:598-605.
35. Elisei R, Pinchera A, Romei C, Gryczynska M, Pohl V, Maenhaut C, et al: Expression of thyrotropin receptor (TSH-R), thyroglobulin, thyroperoxidase, and calcitonin messenger ribonucleic acids in thyroid carcinomas: evidence of TSH-R gene transcript in medullary histotype. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:867-871.
36. Pollina L, Pacini F, Fontanini G, Vignati S, Bevilacqua G, Basolo F: bcl-2, p53 and proliferating cell nuclear antigen expression is related to the degree of differentiation in thyroid carcinomas. *Br J Cancer* 1996;73:139-143.
37. Romano MI, Grattone M, Karner MP, Moiguer S, Tetelbaum F, Romano LA, et al: Relationship between the level of c-myc mRNA and histologic aggressiveness in thyroid tumors. *Horm Res* 1993;39:161-165.

38. Samaan NA, Manesiwari YK, Nader S, Hill CS, Jr., Schultz PN, Haynie TP, et al: Impact of therapy for differentiated carcinoma of the thyroid: an analysis of 706 cases. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:1131-1138.
39. Cavicchi O, Piccin O, Caliceti U, De Cataldis A, Pasquali R, Ceroni AR: Transient hypoparathyroidism following thyroidectomy: a prospective study and multivariate analysis of 604 consecutive patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;137:654-658.
40. Roh JL, Park JY, Park CI: Total thyroidectomy plus neck dissection in differentiated papillary thyroid carcinoma patients: pattern of nodal metastasis, morbidity, recurrence, and postoperative levels of serum parathyroid hormone. *Ann Surg* 2007;245:604-610.
41. Sywak M, Cornford L, Roach P, Stalberg P, Sidhu S, Delbridge L: Routine ipsilateral level VI lymphadenectomy reduces postoperative thyroglobulin levels in papillary thyroid cancer. *Surgery* 2006;140:1000-1005.
42. Lee YS, Kim SW, Kim SK, Kang HS, Lee ES, Chung KW: Extent of routine central lymph node dissection with small papillary thyroid carcinoma. *World J Surg* 2007;31:1954-1959.
43. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al: Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2009;19:1167-1214.
44. Loh KC, Greenspan FS, Gee L, Miller TR, Yeo PP: Pathological tumor-node-metastasis (pTNM) staging for papillary and follicular thyroid carcinomas: a retrospective analysis of 700 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3553-3562.
45. Hay ID, Hutchinson ME, Gonzalez-Losada T, McIver B, Reinalda ME, Grant CS: Papillary thyroid microcarcinoma: a study of 900 cases observed in a 60-year period. *Surgery* 2008;144:980-987.
46. Ross DS, Litofsky D, Ain KB, Bigos T, Brierley JD, Cooper DS, et al: Recurrence after treatment of micropapillary thyroid cancer. *Thyroid* 2009;19:1043-1048.

47. McGinn NJ, Csaiko G, Gourgiotis L, Lori CG, Pucino F, Sarlis NJ: Effects of thyroid hormone suppression therapy on adverse clinical outcomes in thyroid cancer. *Ann Med* 2002;34:554-564.
48. Pujol P, Daures JP, Nsakala N, Baldet L, Bringer J, Jaffiol C: Degree of thyrotropin suppression as a prognostic determinant in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4318-4323.
49. Wilson PC, Millar BM, Brierley JD: The management of advanced thyroid cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2004;16:561-568.
50. Roskoski R: Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;62:179-213.
51. Roskoski R: Sunitinib: a VEGF and PDGF receptor protein kinase and angiogenesis inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;356:323-328.
52. Kilicarslan AB, Ogus M, Arici C, Pestereli HE, Cakir M, Karpuzoglu G: Clinical importance of vascular endothelial growth factor (VEGF) for papillary thyroid carcinomas. *APMIS* 2003;111:439-443.
53. Viglietto G, Maglione D, Rambaldi M, Cerutti J, Romano A, Trapasso F, et al: Upregulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) and downregulation of placenta growth factor (PlGF) associated with malignancy in human thyroid tumors and cell lines. *Oncogene* 1995;11:1569-1579.
54. Cohen EE, Rosen LS, Vokes EE, Kies MS, Forastiere AA, Worden FP, et al: Axitinib is an active treatment for all histologic subtypes of advanced thyroid cancer: results from a phase II study. *J Clin Oncol* 2008;26:4708-4713.
55. Kloos RT, Ringel MD, Knopp MV, Hall NC, King M, Stevens R, et al: Phase II trial of sorafenib in metastatic thyroid cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:1675-1684.
56. Sherman SI, Wirth LJ, Droz JP, Hofmann M, Bastholt L, Martins RG, et al: Motesanib diphosphate in progressive differentiated thyroid cancer. *N Engl J Med* 2008;359:31-42.
57. Shibuya M, Claesson-Welsh L: Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Exp Cell Res* 2006;312:549-560.

58. Itaka M, Miura S, Yamana K, Kawasaki S, Kitahama S, Kawakami Y, et al: Increased serum vascular endothelial growth factor levels and intrathyroidal vascular area in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3908-3912.
59. Toda S, Nishimura T, Yamada S, Koike N, Yonemitsu N, Watanabe K, et al: Immunohistochemical expression of growth factors in subacute thyroiditis and their effects on thyroid folliculogenesis and angiogenesis in collagen gel matrix culture. *J Pathol* 1999;188:415-422.
60. Sato K: Vascular endothelial growth factors and thyroid disorders. *Endocr J* 2001;48:635-646.
61. Tuttle RM, Fleisher M, Francis GL, Robbins RJ: Serum vascular endothelial growth factor levels are elevated in metastatic differentiated thyroid cancer but not increased by short-term TSH stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1737-1742.
62. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R: Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:824-831.
63. Rak JW, St Croix BD, Kerbel RS: Consequences of angiogenesis for tumor progression, metastasis and cancer therapy. *Anticancer Drugs* 1995;6:3-18.
64. Gydee H, O'Neill JT, Patel A, Bauer AJ, Tuttle RM, Francis GL: Differentiated thyroid carcinomas from children and adolescents express IGF-I and the IGF-I receptor (IGF-I-R). Cancers with the most intense IGF-I-R expression may be more aggressive. *Pediatr Res* 2004;55:709-715.
65. Klein M, Vignaud JM, Hennequin V, Toussaint B, Bresler L, Plenat F, et al: Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma 15. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:656-658.
66. Lennard CM, Patel A, Wilson J, Reinhardt B, Tuman C, Fenton C, et al: Intensity of vascular endothelial growth factor expression is associated with increased risk of recurrence and decreased disease-free survival in papillary thyroid cancer 14. *Surgery* 2001;129:552-558.

67. Fenton C, Patel A, Dinauer C, Robie DK, Tuttle RM, Francis GL: The expression of vascular endothelial growth factor and the type 1 vascular endothelial growth factor receptor correlate with the size of papillary thyroid carcinoma in children and young adults. *Thyroid* 2000;10:349-357.
68. de la Torre NG, Buley I, Wass JA, Turner HE: Angiogenesis and lymphangiogenesis in thyroid proliferative lesions: relationship to type and tumour behaviour 10. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:931-944.
69. Jo YS, Li S, Song JH, Kwon KH, Lee JC, Rha SY, et al: Influence of the BRAF V600E mutation on expression of vascular endothelial growth factor in papillary thyroid cancer 11. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3667-3670.
70. Vieira JM, Santos SC, Espadinha C, Correia I, Vag T, Casalou C, et al: Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in thyroid carcinomas of follicular origin: a potential autocrine loop. *Eur J Endocrinol* 2005;153:701-709.
71. Lin JD: Papillary thyroid carcinoma with lymph node metastases 5. *Growth Factors* 2007;25:41-49.
72. Hung CJ, Ginzinger DG, Zarnegar R, Kanauchi H, Wong MG, Kebebew E, et al: Expression of vascular endothelial growth factor-C in benign and malignant thyroid tumors 13. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3694-3699.
73. Siironen P, Ristimäki A, Narko K, Nordling S, Louhimo J, Andersson S, et al: VEGF-C and COX-2 expression in papillary thyroid cancer 12. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:465-473.
74. Tian X, Cong M, Zhou W, Zhu J, Liu Q: Relationship between protein expression of VEGF-C, MMP-2 and lymph node metastasis in papillary thyroid cancer. *J Int Med Res* 2008;36:699-703.
75. Yasuoka H, Nakamura Y, Zuo H, Tang W, Takamura Y, Miyauchi A, et al: VEGF-D expression and lymph vessels play an important role for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol* 2005;18:1127-1133.

76. Dumont JE, Lamy F, Roger P, Maenhaut C: Physiological and pathological regulation of thyroid cell proliferation and differentiation by thyrotropin and other factors. *Physiol Rev* 1992;72:667-697.
77. Milazzo G, La Rosa GL, Catalfamo R, Vigneri R, Belfiore A: Effect of TSH in human thyroid cells: evidence for both mitogenic and antimitogenic effects. *J Cell Biochem* 1992;49:231-238.
78. van der Laan BF, Freeman JL, Asa SL: Expression of growth factors and growth factor receptors in normal and tumorous human thyroid tissues 20. *Thyroid* 1995;5:67-73.
79. Vannelli GB, Barni T, Modigliani U, Paulin I, Serio M, Maggi M, et al: Insulin-like growth factor-I receptors in nonfunctioning thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1175-1182.
80. Belfiore A, Pandini G, Vella V, Squatrito S, Vigneri R: Insulin/IGF-I hybrid receptors play a major role in IGF-I signaling in thyroid cancer. *Biochimie* 1999;81:403-407.
81. Silva Filho GB, Maciel RM, Takahashi MH, Alberti VN, Castro IV, Saldiva PH, et al: Study of immunohistochemical expression of insulin-like growth factor I and proliferating cell nuclear antigen in thyroid gland papillary carcinoma and its metastasis. *Head Neck* 1999;21:723-727.
82. Yashiro T, Ohba Y, Murakami H, Obara T, Tsushima T, Fujimoto Y, et al: Expression of insulin-like growth factor receptors in primary human thyroid neoplasms. *Acta Endocrinol* 1989;121:112-120.
83. Maiorano E, Ciampolillo A, Viale G, Maisonneuve P, Ambrosi A, Triggiani V, et al: Insulin-like growth factor 1 expression in thyroid tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000;8:110-119.
84. Sell C, Dumenil G, Deveaud C, Miura M, Coppola D, DeAngelis T, et al: Effect of a null mutation of the insulin-like growth factor I receptor gene on growth and transformation of mouse embryo fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1994;14:3604-3612.

85. Karayiannakis AJ, Syngos KN, Polychronidis A, Zbar A, Kouraklis G, Simopoulos C, Karatzas G: Circulating VEGF levels in the serum of gastric cancer patients: correlation with pathological variables, patient survival, and tumor surgery. *Ann Surg* 2002;236:37-42.
86. Poon RT, Ng IO, Lau C, Zhu LX, Yu WC, Lo CM, et al: Serum vascular endothelial growth factor predicts venous invasion in hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Ann Surg* 2001;233:227-235.
87. Konturek A, Barczynski M, Cichon S, Pituch-Noworolska A, Jonkisz J, Cichon W: Significance of vascular endothelial growth factor and epidermal growth factor in development of papillary thyroid cancer 17. *Langenbecks Arch Surg* 2005;390:216-221.
88. Pasieka Z, Stepień H, Komorowski J, Kolomecki K, Kuzdak K: Evaluation of the levels of bFGF, VEGF, sICAM-1, and sVCAM-1 in serum of patients with thyroid cancer. *Recent Results Cancer Res* 2003;162:189-194.
89. Vesely D, Astl J, Lastuvka P, Matucha P, Sterzl I, Betka J: Serum levels of IGF-I, HGF, TGFβ1, bFGF and VEGF in thyroid gland tumors 18. *Physiol Res* 2004;53:83-89.
90. Yu XM, Lo CY, Lam AK, Leung P, Luk JM: Serum vascular endothelial growth factor C correlates with lymph node metastases and high-risk tumor profiles in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg* 2008;247:483-489.
91. Klubo-Gwiedzinska J, Junik R, Kopczynska E, Juraniec O, Kardymowicz H: The comparison of serum vascular endothelial growth factor levels between patients with metastatic and non-metastatic thyroid cancer, and patients with nontoxic multinodular goiter. *Eur J Endocrinol* 2007;157:521-527.
92. Yu XM, Lo CY, Lam AK, Lang BH, Leung P, Luk JM: The potential clinical relevance of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C in recurrent papillary thyroid carcinoma. *Surgery* 2008;144:934-940.
93. Lin SY, Wang YY, Sheu WH: Preoperative plasma concentrations of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase 9 are associated with stage progression in papillary thyroid cancer. *Clin Endocrinol* 2003;58:513-518.

94. Dedećus M, Kolomecki K, Brzezinski J, Adamczewski Z, Tazbir J, Lewinski A: Influence of L-thyroxine administration on poor-platelet plasma VEGF concentrations in patients with induced short-term hypothyroidism, monitored for thyroid carcinoma. *Endocr J* 2007;54:63-69.
95. Sorvillo F, Mazziotti G, Carbone A, Piscopo M, Rotondi M, Cioffi M, et al: Recombinant human thyrotropin reduces serum vascular endothelial growth factor levels in patients monitored for thyroid carcinoma even in the absence of thyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4818-4822.
96. Hedayati M, Kolomecki K, Pasiğka Z, Korzeniowska M, Kuzdak K: Assessment of VEGF and VEGF receptor concentrations in patients with benign and malignant thyroid tumors. *Endokrynol Pol* 2005;56:252-258.
97. Yilmaztepe A, Ulukaya E, Zik B, Yagci A, Sevimli A, Yilmaz M, et al: Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sVEGFR-1) is decreased in lung cancer patients showing progression: a pilot study. *Cancer Invest* 2007;25:322-327.
98. Clement S, Refetoff S, Robaye B, Dumont JE, Schurmans S: Low TSH requirement and goiter in transgenic mice overexpressing IGF-I and IGF-Ir receptor in the thyroid gland. *Endocrinology* 2001;142:5131-5139.
99. Kimura T, Dumont JE, Fusco A, Golstein J: Insulin and TSH promote growth in size of PC Cl3 rat thyroid cells, possibly via a pathway different from DNA synthesis: comparison with FRTL-5 cells. *Eur J Endocrinol* 1999;140:94-103.
100. Bogazzi F, Manetti L, Bartalena L, Gasperi M, Grasso L, Cecconi E, et al: Thyroid vascularity is increased in patients with active acromegaly. *Clin Endocrinol* 2002;57:65-70.
101. Cheung NW, Boyages SC: The thyroid gland in acromegaly: an ultrasonographic study. *Clin Endocrinol* 1997;46:545-549.
102. Cheung NW, Boyages SC: Increased incidence of neoplasia in females with acromegaly. *Clin Endocrinol* 1997;47:323-327.

103. Gasperi M, Martino E, Manetti L, Arosio M, Porretti S, Faglia G, et al: Prevalence of thyroid diseases in patients with acromegaly: results of an Italian multi-center study. *J Endocrinol Invest* 2002;25:240-245.
104. Balkany C, Cushing GW: An association between acromegaly and thyroid carcinoma. *Thyroid* 1995;5:47-50.
105. Baris D, Gridley G, Ron E, Weiderpass E, Møller H, Ekbom A, et al: Acromegaly and cancer risk: a cohort study in Sweden and Denmark. *Cancer Causes Control* 2002;13:395-400.
106. Tita P, Ambrosio MR, Scollo C, Carta A, Gangemi P, Bondanelli M, et al: High prevalence of differentiated thyroid carcinoma in acromegaly. *Clin Endocrinol* 2005;63:161-167.
107. Maiorano E, Ambrosi A, Giorgino R, Fersini M, Pollice L, Ciampolillo A: Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in multinodular goiters: a possible pathogenetic factor. *Pathol Res Pract* 1994;190:1012-1016.
108. Minuto F, Barreca A, Del Monte P, Cariola G, Torre GC, Giordano G: Immunoreactive insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-I-binding protein content in human thyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:621-626.
109. Volzke H, Friedrich N, Schipf S, Haring R, Ludemann J, Nauck M, et al: Association between serum insulin-like growth factor-I levels and thyroid disorders in a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4039-4045.