

Tiroid papiller karsinomlarında c-KIT

c-KIT in thyroid papillary carcinomas

Oğuz AYDIN, Levent YILDIZ, Mehmet KEFELİ, Canan YÜKSEL, Yurdanur SÜLLÜ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın 1990-2006 yılları arası arşivleri taranarak tespit edilen 91 tiroid papiller karsinom olgusu çalışmaya alındı. Uygun bloklar seçilerek c-kit (CD117) ile immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Çalışmaya alınan 91 olgunun 78'i klasik tip, 13'ü foliküler varyantı. Doksan bir olgunun 76'sında (%83,51) pozitif boyanma saptandı. Olgular histolojik alt tiplerine göre boyanma şiddeti ve yaygınlıkları yönünden değerlendirildi. c-kit, tiroid papiller karsinomlarında hem çevredeki tümör dışı tiroid dokusuna göre hem de klasik tipte foliküler varyanta göre daha şiddetli ve yaygın boyanma gösterdi. Bu sonuçlar c-kit'in tiroid papiller karsinomlarında tanısal ve tedaviye yönelik yeni açılımlar sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: Tiroid, papiller karsinom, c-kit, CD 117, immünohistokimya

ABSTRACT

In this study, slides of 91 thyroid papillary carcinoma cases, which were recruited from the archives of the Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, between years 1990 and 2006 were examined. Seventy eight of 91 cases were considered as classical type and the remaining 13 as follicular variant. Immunohistochemistry with c-kit (CD117) was applied on the selected appropriate blocks. Seventy six of 91 cases (83,51%) were positively stained. The cases were evaluated comparatively for their histological subtypes in terms of the density and intensity of the staining. C-kit showed stronger and more diffuse staining in thyroid papillary carcinomas compared to adjacent non-neoplastic thyroid tissue and also to the follicular variant of the classical type. This finding suggests that c-kit can provide new evolutionary information related to thyroid papillary carcinomas in terms of diagnostic and therapeutic perspectives.

Key words: Thyroid, papillary carcinoma, c-kit, CD 117, immunohistochemistry

GİRİŞ

c-kit proto-onkogeni, tip III tirozin kinaz reseptör proteinini (CD117) kodlar. Bu protein platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vas-küler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve koloni uyarıcı faktör 1 gibi diğer transmembran proteinler ile ilişkilidir (1,2). C-kit gen ürünü (CD117) meme duktus epiteli, germ hücreleri, melanositler, immatür miyeloid hücreler ve mast hücreleri gibi insan hücrelerinden eksprese edilmesinin yanı sıra, aşırı ekspresyonun gösterildiği çeşitli tümörlerin imatinib mesylate tedavisi-

visine duyarlı olduğu bilinmektedir (1,3,4).

Bu çalışmanın amacı tiroid papiller karsinomlarında, tümörde ve tümör dışı tiroid dokusunda c-kit boyanma yaygınlığı ve şiddetinin immünohistokimyasal olarak incelenmesi, bu tümörlerin tanı ve tedavisinde c-kit boyanma özelliklerinin yeni yaklaşımlara zemin oluşturup oluşturmayacağının araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın 1990-2006 yılları arası arşivleri taranarak saptanan 91 tiroid papiller karsinom olgusu çalışmaya alındı. Olgulara ait Hematoksilen-Eozin ile boyanmış kesitlerin tümü yeniden gözden geçirilerek tümörü en iyi

Bu çalışma 18. Ulusal Patoloji Sempozyumunda (07-11.05.2006, Çeşme) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Doç. Dr. Levent Yıldız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, 55139 Kurupelit, Samsun

örnekleyen preparatlar seçildi ve alt tipleri belirlendi. Uygun bloklar seçilerek c-kit primer antikor (Polyclonal, Rabbit Anti-Human, DAKO, Denmark) ile streptavidin biotin peroksidaz yöntemi (Envision universal boyama kiti, kromojen, 3, 3' Diaminobenzidin, DAKO, Denmark) kullanılarak immünohistokimyasal çalışma gerçekleştirildi. Hücrelerde intrasitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi.

Tümörde ve tümör dışı dokuda boyanma yaygınlığı semikantitatif olarak aşağıdaki şekilde değerlendirildi: 0: boyanma yok, (1+): %1-10'unda boyanma, (2+): %11-50'sinde boyanma, (3+): %50'den fazlasında boyanma.

Boyanma şiddeti ise kalitatif olarak aşağıdaki şekilde değerlendirildi: (1+): x400'lük büyütmede ancak seçilebilen, zayıf sitoplazmik boyanma, (2+): x200'lük büyütmede seçilebilen belirgin sitoplazmik boyanma, (3+): x200'den daha küçük büyütmelelerde dahi kolaylıkla seçilebilen, şiddetli sitoplazmik boyanma.

BULGULAR

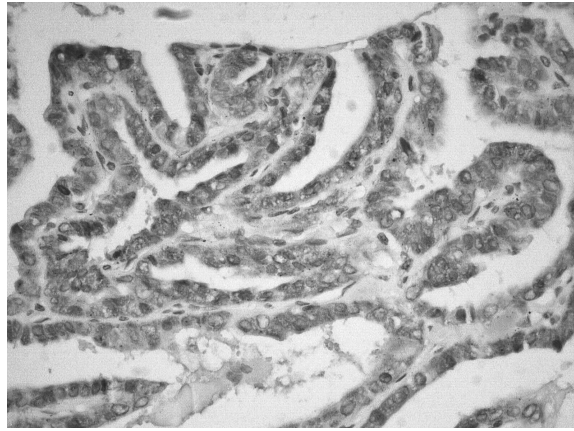
Çalışmaya alınan 91 olgunun 78'i klasik tip, 13'ü foliküler varyant olarak değerlendirildi. Doksan bir olgunun 76'sında (%83.51) immünreaktivite saptandı. Olgular histolojik alt tiplerine göre boyanma yaygınlıkları ve şiddeti yönünden değerlendirildi (Tablo 1,2). Yetmiş sekiz klasik papiller karsinom olgusunun 67'sinde (%85.89) pozitif boyanma gözlemlendi. Bu olguların 46'sında (%58.97) (3+), 13'ünde (%16.66) (2+), 8'inde (%10.25) (1+) boyanma yaygınlığı saptandı, 11 olguda (%14.1) ise boyanma göz-

Tablo 1. Tümöral dokuda c-kit boyanma yaygınlığı

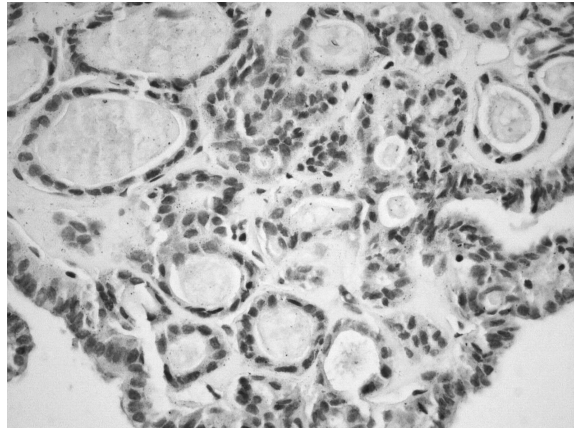
	c-kit Boyanma Yaygınlığı			
	(-)	(1+)	(2+)	(3+)
Klasik Tip	11 (%14.1)	8 (%10.25)	13 (%16.66)	46 (%58.97)
Foliküler Varyant	4 (%30.76)	1 (%7.6)	5 (%38.46)	3 (%23.07)
Toplam	15	9	18	49

Tablo 2. Tümöral dokuda c-kit boyanma şiddeti

	c-kit Boyanma Şiddeti			
	(-)	(1+)	(2+)	(3+)
Klasik	11 (%14.1)	17 (%21.79)	19 (%24.35)	31 (%39.74)
Foliküler	4 (%30.76)	5 (%38.46)	4 (%30.76)	0
Toplam	15	22	23	31



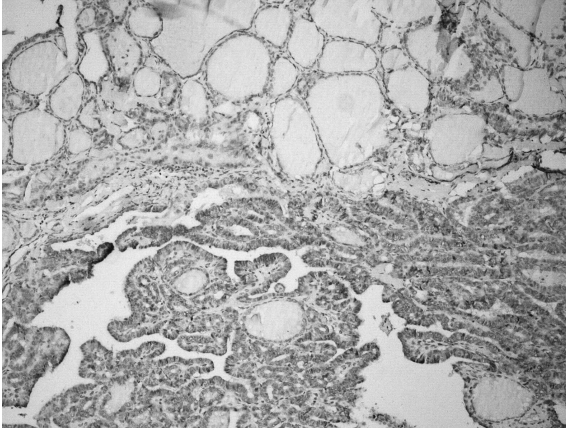
Resim 1. Klasik tipte c-kit pozitifliği (Avidin biotin, DAB kromojen x200).



Resim 2. Foliküler varyantta c-kit immünreaktivitesi (Avidin biotin, DAB kromojen x200).

lenmedi. Boyanma şiddeti ise 31 olguda (%39.74) (3+), 19 olguda (%24.35) (2+), 17 olguda (%21.79) (1+) olarak değerlendirildi (Resim 1).

On üç foliküler varyant olgusunun 9'unda



Resim 3. Tümörde ve tümör dışı dokuda c-kit immünreaktivitesi (Avidin biotin, DAB kromojen x100).

(%69.23) pozitif boyanma gözlemlendi. Bu olguların 3'ünde (3+) (%23.07), 5'inde (%38.46) (2+), 1'inde (%7.6) (1+) boyanma yaygınlığı saptandı, 4 olguda (%30.76) boyanma gözlenmedi. Boyanma şiddeti ise 4 olguda (%30.76) (2+), 5 olguda (%38.46) (1+) olarak değerlendirildi (Resim 2).

Tümöre komşu tiroid dokusunun gözlenebildiği 74 olguda tümör dışı dokuda boyanma yaygınlığı olguların 55'inde (%74.32) (1+), 6'sında (%8.1) (2+), 2'sinde (%2.7) (3+) iken 11'inde (%14.86) boyanma gözlenmedi (Resim 3). Boyanan olguların tümünde (1+) düzeyinde boyanma şiddeti saptandı. Tümör dışı dokular normal tiroid, diffüz guatr veya nodüler guatr özelliğindedir.

TARTIŞMA

CD117 (KIT) tip III tirozin kinaz reseptörü olup, bazı hücrelerde sinyal iletiminin düzenlenmesinde rol alır. Normal KIT, ligandı bağlandığında aktive olan “stem cell” faktördür. Reseptörün aktivasyon, fosforilasyon kaskadını harekete geçirerek farklı hücre tiplerinde değişik transkripsiyon faktörlerini devreye sokar. Bu aktivasyon apoptozis, hücre diferansiyasyonu, proliferasyon, kemotaksis ve hücre adezyonunu düzenler. KIT bağımlı hücreler mast hücreleri, bazı hematopoietik sistem hücreleri, melanositler, gastrointestinal kanalın Cajal hücreleri ve

bu hücrelerin KIT pozitif tümörleridir. Diğer KIT pozitif normal hücreler, deri eklerinin epitelial hücreleri, meme duktus epitel hücreleri ve serebellar nöron alt tipleridir. Anjiyosarkom, Ewing sarkomu, sinoviyal sarkom, leiomyosarkom ve malign fibröz histiyositom gibi sarkomlarda KIT pozitifliği değişen oranlarda bildirilmiştir. KIT pozitifliği, pulmoner ve diğer küçük hücreli karsinomlarda, adenoid kistik karsinomda, renal kromofob hücreli karsinomda, timik karsinomda, bazı over karsinomlarında ve birkaç meme karsinomunda da bildirilmiştir (5,6,7).

Literatürde tiroid papiller karsinomlarında c-kit ekspresyonu ile ilgili az sayıda çalışma vardır. Natali ve ark.'ları çalışmalarında, 38 benign ve 31 malign tiroid lezyonunda c-kit ekspresyonunu araştırmış, normal tiroid ve benign lezyonların %60'ında c-kit düşük düzeyde eksprese edilirken, foliküler karsinomların %60'ında, papiller karsinomların ise %90'ında c-kit ekspresyonu bulunmadığını ifade etmişlerdir. Bu bulguların c-kit reseptörünün tiroid epitelinin büyüme kontrolü ile ilgili olabileceğine işaret ettiğini ve bu fonksiyonun kaybının malign dönüşüm ile sonuçlanabileceğini vurgulamışlardır (8).

Tanaka ve ark.'ları “northern blot” yöntemi ile yedi foliküler karsinomun ikisinde, 12 papiller karsinomun 11'inde ve bir medüller karsinomda güçlükle saptanan c-kit mRNA varlığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada, 17 benign tiroid dokusunda (dört normal tiroid, dört Graves hastalığı, iki adenomatöz guatr, yedi foliküler adenom) yüksek düzeyde c-kit mRNA ekspresyonu gösterilmiştir. Sonuçlar azalmış c-kit gen ekspresyonunun tiroisitlerin dediferansiyasyonunun göstergesi olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (9).

Murakawa ve ark.'ları 20 tiroid papiller karsinomu ve 10 indifferansiye tiroid karsinomunda KIT, EGFR, HER-2, Ki-67 ve fosforile tirozin ekspresyonunu araştırmış, papiller karsinom olgularının hiçbirinde c-kit ekspresyonunun olmadığını, indifferansiye karsinomların ise %40'ında c-kit ekspresyonunun olduğunu ifade

etmişlerdir. Bu bulguları indifferansiye karsinomda moleküler hedef tedavisinin etkili olabileceği şeklinde yorumlamışlardır (10).

Çalışmamızda, iki farklı histolojik alt tipteki tiroid papiller karsinomlarında c-kit'in özellikle neoplastik epitelde, daha az düzeylerde de tümör dışı tirositlerde eksprese olduğu saptandı. Literatür incelendiğinde gözlenen çelişkili sonuçlar farklı yöntemlerin kullanılması, immünohistokimyasal çalışmanın farklı dilüsyonlardaki antikörlerle gerçekleştirilmesi veya farklı tiplerde antikör kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Yine de çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar dikkat çekicidir. Bu sonuçlar gerek tiroid papiller tümör karsinogenezinin aydınlatılmasında, gerekse de yeni tedavi yaklaşımlarının ortaya konmasında, ileri moleküler genetik çalışmalar ile desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Arber DA, Tamayo R, Weiss LM. Paraffin section detection of the c-kit gene product (CD117) in human tissues: value in the diagnosis of mast cell disorders. *Hum Pathol* 1998;29:498-504.
2. De Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N, Williams LT. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science* 1992;255:898-991.
3. Kruger S, Sotlar K, Kausch I, Horny HP. Expression of KIT (CD117) in renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Oncology* 2005;68:269-275.
4. Matsuda R, Takahashi T, Nakamura S, Sekido Y, Nishida K, Seto M, et al. Expression of the c-kit protein in human solid tumors and in corresponding fetal and adult normal tissues. *Am J Pathol* 1993;142:339-346.
5. Miettinen M, Lasota J. KIT (CD117): A review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005;13:205-220.
6. Ohashi A, Funasaka Y, Ueda M, Ichihashi M. C-Kit receptor expression in cutaneous malignant melanoma and benign melanocytic naevi. *Melanoma Research* 1996;6:25-30.
7. Natali PG, Nicotra MR, Sures I, Mottolese M, Botti C, Ullrich A. Breast cancer is associated with loss of the c-kit oncogene product. *Int J Cancer* 1992;52:713-717.
8. Natali PG, Berlingieri MT, Nicotra MR, Santoro E, Bigotti A, Ullrich A. Transformation of thyroid epithelium is associated with loss of c-kit receptor. *Cancer Res* 1995;55:1787-91.
9. Tanaka T, Umeki K, Yamamoto I, Kotani T, Sakamoto F, Noguchi S, et al. C-Kit proto-oncogene is more likely to lose expression in differentiated thyroid carcinoma than three thyroid-specific genes: thyroid peroxidase, thyroglobulin, and thyroid stimulating hormone receptor. *Endocr J* 1995;42:723-728.
10. Murakawa T, Tsuda H, Tanimoto T, Tanabe T, Kitahara S, Matsubara O. Expression of KIT, EGFR, HER-2 and tyrosine phosphorylation in undifferentiated thyroid carcinoma: Implication for a new therapeutic approach. *Pathol Int* 2005;55:757-765.