

Safra Kesesi Adenomyomatozisi Prekanseröz Lezyon mudur? Ki-67 ve P53 Pozitif Ekspresyonunun Normal Safra Kesesi Dokusu ile Karşılaştırılması

Veysi Hakan YARDIMCI*, Süheyla EKEMEN**, Abdullah Yüksel BARUT***

Öz

Amaç: Safra kesesi adenomyomatozisinin (SKA) kesin patogenezi hala tam olarak açıklanamamıştır, tanı ve tedavisine ilişkin bazı tartışmalar mevcut. Başlangıçta kanser öncesi bir lezyon olarak kabul edilen adenomyomatozis, son zamanlarda yapılan çalışmalarda safra kesesinin sıklıkla kolesistit ve kolelitiazis ile ilişkili iyi huylu bir değişikliği olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, SKA patogenezi araştırmak için; aynı hastada safra kesesi normal ve adenomyomatozis dokusunda, tümör hücrelerinin proliferatif aktivitesini gösteren biyobelirteç düzeyleri ve neoplastik doku pozitiflik paternini gösteren biyobelirteç düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: 2019-2020 yılları arasında toplam 750 laparoskopik kolesistektomi uygulanan hastanın patoloji raporları incelenmiş, adenomyomatozis tanısı alan 20 vaka retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Proliferasyon belirteci olarak Ki-67 ve neoplastik aktivite belirteci olarak P53, safra kesesi normal dokusu ile adenomyomatozis dokusunda ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Bulgular: Safra kesesi normal ve adenomyomatozis dokusundaki Ki-67 indeksi ortalama değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,000$). Ancak bu iki grup P53 indeksi ortalama değerleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel fark bulunamadı ($p = 0,062$).

Sonuç: Çalışmada adenomyomatozis dokularında anlamlı derecede yüksek Ki-67 proliferasyon belirteci düzeyleri tespit edilmesine karşın, safra kesesi kanserinin yaygın P53-pozitiflik paterninin bu dokularda normal dokularla karşılaştırıldığında anlamlı farklar saptanmaması, SKA'nin kanser öncüsü bir lezyon olmayıp, iyi huylu proliferatif bir değişiklik olduğunu destekler görünmektedir.

Özgün Araştırma Makalesi (Original Research Article)

Geliş / Received: 12.12.2021 & **Kabul / Accepted:** 16.12.2022

DOI: <https://doi.org/10.38079/igusabder.1033234>

* Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

E-posta: vhyardimci@gelisim.edu.tr [ORCID https://orcid.org/0000-0003-1395-3882](https://orcid.org/0000-0003-1395-3882)

** Dr. Öğr. Üyesi, Nişantaşı Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye, E-posta: suheylaekemen@gmail.com

[ORCID https://orcid.org/0000-0001-7135-0233](https://orcid.org/0000-0001-7135-0233)

*** Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

E-posta: aybarut@gelisim.edu.tr [ORCID https://orcid.org/0000-0002-7861-0736](https://orcid.org/0000-0002-7861-0736)

ETİK BİLDİRİM: Bu çalışma için İstanbul Gelişim Üniversitesi Etik Kurulundan 03/12/2021 tarih ve 2021-37 sayılı Etik Kurul Onayı alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Safra kesesi adenomyomatozisi, safra kesesi kanseri, P53, Ki-67, proliferatif belirteç, neoplastik belirteç.

Is Gallbladder Adenomyomatosis a Precancerous Lesion? Comparison of Ki-67 and P53 Positive Expression with Normal Gallbladder Tissue

Abstract

Aim: The exact pathogenesis of gallbladder adenomyomatosis (GBA) is still not fully elucidated, and there is some controversy regarding its diagnosis and treatment. Adenomyomatosis, which was initially considered a precancerous lesion, has been recognized in recent studies as a benign alteration of the gallbladder often associated with cholecystitis and cholelithiasis. In this study, to investigate the pathogenesis of GBA; It was aimed to compare the levels of biomarkers showing the proliferative activity of tumor cells in normal and adenomyomatosis tissue of the gallbladder and the levels of biomarkers showing the positivity pattern of neoplastic tissue in the same patient.

Method: The pathology reports of a total of 750 patients who underwent laparoscopic cholecystectomy between 2019-2020 were reviewed, and 20 cases diagnosed with adenomyomatosis were evaluated retrospectively. Ki-67 as a proliferation marker and P53 as a neoplastic activity marker were evaluated separately in the normal tissue of the gallbladder and adenomyomatosis tissue.

Results: When the mean values of the Ki-67 index in the normal gallbladder and adenomyomatosis tissue were compared, a statistically significant difference was found ($p < 0,000$). However, when these two groups were compared in terms of the mean values of the P53 index, no statistical difference was found ($p = 0,062$).

Conclusion: Although this study found significantly higher Ki-67 proliferation marker levels in adenomyomatosis tissues, the fact that the common P53-positivity pattern of gallbladder cancer did not show significant differences in these tissues compared to normal tissues appears to support that GBA is not a cancer-precursor lesion but a benign proliferative lesion.

Keywords: Gallbladder adenomyomatosis, gallbladder cancer; P53, Ki-67, proliferative marker, neoplastic marker.

Giriş

Kalınlaşmış safra kesesi duvarı, klinik uygulamada sıklıkla karşılaşılan bir radyolojik görüntüleme özelliğidir. Bu durum safra kesesi kanserinde olduğu gibi safra kesesinin çeşitli selim lezyonlarında da görülebilir^{1,2}.

Safra kesesinin adenomyomatozisi (SKA) kolesistektomilerden sonra %1-8,5 sıklığında izlenen tümör benzeri bir lezyondur³. Çoğunlukla safra kesesi taşına eşlik eden adenomyomatozis, safra kesesi duvarını kalınlaştırarak radyolojik olarak kanser şüphesi uyandıran bir lezyon olmasıyla dikkat çeker.

Safra kesesi kanseri (SKK) ise 5 yıllık sağ kalım oranı %5'ten az olan son derecede agresif seyirli malign bir hastalıktır. SKK ve SKA'nin erken semptomları genellikle spesifik değildir, hastalar sadece sağ üst kadranda ağrısından şikayetçidirler⁴. Ayrıca erken SKA klinik semptomları safra kesesi taşları ve kolesistit semptomlarına da son derece benzer olup, hastalığı teşhis etmek ve tedavi etmek için zorluk oluşturur.

Bu nedenle SKA'inde tanı koymak, erken evre SKK'inden ayırıcı tanısını yapmak adına iki hastalığın arasındaki ilişkiyi araştırmak önemlidir. Genellikle SKK'nde ve SKA'nde, safra taşı ve kolesistit birlikte rastlandığından SKA'nin gerçekten malign potansiyelinin olup olmadığını kanıtlamak zordur. Ayrıca SKA patogenesinin mekanizması tam olarak anlaşılmamış ve erken evre SKK ile ilişkisinin belirsizliği devam etmektedir⁴.

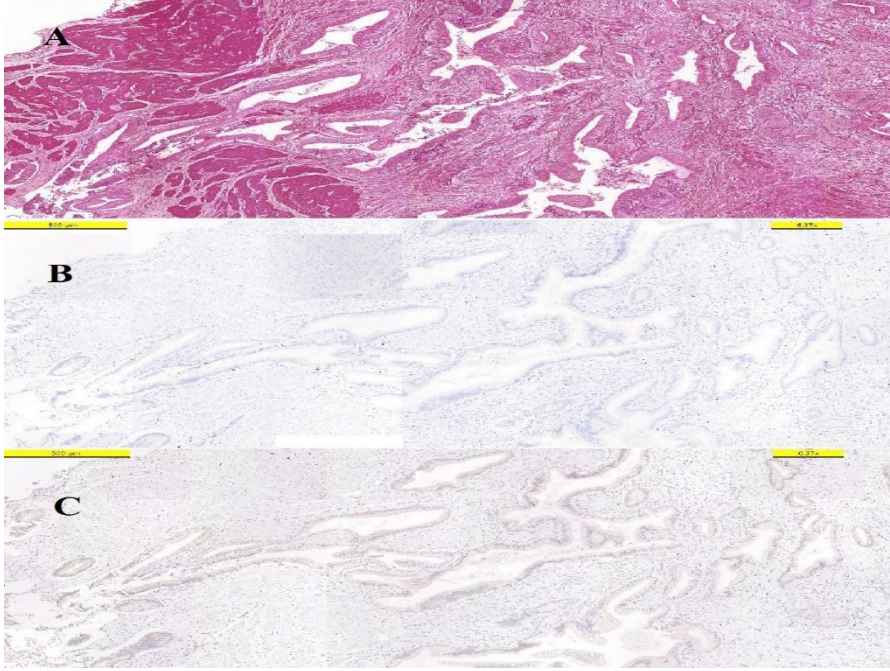
Çalışmada SKA'nin erken evre SKK öncüsü, premalign bir lezyon olup olmadığını araştırmak amacıyla; Ki-67 ve P53 immunhistokimyasal skorlama indekslerinin aynı patoloji piyesinin normal dokusu ve adenomyomatozis gösteren dokusundaki değerlerini karşılaştırılmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

2019-2020 Yılları arasında toplam 750 laparoskopik kolesistektomi uygulanan hastanın patoloji raporları retrospektif olarak incelenip, adenomyomatozis tanısı alan 20 olgunun lam ve blokları arşivden çıkartılıp çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm vakalarda immunhistokimyasal olarak proliferasyon belirteci Ki-67 ve neoplastik doku belirteci P53, aynı piyesin normal dokusu ile adenomyomatozis dokusunda VentanaXT/VentanaUltra cihazı kullanılarak çalışılmıştır.

Hematoksilen Eozin boyalı lamlar üzerinden adenomyomatozis alanları ve normal safra kesesi alanları işaretlendi. Ki-67 ve P-53 immunhistokimya skorlaması işaretli alanlar üzerinden 3DHitech/Pannoramic Scanner P250 cihazında Virasoft Yazılım/Vira Center programında dijital olarak analiz edildi (Şekil 1). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda Ki-67 ve P53 belirteçleri, safra kesesi normal ve adenomyomatozis dokusundaki değerlerine göre gruplandırıldı.

Şekil 1. Mikroskopik görünüm (500 µm, 6.37x) **A:** Adenomyomatozis hiperplazi alanı (H&E), Aynı alana ait, **B:** Ki-67 immunhistokimyasal skorlama, **C:** P53 immunhistokimyasal skorlama (Virasoft Yazılım/Vira Center)



Bu çalışma için İstanbul Gelişim Üniversitesi Etik Kurulundan 03/12/2021 tarih ve 2021-37 sayılı Etik Kurul Onayı alınmıştır.

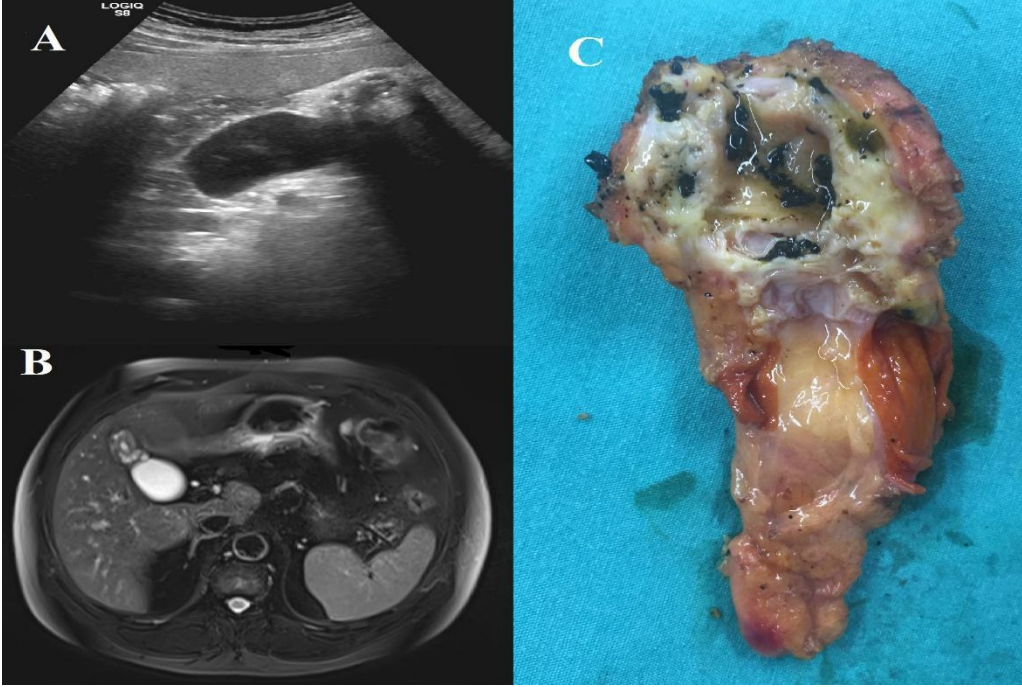
İstatistiksel Analiz

Gruplar arası karşılaştırmalar SPSS yazılımı (Windows için sürüm 20.0; IBM Corp., Armonk, NY) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar yüzdeler, standart sapmalı ortalamalar veya aralıklı ortalamalar olarak gösterildi. Bağımsız örnekler Student's t testi, gruplar arası değerleri karşılaştırmak için kullanıldı. $P < 0.05$, istatistiksel anlamlılığı yansıttığı kabul edildi.

Bulgular

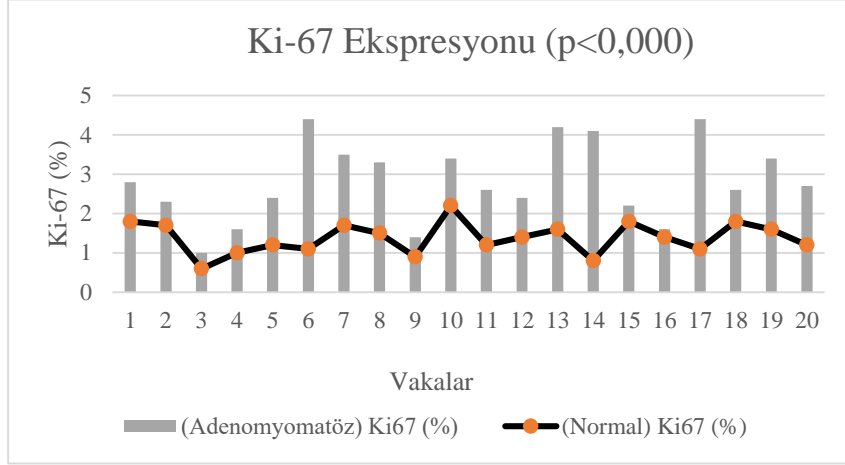
Çalışma popülasyonunun, 8'i (%33,3) kadın, 12'si (%66,6) erkek ve ortalama yaş $50,6 \pm 12,1$ yıl (30-77 yıl) idi. SKA vakalarımızın 7 tanesine (%35) kolesterolozis, 4 tanesine (%20) ise kolelitiazis eşlik etmekteydi. Fundal veya segmental yerleşimli diğer 9 vakada (%45) ise ağrı semptomlarının varlığı nedeniyle kolesistektomi uygulanmıştır. SKA'nin safra kesesi yerleşimi incelendiğinde; 14 tanesi fundal, 6 tanesi segmental tipte bulundu, diffüz tip adenomyomatozis gözlenmedi. Çalışmada en sık rastlanan fundal tip adenomyomatozis vakasının radyolojik ve makroskopik görüntü örneği Şekil 2'de verilmiştir.

Şekil 2. A: Preoperatif USG tetkikinde safra kesesi fundusunda duvar kalınlaşması, **B:** Fundal tip adenomyomatozis MRG'de yağ baskılı T2A da görünümü; kalınlaşmış safra kesesi duvarı ve safra dolu Rokitansky-Aschoff sinüslerine karşılık gelen küçük kistik görünümlü boşluklar, **C:** Makroskopik fundal tip adenomyomatozis.



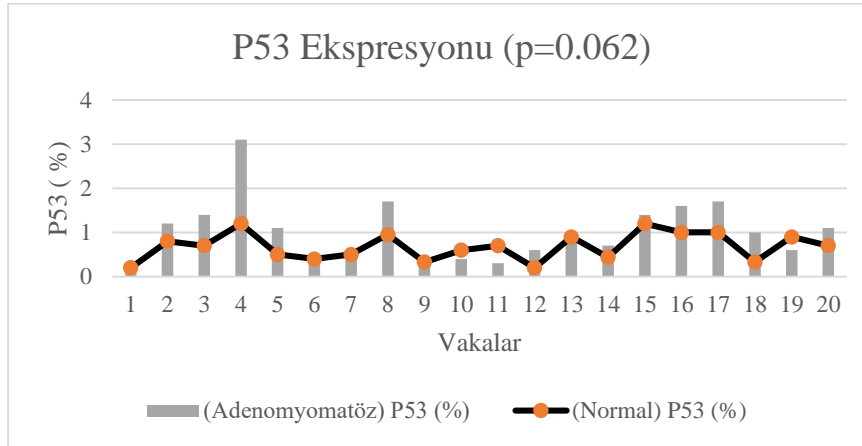
Ki-67 immünohistokimyasal boyama indeksi ortalama değeri incelendiğinde normal dokuda; $1,38 \pm 0,4$ (%0,6-2,2) bulunurken, adenomyomatozis dokusundaki değeri ise $2,81 \pm 1,01$ (%1-4,4) olarak saptandı. İki grup Ki-67 proliferasyon indeksi ortalama değerleri açısından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,000$). Bu sonuç SKA dokusunda mitotik aktivitenin, normal dokudaki aktiviteye göre belirgin artışını göstermektedir (Şekil 3).

Şekil 3. Safra kesesi normal ve adenomyomatozis dokusundaki Ki-67 proliferasyon indeksi değerleri (%).



P53 immünohistokimyasal boyama indeksi incelendiğinde ise; normal dokudaki ortalama değeri $0,68 \pm 0,31$ ($0,2-1,2$) iken, adenomyomatozis dokusundaki ortalama değeri ise $1,01 \pm 0,7$ ($0,3-3,1$) olarak bulundu. İki grup P53 indeksi ortalama değerleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel fark bulunamadı ($p=0,062$). Her iki grupta çok düşük seviyelerde görülen P53 pozitiflik paterni, adenomyomatozis dokusundaki olası anlamlı tümöral mitotik aktivite artışını desteklememiştir (Şekil 4).

Şekil 4. Safra kesesi normal ve adenomyomatozis dokusundaki P53 indeksi değerleri (%).



Tartışma

Safra kesesinin benign hastalıklarına yönelik uygulanan laparoskopik cerrahi operasyonlar sırasında rastlantısal SKK tanısı sıklığı giderek artmaktadır^{5,6}. SKK'de başlangıç aşamasında

semptomların olmaması geç tanı ve kötü prognoza neden olur, bu da tedavisi için önemli bir problemdir. Dolayısıyla safra kesesi kanserinin epidemiyolojisi, moleküler genetiği ve patogenezi arasındaki ilişkinin anlaşılması önemlidir.

Bazı çalışmalarda SKA'nin malign potansiyele sahip olduğu düşünülmemişken; diğer bazı çalışmalar ise safra kesesi kanserinin adenomyomatozisten kaynaklanabileceğini öne sürmüştür^{7,8}. Kai ve ark. çalışmalarında, SKK tanısı ile rezeke edilen safra kesesi piyesinin yaklaşık dörtte birinde adenomyomatozisin belirgin özelliklerinin bulunduğunu göstermiştir⁹. Kawarada ve ark. çalışmalarında SKA'den kaynaklanan ilk SKK vakasını bildirmişlerdir¹⁰. Adenomyomatozisli hastalarda, SKK riskinin büyüklüğü belirsizliğini korusa da, SKA ile SKK arasında bir korelasyon olduğunu öne süren çalışmalar giderek birikmektedir^{7,10}.

Adenomyomatozis, kadınlarda erkeklerden daha sık olarak tanımlanmıştır¹¹. Bu çalışmada SKA sıklığı %2,67 oranı ile literatür ile uyumlu iken, cinsiyet dağılım oranı erkek lehinedir.

Adenomyomatozis, safra kesesi duvarındaki yerleşimine göre 3 morfolojik tipe sahiptir; fundal (lokalize) tip, segmental tip ve diffüz-yaygın tip^{8,10,12,13}. Segmental adenomyomatozis, dairesel olarak safra kesesi gövdesi tutulumu olarak ortaya çıkar ve safra kesesini iki kompartmana ayıran halkasal lezyon olarak görülür¹⁴. Fokal tipi ise en yaygın olanıdır ve genellikle fundusta tutulum olur. Adenomyomatozisin bu iki tipinin duvar kalınlaşması genellikle SKK ile karıştırılır¹¹. Çalışmada da literatürle uyumlu şekilde 14 fundal tip yerleşim gösteren adenomyomatozis vakası en sık olarak görülmüştür.

SKA'de, Rokitansky-Aschoff sinüsleri olarak bilinen kalınlaşmış kas tabakası boyunca intramural mukozal invajinasyonlarla birlikte epitelyal proliferasyonu ve düz kas demetlerinin hipertrofisi görülür¹⁴. Rokitansky-Aschoff sinüslerinin tanımlanması, adenomyomatozisin radyolojik tanısı açısından önemlidir.

Adenomyomatozis'e safra kesesi kronik inflamasyonu ve kolelitiazis gibi irritan durumların eşlik etmesi dikkat çekicidir ve bu da lezyonun hiperproliferatif inflamatuvar bir lezyon olduğunu desteklemektedir. Çalışmada 11 patoloji piyesinde kolelitiazis ve kolesterozis SKA'ne eşlik etmekteydi.

SKK tanısı ve prognozunda potansiyel biyobelirteçleri tanımlamak amacıyla normal ve tümör hücreleri arasındaki farklı gen ekspresyon profillerini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır¹⁵. Proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA) ve Ki-67 gibi birçok antijen, kanser hücreleri için proliferasyon belirteçleri olarak kullanılmıştır¹⁶. Çok sayıda çalışma, Ki-67 immünohistokimyasal boyamanın, hücre büyüme fraksiyonu ve hücre proliferatif aşamasında PCNA ve diğerlerine göre daha etkili bir belirteç olduğunu göstermiştir^{16,17}. Bu çalışmada Ki-67 ekspresyonunu proliferatif aktivite belirteci olarak tercih edilmiştir.

P53; tümör önleyici, hücre döngüsünü düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Birçok organizmada kanseri baskılamak için çok önemli bir proteindir. P53, genomda mutasyon olmasını önleyerek genom stabilitesini korur, kanser oluşumunu önlediği ve tümör baskılayıcı fonksiyon gösterdiği için kritiktir.

SKK için P53 immün boyamanın önemi son 25 yılda rapor edilmeye başlanmıştır. Shu ve arkadaşları çalışmalarında safra kesesi kanseri, peritümöral doku ve safra kesesinin benign hastalıklarında (kolesistit vb.) P53 ekspresyonunun sırasıyla %50, %30 ve %5-10 olarak bildirmişlerdir¹⁸. Katabi ve arkadaşları da çalışmalarında, safra yolu karsinomda Ki-67 ve P53 ekspresyonlarında metaplaziden kansere doğru artış trendinde olduğunu göstermişlerdir¹⁹. Benzer bir çalışmada; safra kesesi invaziv kanserin %96'sında (23/24) ve safra kesesi karsinoma in situ'nun %86'sında (6/7) yüksek derecede P53 ekspresyonu bildirmişlerdir²⁰. Suzuki ve arkadaşları¹⁰ çalışmalarında, Ki-67 ve P53 ekspresyonlarının safra kesesi karsinomu ve etrafındaki displastik alanda yüksek düzeylerde bulmuşlardır.

Aynı şekilde Itoi ve arkadaşları²¹ çalışmalarında; 18 safra kesesi mikrokarsinomundan 11'inde (%61,1); 53 adet evre pT1a karsinomasından 32'sinde (%60,4); 93 adet evre pT2 karsinomunun 62'si (%66,7) P53 geni aşırı ekspresyonu göstermiştir. Neoplastik olmayan lezyonlarda ise sporadik P53 aktivitesini %1-5 aralığında tespit etmişlerdir. Sonuçlar, P53-pozitiflik paterninin yalnızca invaziv yüksek grade safra kesesi kanserlerinde değil, düşük grade kanserlerde de aynı derecede yüksek oranlar tespit edildiğini, ancak neoplastik olmayan ve iyi huylu tümörlerde bu durumun tespit edilmediğini göstermiştir. Literatürdeki çalışmalar dikkate alındığında, P53 geni aşırı ekspresyonun neoplastik olmayan lezyonlardan safra kesesi karsinomuna geçişte anahtar bir belirteç olduğunu düşündürmektedir.

Bu nedenle, P53 gen aşırı ekspresyonunun safra kesesi kanseri gelişiminde önemli bir belirteç olduğu ve erken fazda meydana geldiği ve hastalığın ilerlemesi aşamasında da korunduğu önerilebilir. Bu çalışmada Ki-67 proliferasyon belirtecini P53 belirteci ile birlikte çalışarak SKA vakalarında premalignite değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Çalışmadaki P53 immünohistokimyasal boyama indeksinin adenomyomatozis dokusundaki ortalama değerlerini (%1,01) literatürdeki neoplastik olmayan lezyonların P53 aktivite oranı ile uyumlu bulunmuştur.

Segmental SKA ile SKK arasındaki ilişkiyi araştıran Nabatame ve arkadaşları²² çalışmalarında; safra kesesi karsinomu insidansının, segmental adenomyomatozis olan hastalarda (%6,6) diğer morfolojik tiplere göre (%4,3) daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Segmental SKA'nın safra kesesi distalinde safra tıkanıklığına ve lümen içi basınç artışına yol açtığı ve kansere neden olan bir faktör olarak kabul edilen kronik inflamasyona yol açtığı varsayılmaktadır. Bu da segmental tip SKA'nın kanser prevalansını diğer tipler göre daha arttırdığını düşündürür. Çalışmadaki Ki-

67 ve P53 ekspresyonlarının SKA nin morfolojik alt grupları arasındaki değişiminin incelenmesi örneklem sayımızın az olması nedeniyle yapılamamıştır.

Sonuç

Çalışmadaki safra kesesi adenomyomatozis dokularında normal dokulara göre yüksek Ki-67 proliferasyon belirteci düzeyleri tespit edilmiş, ancak safra kesesi kanserinde yaygın olarak rastlanan P53-pozitiflik paterninin normal dokularla karşılaştırıldığında adenomyomatozis dokularında anlamlı fark göstermemesi, SKA'nin kanser öncüsü bir lezyon olmayıp, iyi huylu proliferatif bir değişiklik olduğunu destekler görünmektedir. Ancak örneklem sayısının az olması çalışma açısından kısıtlılık oluşturmakta ve istatistiksel güvenilirliği zayıflatmaktadır. Sonuçların kanıtlanması için daha fazla çalışma birikimine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Van Breda Vriesman AC, Engelbrecht MR, Smithuis RH, Puylaert JB. Diffuse gallbladder wall thickening: Differential diagnosis. *Am J Roentgenol.* 2007;188(2):495-501.
2. Dong Y, Xu B, Cao Q, et al. Incidentally detected focal fundal gallbladder wall thickening: Differentiation contrast enhanced ultrasound features with high-resolution linear transducers. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2020;74(3):315-325.
3. Mahajan A, Sripathi S. Gallbladder Adenomyomatosis Mimicking Carcinoma: A Diagnostic Dilemma. *J Glob Oncol.* 2016;2(5):341-345.
4. Pang L, Zhang Y, Wang Y, Kong J. Pathogenesis of gallbladder adenomyomatosis and its relationship with early-stage gallbladder carcinoma: An overview. *Braz J Med Biol Res.* 2018;51(6):e7411.
5. Cavallaro A, Piccolo G, Panebianco V, et al. Incidental gallbladder cancer during laparoscopic cholecystectomy: Managing an unexpected finding. *World J Gastroenterol.* 2012;18(30):4019-4027.
6. Fuks D, Regimbeau JM, Le Treut YP, et al. Incidental gallbladder cancer by the AFC-GBC-2009 Study Group. *World J Surg.* 2011;35(8):1887-1897.
7. Kai K, Aishima S, Miyazaki K. Gallbladder cancer: Clinical and pathological approach. *World J Clin Cases.* 2014;2(10):515-521.
8. Morikawa T, Okabayashi T, Shima Y, et al. Adenomyomatosis Concomitant with Primary Gallbladder Carcinoma. *Acta Med Okayama.* 2017;71(2):113-118.

9. Kai K, Ide T, Masuda M, et al. Clinicopathologic features of advanced gallbladder cancer associated with adenomyomatosis. *Virchows Arch.* 2011;459(6):573-580.
10. Suzuki K, Abe K, Ohbu M. A Resected Gallbladder Carcinoma Coexisting With Adenomyomatosis Involving Varied Degrees of Intraepithelial Dysplasia: A Case Report and Literature Review. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2019;29(4):290-296.
11. Yu MH, Kim YJ, Park HS, Jung SI. Benign gallbladder diseases: Imaging techniques and tips for differentiating with malignant gallbladder diseases. *World J Gastroenterol.* 2020;26(22):2967-2986.
12. Golse N, Lewin M, Rode A, Sebahg M, Mabrut JY. Gallbladder adenomyomatosis: Diagnosis and management. *J Visc Surg.* 2017;154(5):345-353.
13. Yoon JH, Cha SS, Han SS, Lee SJ, Kang MS. Gallbladder adenomyomatosis: imaging findings. *Abdom Imaging.* 2006;31(5):555-563.
14. Runner GJ, Corwin MT, Siewert B, Eisenberg RL. Gallbladder wall thickening. *Am J Roentgenol.* 2014;202(1):W1-W12.
15. Sharma A, Sharma KL, Gupta A, Yadav A, Kumar A. Gallbladder cancer epidemiology, pathogenesis and molecular genetics: Recent update. *World J Gastroenterol.* 2017;23(22):3978-3998.
16. Niu ZS, Niu XJ, Wang M. Management of hepatocellular carcinoma: Predictive value of immunohistochemical markers for postoperative survival. *World J Hepatol.* 2015;7(1):7-27.
17. Jiang YH, Cheng B, Ge MH, Zhang G. The prognostic significance of p63 and Ki-67 expression in myoepithelial carcinoma. *Head Neck Oncol.* 2012;4:9-15.
18. Shu GS, Lv F, Yang ZL, Miao XY. Immunohistochemical study of PUMA, c-Myb and p53 expression in the benign and malignant lesions of gallbladder and their clinicopathological significances. *Int J Clin Oncol.* 2013;18(4):641-650.
19. Katabi N, Pillarisetty VG, DeMatteo R, Klimstra DS. Choledochal cysts: a clinicopathologic study of 36 cases with emphasis on the morphologic and the immunohistochemical features of premalignant and malignant alterations. *Hum Pathol.* 2014;45(10):2107-2114.
20. Wee A, Teh M, Raju GC. Clinical importance of p53 protein in gall bladder carcinoma and its precursor lesions. *J Clin Pathol.* 1994;47(5):453-456.

21. Itoi T, Watanabe H, Ajioka Y, et al. APC, K-ras codon 12 mutations and p53 gene expression in carcinoma and adenoma of the gall-bladder suggest two genetic pathways in gall-bladder carcinogenesis. *Pathol Int.* 1996;46(5):333-340.
22. Nabatame N, Shirai Y, Nishimura A, et al. High risk of gallbladder carcinoma in elderly patients with segmental adenomyomatosis of the gallbladder. *J Exp Clin Cancer Res.* 2004;23(4):593-598.