T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

PAPİLLER BENZERİ NÜKLEER ÖZELLİKLER GÖSTEREN NONİNVAZİV FOLİKÜLER TİROİD NEOPLAZMI, KLASİK VARYANT PAPİLLER TİROİD KARSİNOMU VE FOLİKÜLER VARYANT PAPİLLER TİROİD KARSİNOMUNUN SİTOLOJİ MATERYALİNDE AYRIMINDA MOLEKÜLER TESTLERİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ARZU ERDOĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYLAR POYRAZ

ANKARA
AĞUSTOS 2021

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

PAPİLLER BENZERİ NÜKLEER ÖZELLİKLER GÖSTEREN NONİNVAZİV FOLİKÜLER TİROİD TÜMÖRÜ, KLASİK VARYANT PAPİLLER TİROİD KARSİNOMU VE FOLİKÜLER VARYANT PAPİLLER TİROİD KARSİNOMUNUN SİTOLOJİ MATERYALİNDE AYRIMINDA MOLEKÜLER TESTLERİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ARZU ERDOĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYLAR POYRAZ

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2020-36 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
AĞUSTOS 2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan, en başta tez danışmanım Prof. Dr. Aylar Poyraz'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr.Gülen Akyol, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Nalan Akyürek, Prof. Dr. Özlem Erdem, Prof. Dr. İpek Işık Gönül, Doç. Dr. Güldal Esendağlı, Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün, Doç. Dr. Özgür Ekinci, Öğr. Gör. Betül Öğüt ve Öğr. Gör. Mehmet Arda İnan'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık dönemim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Asistanlık sürem boyunca desteklerini esirgemeyen aileme en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Arzu Erdoğan

Ankara, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR……I

KABUL VE ONAY……..II

İÇİNDEKİLER……III

ŞEKİLLER……..VI

RESİMLER…….....VII

TABLOLAR…...……...….VII

GRAFİKLER……...IX

KISALTMALAR……..…….....X

1. GİRİŞ……...……1

2. GENEL BİLGİLER……..……...5

2.1. Tiroidin Embriyolojisi ve Anatomisi…….…….….5

2.2. Tiroidin Histolojisi……..……..8

2.3. Tiroid Tümörleri …….……...10

2.3.1. Tanım ve Sınıflama……...……10

2.3.2. Epidemiyoloji……..…….…..…..…...11

2.4. Folikül Epitel Hücresinden Köken Alan Tiroid Tümörleri……..…….……..12

2.4.1. Foliküler adenom……12

2.4.2. Hyalinize Trabeküler Tümör……..13

2.4.3. Enkapsüle Foliküler Patern Oluşturan Diğer Tümörler…….…….15

2.4.3.1. Malignite potansiyeli belirsiz tümörler……...15

2.4.3.2. Papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv folliküler tiroid neoplazmı…….……16

2.4.4. Papiller Tiroid Karsinomu……..23

2.4.4.1. Foliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinomu…….26

2.4.5. Foliküler Tiroid Karsinomu. …….27

2.4.6. Hürthle Hücreli Tümörler.. ……28

2.4.7. Az Diferansiye Tiroid Karsinomu.. ……...…30

2.4.8. Anaplastik Tiroid Karsinomu. ……...31

2.5. Tiroid Sitolojilerini Raporlamada Kullanılan Bethesda Sistemi.....32

2.5.1. Nondiagnostik/Yetersiz……..……...…....35

2.5.2. Benign Sitoloji.. ……...……..…….…...37

2.5.3. Önemi belirsiz atipi/Önemi belirsiz foliküler lezyon…….38

2.5.4. Foliküler Neoplazi/ Foliküler Neoplazi Şüphesi……....39

2.5.5. Foliküler Neoplazi, Hürthle Hücreli Neoplazi/ Hürthle Hücreli Neoplazi Şüphesi.. ……..……...…..41

2.5.6. Malignite Şüphesi. ……..…....…...42

2.5.7. Malign Sitoloji. ……..……....…....44

2.6. ATA kılavuzu.. ……..……..……...45

2.7. RAS ve BRAF.. …….……..47

2.7.1. RAS. ……..……....47

2.7.2. BRAF……..……...…….…....48

3. GEREÇ VE YÖNTEM……..……50

3.1 Olguların Seçilmesi, Verilerin Toplanması ve İncelenen Parametreler. ……50

3.2 Olguların Tanımlanması……..……..……50

3.3 Morfolojik Parametreler…….51

3.4 Metod…….51

3.5 DNA İzolasyonu ve Presipitasyonu……..……...52

3.6 DNA miktarının UV spektrofotometre ile belirlenmesi……...53

3.7 *Polymerase Chain Reaction*-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi ve Sonuçlarının Değerlendirilmesi …….53

3.8 İstatistiksel Analiz……53

3.9 Etik Kurul Onayı.. …….….54

4 BULGULAR……...55

4.1 Hastaların Demografik, Klinik Özellikleri ve Görüntüleme Bulguları……...…….55

4.2 Olgularda Tümör Yerleşimi ve Histopatolojik Özellikler……56

4.3 PCR Bulguları. ……67

4.4 Olgularda Tedavi, Nüks, Metastaz ve Sağkalım Durumu……70

5 TARTIŞMA……..……...……...……72

6 SONUÇLAR..……...……...……...87

7 KAYNAKLAR.....……...……..90

8 ÖZET……...…….……....…….103

9 SUMMARY……...……...……105

ŞEKİLLER

Şekil 1: Tiroidin anatomisi…….……..7

Şekil 2: Papiller nükleer özellikler……...……..19

Şekil 3: Kapsüler invazyon kriterleri ……....20

Şekil 4: Vasküler invazyon kriterleri ……21

Şekil 5: RAS ve RAF molekülleri ile ilişkili sinyalizasyon yolakları…….49

RESİMLER

Resim 1: Sitoloji materyalinde MŞ tanısı alan iri nukleusların ve üst üste düşüşlerin izlendiği FVPTK. …….59

Resim 2: Sitoloji materyalinde PTK tanısı alan FVPTK……...60

Resim 3: Aspirasyonda FN tanısı alan FVPTK…..……...…60

Resim 4: Aspirasyonda FN tanısı alan FVPTK ……..…..61

Resim 5: Aspirasyonda FN tanısı alan NIFTP……..…….61

Resim 6: Aspirasyonda AUS/FLUS tanısı alan NIFTP……..……...62

Resim 7: Aspirasyonda MŞ tanısı alan NIFTP....……..62

Resim 8**:** Aspirasyonda PTK tanısı alan NIFTP....……63

Resim 9: Makrofoliküler patern oluşturan NIFTP..……..……63

Resim 10: Aspirasyonda PTK tanısı alan foliküler patern baskın KVPTK……..64

Resim 11: %1'den az oranda papiller yapı içeren foliküler patern baskın KVPTK

…….……..…….65

Resim 12: FVPTK olgusunda invazyon alanı……...…….65

TABLOLAR

Tablo 1: 2017 DSÖ Tiroid tümörleri sınıflaması……..……...11

Tablo 2: 2017 DSÖ sınıflamasına göre enkapsüle foliküler patern oluşturan diğer tümörler…….……16

Tablo 3: 2017 Bethesda sistemi malignite riski…….34

Tablo 4: 2009 ve 2017 Bethesda sistemleri malignite riskleri……...34

Tablo 5: 2009 ve 2017 Bethesda sistemleri önerilen tedavi yöntemleri……35

Tablo 6: Olguların demografik özellikleri…….55

Tablo 7: USG bulguları…….…….……56

Tablo 8: Olgularda tümör yerleşim yeri…….……57

Tablo 9: Tümör çapı…….……...……58

Tablo 10: Olguların sitoloji tanıları…….……..58

Tablo 11: BRAF ve NRAS mutasyonu durumu ile histolojik tümör tipinin karşılaştırması……67

Tablo 12: KRAS mutasyonu durumu ile histolojik tümör tipinin karşılaştırması.67

Tablo 13: BRAF mutasyonu durumu ile sitoloji sonucunun karşılaştırması…….68

Tablo 14: NRAS mutasyonu durumu ile sitoloji sonucunun karşılaştırması…….68

Tablo 15: KRAS mutasyonu durumu ile sitoloji sonucunun karşılaştırması…….69

Tablo 16: Olgularda tedavi, nüks, metastaz, sağkalım durumu…….71

GRAFİKLER

Grafik 1: NIFTP, FVPTK ve KVPTK olgularında tümör tipi ile genel sağkalım arasındaki ilişki.……71

KISALTMALAR

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

FVPTK: Folliküler varyant papiller tiroid karsinomu

NIFTP: Papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv folliküler tiroid neoplazmı

RAİ: Radyoaktif iyot tedavisi

AUS/FLUS: Önemi belirsiz atipi / Önemi belirsiz foliküler lezyon

FN/FNŞ: Foliküler neoplazi / foliküler neoplazi şüphesi

MŞ: Malignite şüphesi

ATA: American Thyroid Association

PTK: Papiller tiroid karsinomu

FTK: Foliküler tiroid karsinomu

KVPTK: Klasik varyant papiller tiroid karsinomu

FA: Foliküler adenom

MTK: Medüller tiroid karsinomu

HHT: Hürtle hücreli tümör

Kİ: Kapsüler invazyon

Vİ: Vasküler invazyon

HHA: Hürthle hücreli adenom

HHK: Hürthle hücreli karsinom

ADTK: Az diferansiye tiroid karsinomu

ATK: Anaplastik tiroid karsinomu

HHN/HHNŞ: Foliküler Neoplazi, Hürthle Hücreli Neoplazi/ Hürthle Hücreli Neoplazi Şüphesi

GEC*: Gene expression classifier*

PPD: Pozitif prediktif değer

NPD: Negatif prediktif değer

NGS: Yeni nesil sekanslama

MAPK: Mitojen-activated protein kinase

PI3K/AKT: Phosphoinositidyl-3-kinase

GAPs: GTPaz-activating proteins

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

NG: Nodüler guatr

KLL: Kronik lenfositik tiroidit

1. GİRİŞ

Tiroid nodülleri klinikte sık karşılaşılan endokrin hastalıklardan olup görüntüleme tekniklerinin gelişmesi ve kullanımının artmasıyla tanı sıklığının arttığı gözlemlenmiştir. Nodül tanısında anamnez, fizik muayene, laboratuvar, görüntüleme teknikleri ve bunların sonucunda gerekli görülürse ince iğne aspirasyon yöntemi kullanılır (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Literatürde tiroid nodüllerinde malignite oranı %5-10 olarak bildirilmiştir (9). Bu nedenle preoperatif tanıda benign ve malign nodüllerin ayırt edilmesi önemlidir.

Ultrasonografik görüntüleme malignite yönünden bazı ipuçları verebilir. Solid nodül, hipoekojenite, mikrokalsifikasyon, düzensiz sınır, genişliğinden daha uzun bir nodül olması, çevre yumuşak doku içerisine uzanan kalsifikasyon, artmış intranodüler kan akışı ultrasonografik olarak malignite açısından yüksek derecede kuşkulu bulgulardır (1, 9). Nodül 1 cm ve üzerindeyse ve yüksek derecede kuşkulu bulgular içeriyorsa ince iğne aspirasyon yöntemi uygulanmalıdır (1). Tiroid nodüllerinin preoperatif tanısında ultrason eşliğinde ince iğne aspirasyonu ilk histopatolojik tanısal yaklaşım olup en güvenilir ve uygun maliyetli yöntemdir (1, 2, 3, 4).

Tiroid aspirasyon sitolojilerini raporlamada tüm dünyada kabul görmüş ve *American Thyroid Association* (ATA) tarafından onaylanmış olan Bethesda sistemi kullanılmaktadır. Tiroid sitolojilerini raporlamada kullanılan Bethesda sistemi 2009 yılında yayımlanmış, 2016 yılında papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv follikülер tiroid neoplazmı (NIFTP) tanımının Dünya Sağlık

Örgütü'nün (DSÖ) sınıflamasına girmesiyle 2017 yılında revize edilmiştir. Bethesda sisteminde malignite riskini gösteren 6 adet kategori bulunur ve her kategoriye yönelik bir tedavi önerilir. 2017 yılında yapılan revizyonda kategorilerde değişiklik olmamış, ancak papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv folliküler tiroid neoplazmı tanımının getirilmesi nedeniyle her kategorinin gösterdiği malignite risk oranları değişmiştir (10, 11). Ayrıca Önemi belirsiz atipi/Önemi belirsiz foliküler lezyon (AUS/FLUS), foliküler neoplazi/foliküler neoplazi şüphesi (FN/FNŞ) ve malignite şüphesi (MŞ) kategorilerine moleküler testler ve AUS/FLUS kategorisine tanısal lobektomi gerekebileceği önerisi getirilmiştir (1, 11, 12).

Enkapsüle noninvaziv folliküler varyant papiller tiroid karsinomu tanısı alan hastaların uzun süreli takiplerini içeren çalışmalar, noninvaziv formun invazyon gösterenlere göre daha iyi prognozlu olduğunu desteklediğinden 2017 yılında, DSÖ tarafından güncellenen tiroid tümörleri sınıflamasında papiller karsinom kategorisinden çıkarılarak kapsüllü folliküler patternde tiroid tümörleri kategorisine alınmış ve papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv folliküler tiroid neoplazmı olarak yeniden isimlendirilmiştir. Yeni isimlendirme ile "karsinom" kelimesinden kaçınılarak total tiroidektomi, postoperatif radyoaktif iyot tedavisi (RAİ) gibi aşırı tedavilerin önüne geçilmesi amaçlanmıştır (8, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19). NIFTP tanımı ATA tarafından da kabul edilmiş ve tanı kriterleri ve tedavi yöntemleri ATA'nın önerileri arasına girmiştir (1).

Bethesda sınıflamasında yer alan AUS/FLUS, FN/FNŞ, MŞ kategorileri belirsiz kategoriler olarak tanımlanır. Tiroid ince iğne aspirasyon yönteminde

sitolojik değerlendirme yaklaşık %20-25 oranında belirsiz olarak sonuçlanır (20, 21, 22). Belirsiz kategoride yer alan ve biyopsi tanısı NIFTP olarak doğrulanan olgularla sitolojik olarak aynı kategoride yer alan invazyon gösteren foliküler varyant papiller karsinom olgularının prognozlarının ve cerrahi yaklaşımın farklı olduğu bilinmektedir (1, 8, 13, 23, 24, 26). İnfiltratif büyüme gösteren FVPTK'lerde önemli oranda lenf nodu metastazı, rekürrens ve yüksek oranda BRAFV600E mutasyonu saptanmıştır. Buna karşın NIFTP olgularının yüksek oranda RAS ve PAX8/PPARgama mutasyonlarını barındırdığı, ancak genellikle yüksek riskli histopatolojik özelliklerle ilişkili olan BRAFV600E mutasyonu içermediği gösterilmiştir (8, 11, 13, 21, 22, 23).

Bethesda sisteminde belirsiz kategorilerde yer alan olgularda sitolojik değerlendirmenin tanısal doğruluğunu artırmak için son zamanlarda bazı moleküler testler geliştirilmiştir (1, 2, 8, 20, 25). *American Thyroid Association* (ATA)'ın 2015'te yayımladığı kılavuzda 7 adet genden oluşan moleküler panelin belirsiz kategorilerde yer alan tiroid ince iğne aspirasyonlarına uygulanması önerilmektedir (1, 25). Takiplerde NIFTP'in cerrahi sonrası nüks etmediği ve metastaz yapmadığı saptandığından lobektomi tedavide tek başına yeterlidir (1, 13, 23, 24, 26). Bu nedenle ameliyat öncesi doğru tanıya ulaşmada moleküler belirteçler önem kazanmaktadır.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 2010-2020 yılları arasındaki rezeksiyon materyalleri yeniden değerlendirilerek NIFTP/FVPTK tanısı alan olguların mevcut sitolojik materyallerinde ATA kılavuzunda önerilen panelde bulunan BRAF, KRAS ve

NRAS testleri tanı doğruluğunu artırmak ve aşırı tedavileri önlemek amacıyla uygulanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Tiroidin Embriyoloji ve Anatomisi

Tiroid, embriyoda dilin foramen çekumuna uyan alanda orta hatta oluşmaya başlar. Buradan orta hat boyunca hyoid kemik anteriorunda bulunan tiroglossal duktusun komponenti olarak erişkindeki normal yerleşim yeri olan boyun ortasına kadar iner. Tiroid tomurcuğu, bu sırada laterale genişleyerek sağ ve sol lobu oluşturur. Tiroglossal duktus zamanla oblitere olur ve kaybolur, normal bireylerin %40'ında ise piramidal lob olarak kalabilir (27, 28).

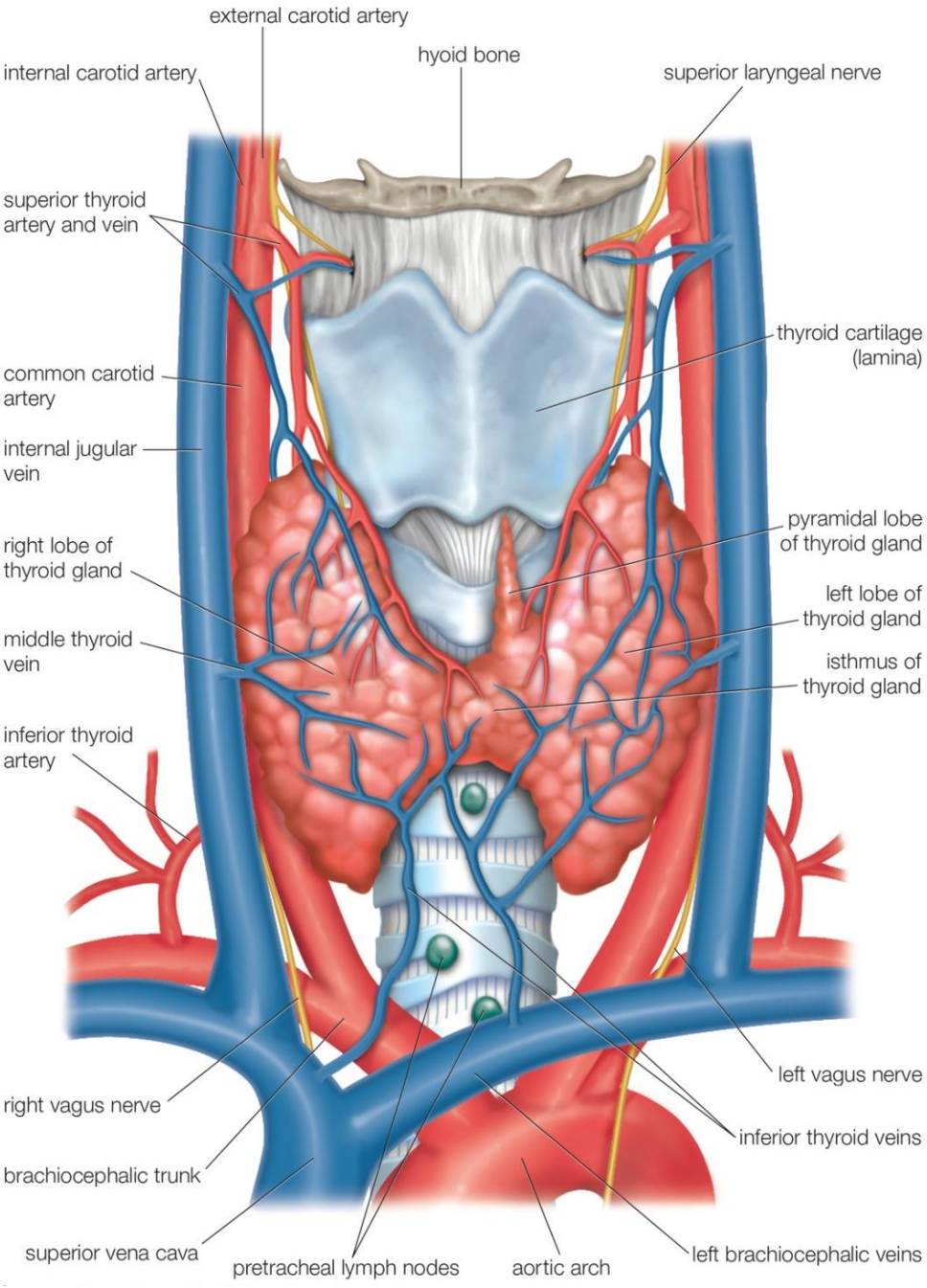
Mikroskobik olarak 9. haftada tiroid folikülleri tabakalar ve kordlar şeklinde oluşmaya başlar, 10. haftada ise lümenleri görülür hale gelir. 14. haftada foliküller iyi gelişmiştir ve lümenlerinde tiroglobulin pozitif kolloid görülür (27, 28).

Normal erişkin bir bireyde tiroid glandı trakeanın hemen önünde, krikoid kıkırdağın alt kısmında bulunur. İstmusla birbirine bağlanan sağ ve sol loblardan oluşur. Her bir lob (5-6)x(2-3)x(1,5-2) cm, istmus yaklaşık 1x1 cm boyutlarındadır. Total ağırlık 15-25 gram olup bireyler arasında cins, yaş, vücut ağırlığı, hormonal durum, iyot alımına göre önemli değişiklikler görülebilir. Çocuklarda daha küçük olup yaş ilerledikçe normal erişkin boyutuna ulaşır. Kadınlarda menstrüel siklusun sekretuvar fazında tiroid hacminin arttığı bilinmektedir (27, 28).

Tiroidin kanlanmasını primer olarak subklavyan arterin tiroservikal trunkusunun bir dalı olan inferior tiroid arter ve eksternal karotis arterin dalı olan

superior tiroid arter sağlar. İnferior tiroid arterden köken alan, boyutu bireyler arasında değişkenlik gösteren median tiroid arter de görülebilir. Superior, medial ve inferior tiroid venleri tiroid kapsülündeki venöz pleksus aracılığıyla internal jugüler ve brakiosefalik venlere drene olur. Tiroid glandı zengin bir lenfatik kapiller ağa sahiptir. Lenf damarları subkapsüler alanda toplanır ve takiben 5 ana lenf nodu bölgesine drene olur:

- Perikapsüler
- İnternal juguler
- Pretrakeal (Delphian node), paratrakeal, prelaringeal
- Rekürren laringeal sinir
- Retrofaringeal, retroözefageal (27, 28).



Şekil 1: Tiroidin anatomisi (29)

2.2 Tiroid Histolojisi

Tiroid glandı inkomplet fibröz bir kapsül ile çevrilidir. Bu kapsül tiroid parankimine uzanan çok sayıda fibröz septa ile devamlılık gösterir. Tiroidin temel birimi ortalama 200 μm çapında yuvarlak-oval görünümde folikül yapılarıdır. Foliküller aktivite derecesine göre basıktan alçak kolumnara kadar şekilleri değişebilen tek tabaka folikül epitel hücrelerinden oluşur. Sitoplazmaları aktivite derecelerine göre açık asidofilikten amfofiliğe kadar değişebilir. Yoğun granüler asidofilik sitoplazması olan folikül epitel hücreleri Hürthle hücresi, Askanazy hücresi, oksifil hücre ya da onkosit olarak adlandırılırlar. Bu görünüme sitoplazmalarındaki mitokondri kümelenmeleri neden olur (27, 28).

Folikül epitel hücrelerinin aktiviteleri yaşa bağlı olarak değişkenlik gösterir. Prenatal grupta en yüksek iken erişkinlerde en düşüktür (27, 28).

Ultrastrüktürel olarak folikül epitel hücrelerinin sitoplazmalarında yoğun granüler endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş Golgi aparatı, lizozomlar ve luminal yüzeylerinde çok sayıda mikrovillus bulunur (27, 28).

Foliküllerin ortasında kolloid bulunur. Kolloid, düşük aktivite varsa eozinofilik görünürken yüksek aktivite varlığında bazofilik görünür ve folikül epitel hücresi ve kolloid arasında rezorpsiyon vakuolleri oluşur. Yaşın ilerlemesiyle globüler formasyon bozulma eğilimindedir ve içeriğindeki karbonhidrat miktarıyla ilişkili olarak PAS pozitifliği gösterir. Ayrıca kolloid içerisinde fonksiyonal olarak inaktif olduğunu düşündüren kalsiyum oksalat

kristalleri görülebilir ve bu kristallerin miktarı yaşın ilerlemesiyle birlikte artar (27, 28).

İmmünhistokimyasal olarak folikül epitel hücrelerinde birçok belirteç değişken oranda eksprese edilmektedir. Tiroglobulin en spesifik belirteçtir. Ayrıca TTF-1, TTF-2, LMWK, Vimentin, PAX-8, TSH reseptörü, TPO, östrojen ve progesteron reseptörleri pozitiftir. Keratinlerden Keratin 7 ve Keratin 18 ile güçlü pozitiflik görülürken Keratin 8 ve Keratin 19 ile daha zayıf boyanma mevcuttur. Ancak papiller ve foliküler tiroid karsinomu ile Hashimoto tiroiditinde Keratin 7, 8, 18 ve 19 ile benzer oranlarda boyanma görülmektedir (27, 28).

Diğer bir majör epitelyal komponent C hücreleri ya da parafoliküler hücreler denilen nöroendokrin hücrelerdir. Ancak "parafoliküler" yanlış bir isimlendirmedir, çünkü ultrastrüktürel olarak bu hücrelerin intrafoliküler olarak yerleştiği gösterilmiştir. C hücreleri tiroid glandının %1'den azını oluşturur. Embriyogenezde ultimobranşial cisimlerin birleştiği yere uyan sağ ve sol lobun lateralinde orta-üst 1/3 kısımda en çok bulunurlar. İnfantlarda ve yaşlı bireylerde erişkinlere göre daha fazla sayıdadırlar. Yaşlı bireylerde nodüler agregatlar oluşturabilirler. Hematoksilen-Eozin ile net olarak seçilemezler. Sitoplazma açık-hafif granüler; nukleus daha büyük ve daha ince granüler görünümdedir (27, 28).

Ultrastrüktürel olarak C hücreleri çok sayıda nörosekretuvar granül içerir. Bu granüller immünhistokimyasal olarak kalsitonin, katakalsin, kalsitonin gen ilişkili peptid, nöron spesifik enolaz, kromogranin A ve B, sekretogranin 2, sinaptofizin ile pozitiftir, ayrıca karsinoembriyonik antijen ile de tümörlerinden daha az olacak şekilde pozitiflik gösterir (27, 28).

Tiroidde normal olarak görülebilen diğer bir hücre grubu ise interfoliküler alanda bulunan solid hücre adalarıdır. Ultimobranşial cisimciklerin kalıntısı olduğu düşünülür. Ortalama 0,1 mm çaptadırlar. Yenidoğanların yaklaşık %90'ında bulunurlar. Poligonal-oval şekillidirler, bazen şeffaf hücreler şeklinde görülebilirler. İnce granüler kromatinleri vardır, nukleolleri yoktur. Bazılarında nükleer çentik görülebilir. Nadiren tümör benzeri büyük kitleler oluşturabilirler. İmmünhistokimyasal olarak yüksek moleküler ağırlıklı keratin, p63, galektin-3, CEA ile pozitiflik gösterirler. Metaplastik foliküller, C hücre hiperplazisi ve papiller mikrokarsinomdan ayırt edilmeleri gerekir (27, 28).

Tiroidin stromasında ise bağ dokusu yanısıra az oranda fokal lenfosit kümeleri, yağ ve kas dokusu, yaşla artan distrofik kalsifikasyon odakları görülebilir. Ayrıca embriyogenezdeki komşulukları nedeniyle tiroid içinde paratiroid ve timus dokusu, heterotopik kıkırdak doku bulunabilir (27, 28).

2.3 Tiroid tümörleri

2.3.1 Tanım ve Sınıflama

Tiroid tümörleri temel olarak folikül epitel hücresinden köken alan tümörler, parafoliküler hücrelerden köken alan tümörler, ektopik timüs dokusundan kaynaklanan tümörler, yumuşak doku tümörleri, hematolenfoid tümörler, germ hücreli tümörler ve metastazlar olarak ayrılır (30).

Folikül epitel hücresinden köken alan tümörler ise temel olarak nukleus ve sitoplazma özellikleri, kapsül olup olmadığı, kapsüler/vasküler invazyon varlığına

göre sınıflandırılırlar (30). Bu tümörler iyi diferansiye karsinomlar (papiller tiroid karsinomu, foliküler tiroid karsinomu, Hürthle hücreli karsinom), az diferansiye karsinom ve anaplastik (andiferansiye) karsinom olarak üçe ayrılır (21).

WHO classification of tumours of the thyroid gland (2017)

Follicular adenoma	8330/0	**Paraganglioma and mesenchymal/stromal tumours**	
Hyalinizing trabecular tumour	8336/1*	Paraganglioma	8693/3
Other encapsulated follicular-patterned thyroid tumours		Peripheral nerve sheath tumours (PNSTs)	
Follicular tumour of uncertain malignant potential	8335/1*	Schwannoma	9560/0
Well-differentiated tumour of uncertain malignant potential	8348/1*	Malignant PNST	9540/3
Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features	8349/1*	Benign vascular tumours	
Papillary thyroid carcinoma (PTC)		Haemangioma	9120/0
Papillary carcinoma	8260/3	Cavernous haemangioma	9121/0
Follicular variant of PTC	8340/3	Lymphangioma	9170/0
Encapsulated variant of PTC	8343/3	Angiosarcoma	9120/3
Papillary microcarcinoma	8341/3	Smooth muscle tumours	
Columnar cell variant of PTC	8344/3	Leiomyoma	8890/0
Oncocytic variant of PTC	8342/3	Leiomyosarcoma	8890/3
Follicular thyroid carcinoma (FTC), NOS	8330/3	Solitary fibrous tumour	8815/1
FTC, minimally invasive	8335/3	**Hematolymphoid tumours**	
FTC, encapsulated angioinvasive	8339/3	Langerhans cell histiocytosis	9751/3
FTC, widely invasive	8330/3	Rosai-Dorfman disease	
Hürthle (oncocytic) cell tumours		Follicular dendritic cell sarcoma	9758/3
Hürthle cell adenoma	8290/0	Primary thyroid lymphoma	
Hürthle cell carcinoma	8290/3	**Germ cell tumours**	
Poorly differentiated thyroid carcinoma	8337/3	Benign teratoma	9080/0
Anaplastic thyroid carcinoma	8020/3	Immature teratoma	9080/1
Squamous cell carcinoma	8070/3	Malignant teratoma	9080/3
Medullary thyroid carcinoma	8345/3	**Secondary tumours**	
Mixed medullary and follicular thyroid carcinoma	8346/3		
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3		
Sclerosing mucoepidermoid carcinoma with eosinophilia	8430/3	The first four digits indicate the specific histological term; the fifth digit after the slash (/) is the behavior code, including /0 for benign tumours, /1 for unspecified, borderline, or uncertain behavior, /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia, and /3 for malignant tumours	
Mucinous carcinoma	8480/3		
Ectopic thymoma	8580/3		
Spindle epithelial tumour with thymus-like differentiation	8588/3		
Intrathyroid thymic carcinoma	8589/3	* These new codes were approved by the IARC/WHO Committee for ICD-O	

Tablo 1: 2017 DSÖ Tiroid tümörleri sınıflaması

2.3.2 Epidemiyoloji

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin malignite olup A.B.D'de yeni tanı alan kanserlerin %2,9'unu oluşturmaktadır. Kadınlarda erkeklerin yaklaşık 3 katı daha sık görülür (71). 2018'de dünyadaki tiroid karsinom insidansının 3.1-10.2/100.000 olduğu tahmin edilmektedir. 2020 yılında Türkiye'de en sık görülen kanserler arasında 5. sıradadır (31). Foliküler hücre kökenli tiroid karsinomlarının %80-85'ini papiller tiroid karsinomu (PTK), %10-15'ini foliküler tiroid karsinomu (FTK), %2'sinden azını az diferansiye tiroid karsinomu, %2'sinden

azını andiferansiye tiroid karsinomu oluşturmaktadır. PTK'ların en sık görülen alttipi klasik varyant PTK (KVPTK), ikinci sık görüleni ise FVPTK'dir. FVPTK'nin tüm PTK'lerin %15-20'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir (30, 32, 33). Tiroid kanserinin prognozu çok iyi olup 5 yıllık sürvi %98,3'tür (71).

2.4 Folikül Epitel Hücresinden Köken Alan Tiroid Tümörleri

2.4.1 Foliküler Adenom

Foliküler adenom (FA), tiroidin benign, enkapsüle, noninvaziv bir tümörüdür. En sık 5. ve 6. dekatta ve kadınlarda görülmektedir. Hiperplastik nodülden ayrımı moleküler analizlerle yapılabildiği için epidemiyolojisi net olarak bilinmemekle birlikte otopsi serilerinden alınan verilere göre sıklığının %3-5 olduğu tahmin edilmektedir. Radyasyon maruziyeti ve iyot eksikliği bilinen risk faktörleridir (30).

Makroskopik olarak genellikle soliter, yuvarlak-oval, kapsüllü nodül görünümündedir. Histopatolojik incelemede, ince ya da orta kalınlıkta fibröz bir kapsülle çevrelendiği görülür. Kapsüler ve vasküler invazyon göstermezler. Tümör hücreleri küboidal ya da poligonal görünümdedir. Hiperfonksiyone adenomlarda uzun hücreler görülür. Nukleus bazalde lokalize olup yuvarlak ve düzgün sınırlıdır, uniform kromatin dağılımı gösterir. PTK'nin nükleer özellikleri görülmez. Normofoliküler, makrofoliküler, mikrofoliküler, solid ve trabeküler patern oluşturabilir. Hiperfonksiyone adenom, papiller hiperplazi gösteren FA,

lipoadenom, bizar nukleusları olan FA, taşlı yüzük hücreli FA, şeffaf hücreli FA, iğsi hücreli FA, siyah FA varyantları vardır.

Sitoloji materyali genellikle sellüler olup az oranda kolloid içerir ya da kolloid görülmez. Folikül epitel hücreleri sıklıkla mikrofoliküler paternde düşüş gösterir. Makrofoliküler adenomun sitolojisinde tek tabaka folikül epitel hücrelerinin ortasında bol miktarda kolloid görülür. Hiperplastik nodülde de benzer görünüm mevcuttur. FA ve FTK ayrımı sitoloji materyalinde yapılamaz. Kesin ayrım histopatolojik olarak tümör kapsülü tümüyle incelendikten sonra vasküler ve kapsüler invazyon dışlanarak yapılabilir (30).

FA'ların yarısında klonal sitogenetik aberasyonlar oluşmaktadır (68, 69). %30'unda RAS mutasyonları görülmektedir. %8'inde PAX8/PPARgama rearanjmanı bulunmuştur. İzole olgularda BRAFK601E mutasyonu bildirilmiştir. Hiperfonksiyone adenomlarda TSHR ve GNAS mutasyonu izlenir. PIK3CA ve PTEN mutasyonları yaklaşık %5'inde görülür (30).

2.4.2 Hyalinize Trabeküler Tümör

Hyalinize trabeküler tümör (HTT), kadınlarda daha sık görülmekte olup ortalama görülme yaşı 50'dir. Etyolojik olarak radyasyon maruziyeti bildirilse de bilinen bir risk faktörü yoktur (30).

Makroskopik olarak genellikle iyi sınırlı ya da enkapsüle, yuvarlak-oval solid tümör şeklindedir. Histopatolojik incelemede invazyon göstermeyen iyi sınırlı solid tümör görülür. Tümör geniş trabeküler ve daha az oranda küçük

adalardan oluşur. Tümör hücreleri geniş-orta büyüklükte olup poligonal ya da elonge görülürler. Nukleus veziküler, yuvarlak olup çentiklenme ve membran düzensizliği gösterebilir, vakuoller içerebilir. Trabeküller içinde diastaza dirençli PAS boyası ile pozitif boyanan yoğun hyalin amorföz eozinofilik materyal bulunur. Olguların yarısına yakınında trabeküllerin içinde ya da stromada psammom cismi şeklinde de görülebilen kalsiyum depozitleri izlenir (30, 61).

Sitoloji materyalinde PTK ve MTK'nin morfoloik özelliklerini gösterebildiği için bu şekilde tanı alabilirler. Ancak sıklıkla belirsiz kategorilerde sınıflanır. Nükleer çentiklenmeler, psödoinklüzyonlar, sınır düzensizlikleri görülür. Hyalin ya da amiloid benzeri materyal ve hyalin bir kordan dışa doğru sinsityal-trabeküler paternde dizilen geniş sitoplazmalı hücrelerin varlığı, papiller yapı görülmemesi tanısal ipucu olabilir (30, 61).

HTT tanımlandığından beri moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. RET/PTC1 rearanjmanlarının %29-63 oranlarında görülmesi nedeniyle PTK ile arasında biyolojik bir ilişki olduğu düşünülmektedir (62-66). Ancak RAS ya da BRAF mutasyonu görülmemektedir (63, 64). MikroRNA profili de PTK ve HTT arasındaki ilişkiyi desteklememektedir (65). Nikiforova ve ark. çalışmasında HTT'de PAX8-GLIS3 füzyon varlığını göstermiştir (67).

2.4.3 Enkapsüle Foliküler Patern Oluşturan Diğer Tümörler

Nükleer özelliklerinin papiller karsinom olup olmadığı konusunda kesin bir karar verilemeyen tümörler ile kapsüler ya da vasküler invazyon varlığından emin olunamayan tümörler ve NIFTP bu kategoride yer almaktadır (30).

2.4.3.1 Malignite potansiyeli belirsiz tümörler

Kapsüler ya da vasküler invazyonu belirsiz olan tümörler malignite potansiyeli belirsiz tümörler kategorisinde yer almaktadır. Malignite potansiyeli belirsiz foliküler tümör (FT-UMP) ve malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör (WDT-UMP) olmak üzere iki tipi vardır. WDT-UMP iyi gelişmiş ya da parsiyel olarak papiller nükleer özellikler gösterirken FT-UMP'ta bu özellikler görülmez. WDT-UMP ve FT-UMP'un tümüyle örneklenmesi gerekir (30).

WDT-UMP'un sitoloji materyalinde nükleer irileşme ve az sayıda çentiklenme görülebilir, ancak genellikle psödoinklüzyon görülmez. Sitolojik olarak sıklıkla belirsiz kategoride tanı alır. FT-UMP ise foliküler neoplazmların sitolojik özelliklerini gösterir (30).

Moleküler olarak RAS mutasyonu içermeleri, BRAFV600E mutasyonu göstermemeleri nedeniyle foliküler neoplazmlara benzerlik gösterirler. WDT-UMP'larda yaklaşık %10 oranında RET/PTC1 rearanjmanları bulunur. MikroRNA profilleri benign foliküler nodüller ve papiller karsinom arasında özellikler gösterir (30).

Tablo 2: 2017 DSÖ sınıflamasına göre enkapsüle foliküler patern oluşturan diğer tümörler

		Kapsüler invazyon		
		var	**belirsiz**	**yok**
Papiller nükleer özellikler	**var**	İnvaziv enkapsüle FVPTK	WDT-UMP	NIFTP
	belirsiz	İyi diferansiye karsinom, NOS		
	yok	FTK	FT-UMP	FA

2.4.3.2 Papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv folliküler tiroid neoplazmı

NIFTP, foliküler patern oluşturan, PTK'nin nükleer özelliklerini gösteren folikül epitel hücrelerinin oluşturduğu oldukça düşük malignite potansiyeline sahip noninvaziv bir neoplazmdır (30).

DSÖ'nün sınıflamasına ilk defa 2017'de dahil edilen NIFTP, bu sınıflamadan önce noninvaziv enkapsüle foliküler varyant papiller karsinom ya da malignite potansiyeli bilinmeyen iyi diferansiye tümör kategorisinde yer almaktaydı. Bu tanımlamaya göre Avrupa ülkeleri ve Kuzey Amerika'da sıklığının tüm tiroid kanserleri içinde %10-20 olduğu tahmin edilmektedir (30). Nikiforov ve ark., dört Amerikan ve İtalyan kurumundan alınan verilere göre NIFTP'in PTK'lerin % 18.6'sını oluşturduğunu bildirmiştir (13). Benzer oranlar (%15-28) ABD, Güney Amerika ve Avrupa'dan da bildirilmiştir (34, 35, 36).

Asya'da Kuzey Amerika ve Avrupa'ya göre daha az oranda görülür (7). Geniş bir yaş aralığında görülmekle birlikte sıklığı 4-6.dekat arasında en fazladır (30). NIFTP tanımının gelmesi ile, potansiyel olarak dünya çapında her yıl 30 binden fazla hastayı bir tiroid kanseri tanısının klinik ve psikolojik sonuçlarından kurtarılabilir (7).

NIFTP klinik olarak ağrısız, asemptomatik, mobil tiroid nodülü şeklinde görülür. Çok büyük tümörlerde komşu yapılara lokal bası sonucu ilişkili şikayetler ortaya çıkabilir. Hastalar sıklıkla ötiroiddir. USG'de klinik bulgularla paralel olarak solid, iyi sınırlı, homojen, sıklıkla hipoekoik kitle şeklinde izlenir.
Makroskopik olarak soliter, iyi sınırlı, ince ya da orta kalınlıkta kapsülü olan nodül şeklinde görülür. Kesit yüzü içerdiği kolloid miktarına göre kirli beyaz-kahverengi renkte olabilir (30).

NIFTP tanısı için mikroskobik olarak nodülün kapsüllü ya da iyi sınırlı olması, kapsüler ya da vasküler invazyon göstermemesi, foliküler patern oluşturması, papiller karsinomun nükleer özelliklerini içermesi gerekir. Kapsül genellikle incedir, ancak parsiyel olarak görülebilir. Solid, trabeküler ya da insüler patern varsa tümörün %30'undan azını oluşturmalıdır. Mitoz sayısı 3/10BBA altında olmalıdır. Psammom cisimleri izlenmez. Gelişim paterni mikro-, normo-, makrofoliküler olabilmekle birlikte sıklıkla bu paternlerin karışımı şeklinde görülür. Genellikle kolloid içerir. Basit papiller yapılanmalar görülebilir, ancak bu papiller yapıların fibrovasküler korları yoktur. (39). Kapsüler ya da lenfovasküler invazyonu dışlamak için tümör kapsülüyle birlikte tamamen örneklenmelidir. Ayrıca papiller yapı, anormal patern, mitoz ve nekroz olmadığını göstermek için

nodülden santrali de içerecek şekilde çok sayıda örnek almak gereklidir. Bu nedenle tüm folliküler tiroid lezyonlarında olduğu gibi makroskopik örnekleme son derece önemlidir. (7, 13, 30, 37, 38). Kapsüler ve vasküler invazyon kriterleri Şekil 3 ve Şekil 4'te anlatılmıştır.

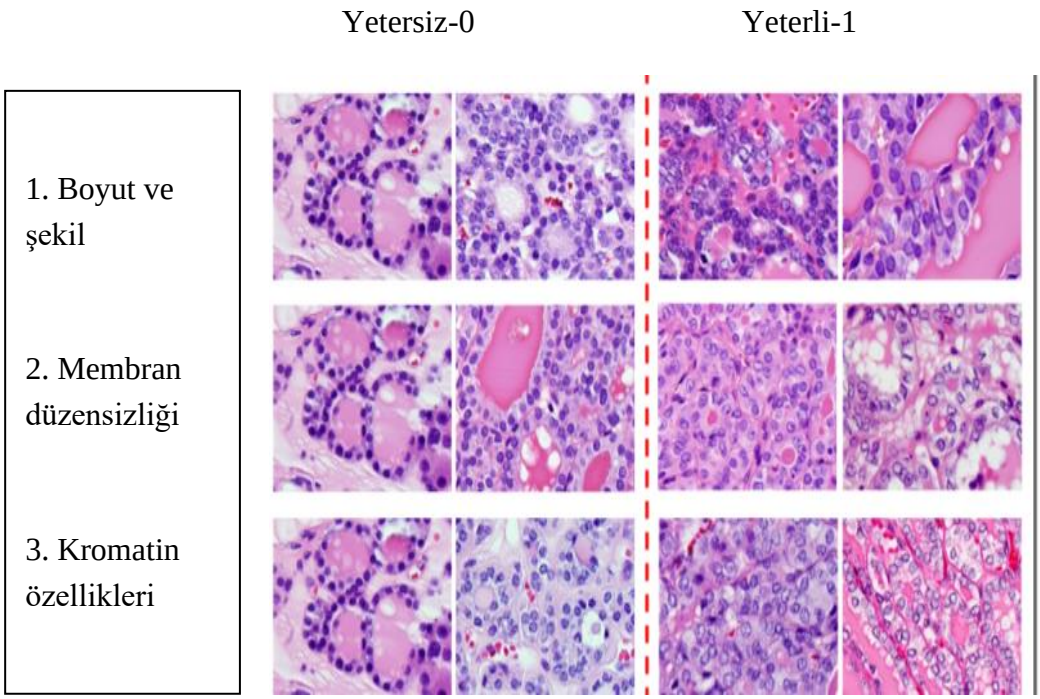
NIFTP tanısında aranan kriterlerden nükleer özellikler temel olarak 3 kategoriye ayrılır (13, 30):

- Grade 1: Boyut ve şekil (büyüme, üst üste düşme, kalabalıklaşma, uzama)
- Grade 2: Membran düzensizliği (düzensiz sınırlar, nükleer çentiklenmeler, katlanmalar, psödoinklüzyonlar)
- Grade 3: Kromatin özellikleri (nükleer şeffaflanma, buzlu cam görünümü)

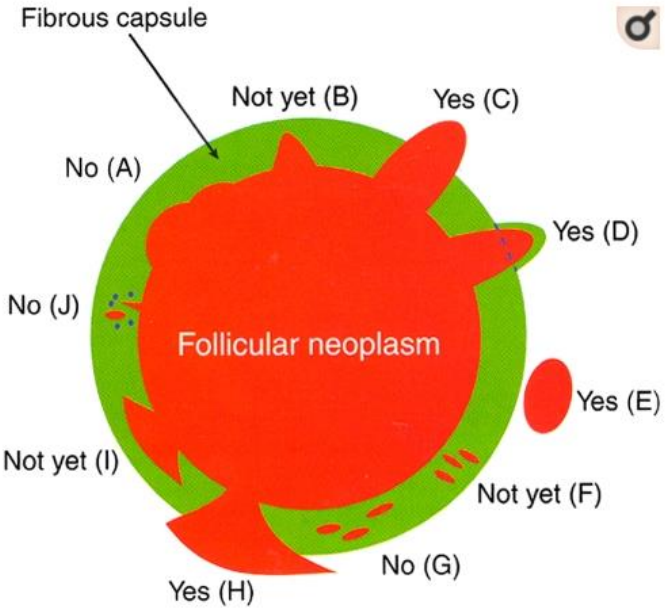
NIFTP tanısında temel olarak nodülün grade 2 ve/veya grade 3 nükleer özellikleri göstermesi gerekir. Nükleer özellikler nodülde fokal, yamasal ya da diffüz olarak görülebilir (30).

Nikiforov ve ark. nın 2016'da yayımladıkları makalede tanı kriterlerinden biri olan papiller yapı oranının %1'den az olması kriteri daha sonra yapılan çalışmalarda papiller yapı bulunduran tümörlerde BRAFV600E mutasyonu sıklığı ve lenf nodu metastazı riskinin arttığının tespit edilmesi nedeniyle 2018 yılında Nikiforov ve ark. tarafından NIFTP tanı kriterlerini revize edilerek hiç papiller yapı görülmemesi şeklinde değiştirilmiştir (13, 39, 40, 41, 42). Ayrıca moleküler ya da immünhistokimyasal olarak BRAFV600E mutasyonu ve RET/PTC füzyonları gibi KVPTK'nin içerdiği mutasyonların ya da TERT mutasyonu gibi yüksek riskli mutasyonların tespiti halinde invaziv özelliklerin ve papiller yapı

varlığının katı kurallarla araştırılması önerilmiştir. BRAFV600E, TERT, TP53 mutasyonunun olmamasının NIFTP tanısı koymaya yardımcı olabileceği ancak tanı için gerekli olmadığı eklenmiştir (39).



Şekil 2: Papiller nükleer özellikler (13)



Şekil 3: Kapsüler invazyon (Kİ) kriterleri (70).

A. Tümör kapsül iç yüzünü hafif itiyor (Kİ yok).

B. Tümör kapsül içine keskin giriş gösteriyor, ancak kapsülü tam kat aşmıyor. Derin kesit yapılması önerilir (Kİ yok).

C. Tümör kapsülü tam kat aşmış ve çevre dokuya invazyon gösteriyor (Kİ var).

D. Tümör kapsülü tam kat aşmış ve çevresinde ince fibröz bağ doku reaksiyonu oluşturmuş (Kİ var).

E. Kapsülün dışında ana tümörle benzer özelliklerde satellit tümör nodülü (Kİ var).

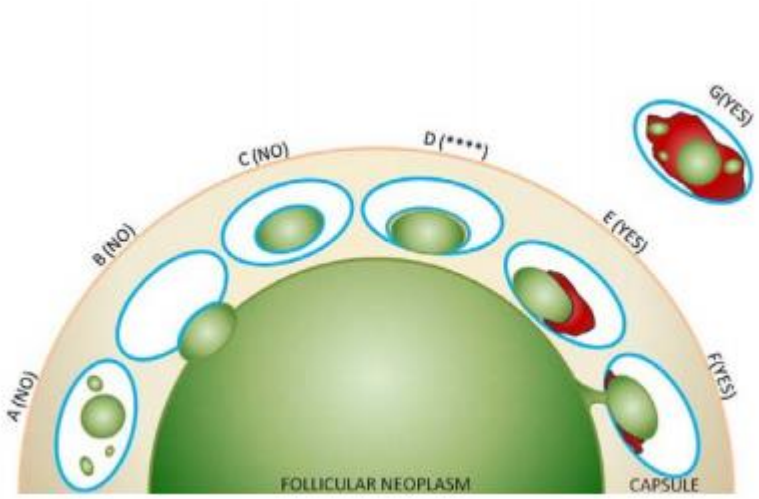
F. Kapsül içinde kapsül eksenine dik uzanan foliküller. Derin kesit yapılması önerilir (Kİ yok).

G. Kapsül içinde kapsül eksenine paralel uzanan foliküller (Kİ yok).

H. Tümör kapsül mantar şeklinde iterek aşıyor (Kİ var).

İ. Tümör kapsülü mantar şeklinde itiyor, ancak tam kat aşmıyor. Derin kesit yapılması önerilir (Kİ yok).

J. Kapsül içinde lenfositler ve siderofajların eşlik ettiği dejenerasyon gösteren foliküller kapsüler invazyonu değil önceki ince iğne aspirasyonuyla ilişkili kapsüler rüptürü temsil eder.



Şekil 4: Vasküler invazyon (Vİ) tümörün damar duvarına penetrasyonu ve damar duvarının buna reaksiyonu olan trombüs gelişimi şeklinde görülür (70).

A. Kapsül içindeki damar lümeni içinde serbest yüzen tümör fragmanları (Vİ yok). Artefaktuel yer değiştirme sonucu oluşmuş.
B. Tümörün damar duvarını itmesi (Vİ yok).
C. Kapsül içindeki damar lümeni içinde serbest yüzen endotelle çevrili tümör (Vİ yok). Tümörün damarı itmesinin tanjansiyel kesiti olabileceği gibi E, F ve G'ye ait bir kesit de olabilir.
D. Yaygın olarak görülen bu durum uzmanlar arasında tartışmalara yol açıyor. Endotelle çevrili tümör depoziti damar duvarına yapışık olarak izleniyor, trombüs formasyonu görülmediği için teknik olarak Vİ denmeyebilir. Ancak bazı otörler endotelle çevrili olmasının organize tümör trombüsünü temsil ettiğini düşünüyor. Derin kesitler tanıda yardımcı olabilir.
E. Tümör damar duvarına bitişik ve trombüs formasyonu oluşturmuş (Vİ var).
F. Tümör damar duvarına penetre ve trombüs formasyonu oluşturmuş (Vİ var).
G. Organize bir trombüs ile içiçe geçmiş tümör fragmanları damar duvarına yapışık olarak görülüyor (Vİ var).

NIFTP'in aspirasyon materyalinde mikrofoliküler paternde düşüş gösteren değişken oranda papiller nükleer özellikler içeren folikül epitel hücreleri görülür. Nükleer irileşme, kalabalıklaşma, membran düzensizliği ve şeffaflanma izlenir (43-49). Değişken oranda kolloid izlenebilir (30). Papiller yapı ve psammom cismi görülmesi NIFTP tanısını ekarte ettirir (11, 44, 46, 49, 50). NIFTP'in nükleer özellikleri KVPTK'ye göre daha sakindir. Ayrıca psödoinklüzyonlar nadirdir (11, 45-47, 50). Sitolojide NIFTP/KVPTK ayrımı yapılabilirken NIFTP/FVPTK ayrımını yapmak mümkün değildir (43). Kesin tanı için tümörün kapsülüyle birlikte tamamen örneklenerek histopatolojik olarak incelenmesi gereklidir (13, 43).

Büyük serilerde yapılan sitolojik değerlendirmelerde NIFTP'in %14-61'i AUS/FLUS, %8-56'sı FN / FNŞ, %4-49'u MŞ tanıları ile Bethesda sınıflamasına göre belirsiz kategoride tanı almıştır. Ayrıca %0-18 oranında malign tanı aldığı görülmektedir (44-48, 50-55).

NIFTP, diğer foliküler paternde tiroid tümörleri ile ortak moleküler özellikler taşımaktadır. Yüksek oranda RAS mutasyonu, daha az olarak PPARG ve THADA gen füzyonları içermektedir. BRAFK601E mutasyonu görülebilir, ancak BRAFV600E mutasyonu ve RET füzyonu yoktur (1, 11, 13, 21-23, 25, 30, 39, 46, 56, 57, 58) Ayrıca PTK'den farklı mikroRNA profili içerirler (59). RAS mutasyonunun FVPTK'ye benzer oranlarda görülmesi nedeniyle FVPTK'nin öncül lezyonu olduğu düşünülmektedir (39).

NIFTP, tamamen çıkarılırsa rezeksiyondan sonraki 15 yıl içinde nüksetme riski %1'den azdır. Tedavide lobektomi tek başına yeterlidir. Total tiroidektomi ya da RAI gereksizdir (1, 13, 60).

2.4.4 Papiller Tiroid Karsinomu

Papiller tiroid karsinomu tiroidin en sık görülen malign tümörüdür. Hastaların büyük çoğunluğu 20-74 yaş arasında tanı alır. Kadınlarda erkeklerin 3 katı oranda görülür. Etyolojisinde en iyi bilinen etken iyonize radyasyon maruziyetidir. Diğer etkenler arasında ise reprodüktif faktörler, obezite, diabet, sigara, alkol, diyette nitrat ve aşırı iyot alımı yer almaktadır (30).

Klinikte genellikle tiroidde asemptomatik kitle şeklinde semptom oluşturur. Hastaların %20'sinde ses kısıklığı ve disfaji görülür. USG'de düzensiz sınırlı, hipoekoik ya da izoekoik, uzunluğu genişliğinden büyük, düzensiz internal vaskülarite gösteren, mikrokalsifikasyon içeren nodül şeklindedir (30).

Makroskopik olarak düzensiz sınırlı, sert kıvamda olup kesit yüzü granüler beyaz renktedir. Kalsifikasyon görülebilir. Histopatolojik olarak papiller yapı ve nükleer değişiklikler, PTK'nin klasik varyantının temel morfolojik özellikleridir. Papiller yapı neoplastik epitelle çevrili fibrovasküler kordan oluşur. Nükleer değişiklikler boyut ve şekil, membran düzensizliği ve kromatin değişiklikleri olmak üzere 3 kategoride incelenir. Ayrıca yuvarlak konsantrik laminasyon gösteren kalsifikasyonlarla karakterli psammom cisimleri görülür. Psammom cisimleri sıktır ve olguların %50'sinde bulunur, baskın olarak papiller patern

oluşturan tümörlerde görülür (30, 80). Olguların %20'sinden yüksek oranda multifokal tümör ve %25'inde damar invazyonu izlenir. Yayılım lenfatikler aracılığıyla olur (80). Wreesmann ve ark. nın çalışmasında PTK'lerin sadece %6,7'sinde büyük damar invazyonu görülmüştür (81).

PTK'nin mikrokarsinom, enkapsüle, foliküler, kistik, diffüz sklerozan, *tall* hücreli, kolumnar hücreli, kribriform-moruler, hobnail, solid-trabeküler, onkositik, iğsi hücreli, şeffaf hücreli, whartin benzeri varyantları bulunmaktadır. Tall hücreli, kolumnar hücreli, solid, hobnail, diffüz sklerozan varyantları kötü prognozludur.

Klasik PTK'nin sitoloji materyalinde papiller yapı oluşturan, ya da tek tabaka düşüş gösteren irileşmiş, *molding* yapan, oval, düzensiz sınırlı, açık renkte kromatin paterni olan folikül epitel hücreleri görülür. Folikül epitel hücrelerinde longitudinal nükleer çentiklenmeler, nükleer kalabalıklaşma ve üst üste düşüşler, intranükleer sitoplazmik psödoinklüzyonlar izlenir. Psammom cisimleri görülebilir (11). Olguların %17'sinde görülen sellüler girdaplar benign nodülden ayrımını sağlar (72). Sıvı bazlı sitoloji ile konvansiyonel yayma arasında minör farklılıklar mevcuttur. Sıvı bazlı sitolojide katlanmış nukleus, eozinofilik nukleol, perinükleer halo, kollajenöz stroma, çıplak kapillerler ve intersellüler boşluklar izlenir. Sıvı bazlı sitolojide açık kromatin paterni, papiller düşüş ve doku fragmanları konvansiyonel yaymaya göre daha az görülmektedir (11).

Sitoloji materyalinde KVPTK dışındaki PTK varyantları da PTK'nin nükleer özelliklerini gösterirler. Kistik varyantta tümör hücreleri histiositoid görünümde olup yaymalarda yoğun olarak hemosiderin yüklü makrofaj görülür.

Onkositik varyantta onkositik hücreler baskındır. Whartin benzeri varyantta papiller yapı etrafında dizilmiş ve dağınık duran onkositik tümör hücreleri yanısıra lenfoplazmositik zemin izlenir. *Tall* hücreli varyantta yoğun granüler geniş sitoplazmalı elonge tümör hücreleri görülür. *Tall* hücreli varyantta KVPTK'den farklı olarak kromatin daha az tozlu, daha granüler bir görünüme sahiptir. Nukleol daha belirgin olabilir ve santralde yerleşimlidir. Mitoz görülebilir. Psammom cisimleri daha azdır. Psödoinklüzyonlar daha çoktur ve tek bir nukleus içinde sabun köpüğü görünümüne yol açan çok sayıda inklüzyon izlenebilir. Kolumnar hücreli varyantta sekretuar faz endometriumuna ya da kolon adenomuna benzer hiperkromatik, oval, psödostratifiye nukleuslu kolumnar hücreler görülür. Tümör hücreleri tipik olarak papiller dizilim gösterir, ancak trabekül ve folikül de oluşturabilir. PTK varyantlarında tanı için PTK'nin nükleer özellikleri mutlaka görülmelidir. Genellikle ince iğne aspirasyon sitolojisinde PTK varyantlarını ayırtetmeye gerek yoktur. Ancak bu lezyonların sitolojik özelliklerini bilmek hatalı tanıyı önlemeye yardımcı olacaktır (11).

Moleküler olarak PTK'de yaklaşık %70 oranında BRAF ve RAS protoonkogenlerinde nokta mutasyonları ve RET rearanjmanı izlenir. BRAF mutasyonları en yaygın genetik değişiklik olup BRAFV600E mutasyonu malignite açısından oldukça spesifiktir (75, 77, 80, 84). Tall hücreli ve hobnail varyantında yüksek oranda BRAFV600E mutasyonu görülür (80). Ayrıca mutasyonlardan sonraki genetik olaylar PTK'nın çok sayıda farklı varyantına yol açabilir (76). Onkojenik füzyonlar radyasyon maruziyeti sonucu meydana gelen PTK'lerde daha yaygındır (83). PTK'de sürücü mutasyonlar ve füzyonlardan

bağımsız olarak TERT mutasyonları da görülebilir (80). Ayrıca hiçbir mutasyon bulunamayan PTK'lerin %5'inde THADA geni ile IGF2BP3 genleri arasında füzyonlar tanımlanmıştır (152).

2.4.4.1 Foliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinomu

FVPTK, değişken derecelerde PTK'nin nükleer özelliklerini gösteren, küçük-orta boyutlu folikül epitel hücrelerinin oluşturduğu tamamen foliküler paternden oluşan varyanttır. İnfiltratif ve enkapsüle invaziv olmak üzere 2 gruba ayrılır. İnfiltratif patern lenf nodu metastazı, rekürrens riski ve BRAFV600E mutasyonu ile ilişkilidir (1, 73). Enkapsüle invaziv FVPTK, tamamı kapsülle çevrili, PTK'nin nükleer özelliklerini gösteren foliküler patern oluşturan folikül epitel hücrelerinden meydana gelir. Papiller yapı içermez. Enkapsüle FVPTK'ler sıklıkla RAS mutasyonu içerirler ve biyolojik ve klinik olarak da foliküler adenom ve karsinoma benzerlik gösterirler (73). BRAFK601E mutasyonu PTK'lerden karakteristik olarak FVPTK'de görülür, ayrıca adenom gibi benign tiroid lezyonlarında ve NIFTP'te de görülebilir (78, 79).

FVPTK'nin papiller tiroid karsinomu kategorisinde olması gerektiğini destekleyen bazı hipotezler mevcuttur. Bunlar:

- Bu tümörlere eşlik eden KVPTK odakları bulunması
- Servikal lenf nodu metastazı yapması
- Lenf nodu metazlarının klasik papiller görünümde olması
- Foliküler karsinomdaki keratinleri değil, KVPTK'deki keratinleri eksprese

etmesidir (30).

FVPTK'nın ince iğne aspirasyon sitolojisi 2 farklı gruba ait özellikler göstermektedir. Olguların %30-40'ını oluşturan ilk grup PTK'nin nükleer özelliklerini yaygın olarak gösterdiği için malign olarak rahatlıkla tanınır. Ancak bu grubun KVPTK'den ayrımı sitolojik olarak yapılamaz. NIFTP ve enkapsüle invaziv FVPTK olgularını temsil eden ikinci grupta hafif nükleer irileşme ve elongasyon, açık kromatin, kalın nükleer membranlar görülür. Psödoinklüzyon ve nükleer çentiklenmeler görülmez (11). İkinci gruba ait sitoloji örnekleri %25-35 oranında PTK şüphesi, %25-30 oranında FN/FNŞ, %10-20 oranında AUS/FLUS tanısı almıştır (34, 35, 46, 48, 74). ATA, 2015'te yayımladığı rehberde NIFTP ve FVPTK ayrımını sağlamaya yardımcı olacak moleküler yöntemlerin sitoloji materyaline uygulanmasını önermektedir (1).

2.4.5 Foliküler Tiroid Karsinomu

FTK, folikül epitel hücrelerinden köken alan, papiller nükleer özellikler göstermeyen, genellikle kapsüllü, invaziv tümördür. Etyolojisinde yetersiz iyot alımı en önemli etken olarak düşünülmektedir. İyonize radyasyon maruziyeti de risk faktörleri arasındadır (30).

FTK makroskopik olarak foliküler adenoma benzer. Genellikle tümör kapsülü FTK'de adenomdan daha kalın görülmektedir. Kapsülde kalsifikasyon görülebilir. Histopatolojik incelemede sitolojik ve yapısal özellikleri foliküler adenoma benzer özellikler gösterir. FTK, invazyon derecesi ve biçimine göre 3'e ayrılır:

1. Minimal invaziv
2. Enkapsüle anjioinvaziv
3. Yaygın invaziv

Kapsüler ve vasküler invazyon kriterleri Şekil 3 ve 4'te anlatılmıştır. FTK'de PTK'den farklı olarak lenfatik invazyon değil gerçek damar invazyonu beklenir. Lenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı saptanması durumunda FVPTK tanısına yönlenilmelidir (30).

İnce iğne aspirasyon sitolojisinde FTK, FA'ya benzer özellikler göstermektedir. Ayrım sadece tümör eksize edildikten sonra kapsülün tamamının histopatolojik incelenmesiyle yapılabilir (80).

FTK'de görülen primer moleküler değişiklikler RAS mutasyonları ve PAX8/PPARgama rearanjmanlarıdır. RAS mutasyonu FTK'lerin %40-50'sinde, FA'ların %20-40'ında görülür. PAX8/PPARgama rearanjmanları ise FTK'lerin %30-40'ında, FA'ların %2-13'ünde izlenmektedir (84). Ayrıca DERL-COX6C ve CREB3L2-PPARc füzyonları da görülebilmektedir (85). PTK'ye benzer şekilde TERT promoter musyonları da görülebilir. FTK'lerin %65'inde kromozomal instabiliteler izlenmektedir. Liu ve ark. nın çalışmasında FTK'lerin %5'inde RAS *protein activator like 1* (RASAL1) mutasyonu izlenmiştir (86).

2.4.6 Hürthle Hücreli Tümörler

Hürthle hücreli tümörlerin (HHT) FTK varyantı olduğu düşünülmekteydi. Ancak HTT'nin patogenezi ve klinik davranışı FTK'den farklı olduğundan 2017

DSÖ sınıflaması ve 2015 ATA kılavuzunda farklı bir kategoriye alınmıştır (1, 30).

Hürthle hücresi onkositik, oksifil hücre olarak da bilinir. Geniş granüler sitoplazma, santralde yerleşen iri nukleus ve belirgin nukleole sahiptir. Sitoplazmada çok sayıda anormal büyüklükte mitokondri bulunmaktadır. FTK ve FA tanısında olduğu gibi Hürthle hücreli adenom (HHA) ve Hürthle hücreli karsinom (HHK) ayrımı da kapsüler ve vasküler invazyon durumuna göre yapılır. HHK, FTK gibi vasküler invazyon yoluyla uzak metastaz yapma potansiyeline sahiptir. Ancak FTK'nin aksine lenf nodu metastazı ve yumuşak doku rekürrensleri göstermektedir. HHK, FTK'den farklı olarak RAİ'ye duyarlı değildir (30, 80).

HHK'de derecelendirme yaygın olarak kullanılmaz. Trabeküler ve solid patern, nadir foliküler formasyon ve küçük hücre odakları görülmesi HHK yönünden ipucu olabilir. Tümör, 4 cm'den büyükse, tümör nekroz odakları, çok sayıda mitoz ve küçük hücre odakları içeriyorsa az diferansiye HHK kategorisine alınmalıdır. Az diferansiye HHK'ler daha kötü prognozlu ve RAİ'ye daha dirençlidirler (30).

HHK'lerde PTK ve FTK'lerden farklı olarak elektron transport zincirinde yer alan kompleks 1'de rekürren mitokondrial DNA mutasyonları, yaygın olarak genom üzerinde haploidizasyon ile birçok kromozomda yaygın heterozigosite kaybı göstermektedir (87, 88). RAS mutasyonu ve PAX8/PPARgama rearanjmanları çok daha az oranda görülür (89).

2.4.7 Az Diferansiye Tiroid Karsinomu

Az diferansiye tiroid karsinomu (ADTK) sıklığı coğrafyaya göre değişmekle birlikte tüm tiroid karsinomlarının az bir kısmını oluşturmaktadır. A.B.D'de tüm tiroid karsinomlarının %2-3'ü, Japonya'da %1'den azı, İtalya'da %15'i oranında görülmektedir (91). Prognozu, iyi diferansiye tiroid karsinomları ve anaplastik tiroid karsinomu arasında yer alır. Yüksek oranda lenf nodu metastazı, ekstratiroidal yayılım, uzak metastaz yapar. Turin tanı kriterlerine göre tümör hücrelerinin solid, trabeküler ya da insüler büyüme paterni göstermesi ve PTK'nin nükleer özelliklerini göstermemesine ek olarak kıvrık nukleus, 10 büyük büyütme olanında 3'ten fazla mitoz, tümör nekrozu özelliklerinden en az birini göstermesi durumunda ADTK tanısı koyulur (30, 92, 93).

Sitoloji materyalinde kalabalıklaşmalar gösteren solid, trabeküler ve insüler paternde ya da tek tek düşen yüksek nukleus/sitoplazma oranı gösteren atipik az diferansiye hücreler görülür.

ADTK'de en sık görülen mutasyonlar BRAF ve RAS genindeki mutasyonlardır. BRAFV600E, PTK'de görülenden daha düşük oranda, %27 oranında, izlenmektedir (73, 94). RAS mutasyonu ise daha sık olup %24 oranında görülmektedir. BRAF mutasyonu olan ADTK'lerin lenf nodu metastaz oranı yüksek iken, RAS mutasyonu olan ADTK'lerde uzak metastaz oranı daha yüksek olarak görülmektedir (94, 95). TERT promoter mutasyonları ADTK'de en yaygın genetik değişiklik olup %40 oranında izlenmektedir ve bu mutasyonlar daha agresif davranışla ilişkilidir. ADTK'de ayrıca %16 oranında TP53, %8 oranında ATM mutasyonları görülmektedir. %5 oranında *Switch/ sucrose non-fermentable*

chromatin remodeling complex (SWI/SNF) ve %7 oranında histon metiltransferazlarda değişiklikler ve daha az oranda PI3K/AKT/mTOR yolağı üyelerini kodlayan genlerde mutasyonlar izlenir (94). Diğer nadir görülen mutasyonlar JAK-STAT, WNT, DNA *mismatch repair* (MMR), EGFR, PDGFRA, FLT3, MET, ALK, ABL1, GNAS, HNF1A, RECQL4, IDH1, STK11 ve TSHR'de görülen mutasyonlardır (94-98).

2.4.8 Anaplastik Tiroid Karsinomu

Anaplastik tiroid karsinomu (ATK), andiferansiye folikül epitel hücrelerinin oluşturduğu oldukça agresif tiroid tümörüdür. Mortalite %90'ın üzerindedir. Tüm tiroid tümörlerinin %1-2'sini oluşturmaktadır (99, 100). Hastalar tipik olarak ileri yaşta olup kadınlarda erkeklerin 2 katı oranda görülmektedir (101). Klinikte hızlı büyüyen, sert, fikse, yaygın invaziv kitle izlenir. Ağrı, ses kısıklığı, nefes almada zorluk, disfaji yaygın görülen şikayetlerdendir (30).

Makroskopik olarak iri, infiltratif, hemoraji ve nekroz alanları içeren kitle görünümündedir. Oldukça değişken mikroskopik özellikler gösteren ATK, sarkomatoid, epitelyal ve dev hücreli olarak 3 paternde izlenir. Yaygın nekroz, mitoz ve infiltratif görünüm mevcuttur. Vasküler invazyon sıklıkla vardır. İmmünhistokimyasal olarak TTF-1, tiroglobulin gibi tiroid hücresi belirteçleri negatiftir, ancak PAX8 olguların yarısında pozitiflik gösterir. Keratinler pozitif ya da negatif olabilir. İmmünhistokimyasal olarak metastatik tümörlerin dışlanması gerekmektedir (30).

Sitoloji materyalinde hücresellik az ya da çok olabilir. Ancak belirgin nükleer pleomorfizm nedeniyle malignite kolayca tanınır. İyi diferansiye bir tiroid karsinomunun eşlik etmesi durumunda bu karsinoma ait sitolojik özellikler görülebilir.

TP53 mutasyonu, ATK'deki en sık mutasyon olup %30-70 oranındadır. %20 oranında BRAFV600E, %20 oranında RAS, %10-20 oranında PIK3CA, %10-15 oranında PTEN ve daha az oranda ALK mutasyonları izlenmektedir. Beta katenin genleri, p73, RAF, OEATC1 genlerindeki mutasyonlar de novo ve diferansiye tiroid karsinomlarından gelişen ATK'lerle ilişkili olabilir. Ayrıca EGFR, VEGFR1, PDGFRB, PIK3CA/B genlerinde kopya sayısında artış bulunmuştur. Epigenetik değişiklikler ve mikroRNA değişiklikleri de bildirilmiştir (30).

2.5 Tiroid Sitolojilerini Raporlamada Kullanılan Bethesda Sistemi

Bethesda Raporlama Sistemi, Bethesda'daki Ulusal Sağlık Enstitüsü'nde tiroid uzmanları tarafından Ekim 2007'de resmileştirildi. Kitabının ilk baskısı 2010'da, ikinci baskısı 2018'de yayınlandı. Bethesda Raporlama Sistemi, tüm dünyada tiroid sitolojilerinin anlaşılır bir şekilde ortak bir dille raporlanmasını sağladı (10, 11, 102).

Bethesda sisteminde 6 kategori bulunur ve her kategoriye yönelik bir tedavi önerilir. Her kategorinin öngördüğü bir malignite risk aralığı vardır (1, 10, 11, 102). Nodülü ince iğne aspirasyonuna yönlendirmek için kullanılan klinik ve radyolojik kriterlerin tutarlı olmaması, sitomorfolojik ve histopatolojik yaklaşımın

sübjektifliği gibi pratikte uygulanan farklılıklar nedeniyle kategorilerin malignite riskleri aralık olarak verilmektedir (102).

Enkapsüle noninvaziv FVPTK'nin NIFTP olarak yeniden adlandırılması 2010'da yayımlanan baskıda verilen malignite risklerinin değişmesine neden olmuştur. Kategorilerin malignite riskleri NIFTP'in karsinom olarak kabul edildiği ve edilmediği iki duruma göre hesaplanır (Tablo 3). Ayrıca Önemi belirsiz atipi/Önemi belirsiz foliküler lezyon (AUS/FLUS) ve foliküler neoplazi/foliküler neoplazi şüphesi (FN/FNŞ) kategorilerine moleküler test önerilmiş, AUS/FLUS kategorisine tanısal lobektomi gerekebileceği söylenmiştir (11, 12, 102). Belirli durumlarda, özellikle sitomorfolojik özellikler NIFTP olasılığını gösteriyorsa rapora not ve öneri yazılmasının faydalı olabileceği eklenmiştir (11).

Bethesda sistemindeki kategorilerden AUS/FLUS, FN/FNŞ ve MŞ belirsiz kategoriler olarak tanımlanır. Tiroid nodüllerinin önemli bir kısmı (% 20–25'i) preoperatif olarak uygulanan ince iğne aspirasyonunda belirsiz kategoride yer alır (21, 22). Bu durum tedaviyi yönlendirmede zorluklara neden olur.

Tablo 3: 2017 Bethesda sistemi malignite riski (11, 12)

	Malignite riski (%)	
Tanısal kategori	NIFTP≠karsinom	NIFTP=karsinom
Nondiagnostik	5-10	5-10
Benign	0-3	0-3
AUS/FLUS	6-18	10-30
FN/FNŞ	10-40	25-40
MŞ	45-60	50-75
Malign	94-96	97-99

Tablo 4: 2009 ve 2017 Bethesda sistemleri malignite riskleri (10, 11)

	Bethesda sistemi	
Tanısal kategori	2009 Malignite riski (%)	2017 Malignite riski (%)
Nondiagnostik	5-10	5-10
Benign	0-3	0-3
AUS/FLUS	5-15	10-30
FN/FNŞ	15-30	25-40
MŞ	60-75	50-75
Malign	97-99	97-99

Tablo 5: 2009 ve 2017 Bethesda sistemleri önerilen tedavi yöntemleri (10, 11)

	Bethesda sistemi	
Tanısal kategori	2009 Önerilen tedavi	2017 Önerilen tedavi
Nondiagnostik	USG eşliğinde aspirasyon tekrarı	USG eşliğinde aspirasyon tekrarı
Benign	Klinik takip	Klinik ve sonografik takip
AUS/FLUS	Aspirasyon tekrarı	Aspirasyon tekrarı, moleküler test, lobektomi
FN/FNŞ	Lobektomi	Moleküler test, lobektomi
MŞ	Tama yakın tiroidektomi, lobektomi	Tama yakın tiroidektomi, lobektomi
Malign	Tama yakın tiroidektomi	Tama yakın tiroidektomi

2.5.1 Nondiagnostik/Yetersiz

Yetersiz bir sitolojinin aynı zamanda nondiagnostik olduğu, ancak bazı örneklerin kantitatif olarak yeterli olduğu halde kalitatif olarak yeterli olmadığı gerekçesiyle bazı patologlar tarafından "nondiagnostik" ve "yetersiz" terimleri farklı anlamlarda kullanılmaktaydı. Ancak raporlamada ortak bir dil oluşturma amacıyla 2007'de *National Cancer Institute Thyroid State of the Science* konferansında "nondiagnostik" ve "yetersiz" terimlerinin birbirinin yerine kullanılması önerildi (11, 103).

Yeterlilik kriteri, iyi görülebilen en az 10 hücre içeren en az 6 adet folikül epitel hücre grubu görmektir. Yeterlilik için makrofaj, lenfosit ve diğer malign olmayan hücresel komponentler yeterlilik için hesaplanmaz. Ancak sitolojik atipi, çok sayıda inflamatuar hücre ve bol miktarda kolloid görülmesi durumunda bu kriter gerekli değildir. Bu üç durumda materyal yeterli olarak yorumlanmalıdır. Hücre miktarı açısından yeterli olan ancak hücrelerin özelliklerinin incelenmesine engel olacak derecede kanlı, kötü hazırlanan ve kötü boyanan materyaller yetersiz olarak raporlanmalıdır. Sıvı bazlı yaymalarda da yeterlilik kriterleri benzerdir (11).

Kist içeriği sadece makrofajları içerebilir. Eğer kistin çapı 3 cm'in altındaysa ve basit bir kistse malignite riski düşüktür, ancak kistik PTK dışlanamaz. Yaymalarında sadece kist içeriği bulunan genç hastalarda malignite riski hafif yükselmektedir (11, 104, 105). Kist içeriğinden ibaret sitolojiler, raporlanırken nondiagnostik tanısı verilir ve kist içeriği şeklinde alt kategoriye ayrılır. Nondiagnostik tanı sıklığı laboratuvarlar arasında değişmekte olup %3-34 aralığında bildirilmiştir (11, 106, 107).

Nondiagnostik sitolojilerin malignite riskini öngörmek nodül rezeke edilmediği için zordur. Nondiagnostik tanısı alıp eksize edilen nodüllerde malignite riski %9-32 oranında bildirilmiştir (21). Eksize edilen nodüller, tekrarlayan sitolojilerinde nondiagnostik tanısı alan ya da klinik ve ultrasonografik olarak şüpheli bulunan nodüller olduğu için malignite riskini yükseltmektedir. Eksize edilmeyen nondiagnostik tanısı alan nodüller de hesaplanacak olursa malignite riskinin %5-10 olduğu düşünülmektedir (1). 2015

ATA rehberi, nondiagnostik kategoriye USG eşliğinde aspirasyon tekrarı önermektedir (1).

2.5.2 Benign Sitoloji

Benign sitoloji, tüm tiroid ince iğne aspirasyonlarının en yaygın sonucu olup %60-70 oranında benign tanısı verilmektedir (4, 5). “Benign” terimi “Negatif malignite” ya da “Nonneoplastik” teriminin yerine tercih edilmelidir (11).

Benign sitoloji, tek tabaka halinde ya da bal peteği görünümünde düşüş gösteren benign folikül epitel hücreleri, değişken oranda ince sulu ya da kalın kolloid, Hürthle hücreleri ve makrofajlar içerir. Folikül epitel hücreleri bazen intakt, 3 boyutlu, değişken boyutta sferüller ve doku fragmanları şeklinde de dizilebilir. Sferüller içinde polarite korunmuştur ve nukleuslar eşit aralıklarla dizilir. Benign sitoloji sonucunun en sık nedeni benign foliküler nodüldür. Benign foliküler nodül histolojik olarak nodüler guatr, hiperplastik nodül, kolloidal nodül, Graves hastalığındaki nodüller ve foliküler adenomun nadir görülen alttipi şeklinde görülmektedir. Lenfositik tiroidit, granülomatöz tiroidit, akut tiroidit, Riedel tiroiditi, Graves hastalığı bulguları görülmesi durumunda benign sitoloji tanısı verilmelidir (11).

Benign sitolojilerin sadece %10’u cerrahiye gider, bu nedenle benign kategorinin malignite riskini öngörmek zordur. Çalışmalar benign kategoride malignite riskinin %0-3 olduğunu bildirmiştir (108-112). 2015 ATA rehberi benign kategoride USG’de malignite açısından yüksek derecede kuşkulu bulgular bulunmuyorsa takip ve tedavinin gerekli olmadığını söylemektedir. USG’de

malignite açısından yüksek derecede kuşkulu bulgular varsa 12 ay içinde USG eşliğinde aspirasyon tekrarı önermektedir (1).

2.5.3 Önemi belirsiz atipi/Önemi belirsiz foliküler lezyon

AUS/FLUS tanısı, nükleer ya da yapısal atipi gösteren ancak bu atipinin FN/FNŞ, MŞ ya da malign tanısı vermek için yetersiz kaldığı sitolojilerde koyulur. Sitolojik ve yapısal atipi foliküler, lenfoid ya da herhangi bir hücre kökenli olabilir. Fokal sitolojik atipi, yaygın fakat hafif sitolojik atipi, atipik kist döşeyici hücreler, histiositoid hücreler, yapısal atipi, sitolojik ve yapısal atipi, atipik lenfoid hücreler şeklinde farklı şekillerde ve derecelerde atipi görülebilir. AUS terimi tercih edilmesine rağmen FLUS folikül epitel hücre atipisi olan olguların büyük kısmı için daha uygundur. 2009 Bethesda sisteminde bir laboratuvarın AUS/FLUS tanısı verme oranının yaklaşık %7 olması önerilirken çoğu laboratuvar bu hedefe ulaşmada zorluk yaşadığı için 2017'de bu oran %10'a yükseltilmiştir (10, 11).

AUS/FLUS tanısı alan nodüllerin az bir kısmı eksize edildiği için bu kategorinin malignite riskini belirlemek zorlayıcı olmaktadır. AUS/FLUS tanısı alan nodüller klinik ve ultrasonografik olarak şüpheli ise, aspirasyon tekrarı ve moleküler testler anormal sonuçlandıysa eksize edilmektedir. Bu yüzden eksize edilen olgular üzerinden malignite riski hesaplanması sonucu olduğundan yüksek çıkaracaktır. Eksize edilen ve edilmeyen olgular birlikte düşünülecek olursa malignite riski yaklaşık %10-30 oranında hesaplanmıştır. AUS/FLUS tanısı alan nodüller arasında da malignite riskleri açısından fark izlenmiştir. Sitolojik atipi

nedeniyle AUS/FLUS tanısı alan nodüllerin yapısal atipi nedeniyle AUS/FLUS tanısı alan nodüller göre malignite riskinin daha yüksek, hürthle hücreli AUS/FLUS'ların malignite riskinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (113). 2016'da NIFTP tanımının gelmesiyle AUS/FLUS kategorisinde malignite riskinin % 45 düşeceği öngörülmüştür (34, 35).

2015 ATA rehberi AUS/FLUS kategorisine aspirasyon tekrarı, moleküler yöntem uygulanmasını ya da tanısal lobektomi yapılmasını önermektedir (1).

2.5.4 Foliküler Neoplazi/ Foliküler Neoplazi Şüphesi

FN/FNŞ tanısı alan nodüller, rezeksiyon materyalinde nodüler guatr, foliküler adenom, foliküler karsinom, NIFTP, FVPTK'yi içeren geniş bir spektrumda tanı alırlar. Foliküler neoplazi şüphesi tanısı sitoloji materyali, neoplazm tanısı vermek için yeterli görülmediğinde ancak benign kategoriye de dahil edilemediği durumlarda verilmektedir. Ancak "Foliküler neoplazi" ve "Foliküler neoplazi şüphesi" terimleri iki farklı antite olarak kullanılmamalıdır (11, 118).

FN/FNŞ tanısı folikül epitel hücrelerinin kalabalıklar ya da mikrofoliküller halinde düşüş gösterdiği sellüler sitoloji materyallerinde verilir. Hücreler normal boyutta ya da irileşmiş, görece uniform olup dar ya da orta büyüklükte sitoplazmalara sahiptir. Nukleus yuvarlak ve hafif hiperkromatiktir, belirsiz nukleollere sahiptir. Kolloid yoktur, ya da az miktarda görülür. Sellülarite en az orta derecede olmalıdır. Sellülaritenin az olduğu durumlarda AUS/FLUS tanısı verilmelidir. Hücrelerde PTK'nin nükleer özelliklerinin görülmesi durumunda MŞ

ya da malign tanısı konulmalıdır. Foliküler paternin görüldüğü sitolojide nükleer irileşme, sınır düzensizliği, kromatinde şeffaflaşma gibi hafif nükleer değişiklikler görülüyorsa tanı yine FN/FNŞ olmalıdır. Ancak gerçek papiller yapı ve psödoinklüzyon olmamalıdır. Böyle durumlarda NIFTP olasılığının da akılda tutulması ve rapora yorum yazılması önerilmektedir (11).

Paratatiroid bezinden yapılan aspirasyonlar sıklıkla FN/FNŞ tanısı almaktadır. Kolloid içermeyen kalabalık trabeküller, tuz-biber kromatin görülmesi paratiroid dokusunu ayırt etmede yardımcı olabilir. Bu durumda rapora paratiroid lezyonu olabileceği yönünden not düşülmelidir. Ayrım için moleküler testler de yardımcı yöntem olarak kullanılabilir (11, 119).

FN/FNŞ tanısı alan nodüllerin çoğu eksize edildiği için FN/FNŞ kategorisinde malignite riski kolaylıkla belirlenebilmektedir. Nodüller %65-85 oranında neoplastik iken malignite riski %25-40 oranındadır. Üstelik malignitelerin tamamı foliküler karsinom değildir, eksize edilen nodül %27-68 oranında papiller karsinom tanısı almaktadır (4, 120-122). Bu durumun nedenlerinden biri FVPTK ve NIFTP'te nükleer özelliklerin tümörün tamamında görülmemesidir. Diğer bir neden foliküler karsinom ve FVPTK'nin histolojik tanısında patologlar arasında meydana gelen uyuşmazlıklardır (123).

2015 ATA rehberi FN/FNŞ kategorisine lobektomi ya da klinik ve ultrasonografik bulgularla moleküler yöntem uygulanmasını önermektedir (1).

2.5.5 Foliküler Neoplazi, Hürthle Hücreli Neoplazi/ Hürthle Hücreli Neoplazi Şüphesi

Sitoloji materyalinin hemen hemen tamamı Hürthle hücrelerinden oluşuyorsa Foliküler Neoplazi, Hürthle Hücreli Neoplazi/ Hürthle Hücreli Neoplazi Şüphesi (HHN/HHNŞ) tanısı koyulur. HHN/HHNŞ, Bethesda sisteminde 4. kategori olan FN/FNŞ'nin alt kategorisi olarak yer almaktadır. HHN ve HHNŞ tanıları birbirine eş tanılar olmakla birlikte çoğu laboratuvar tarafından bu kategorinin malignite riskinin düşük olması (%10-40) nedeniyle HHNŞ terimi tercih edilmektedir (11, 16, 124-127).

Sitoloji materyali orta dercede ya da belirgin sellüler olup geniş, granüler sitoplazmalı, büyük santral ya da ekzantrik yerleşimli yuvarlak nukleuslu, belirgin nukleollü hücrelerden oluşmaktadır. PTK'nin nükleer özellikleri görülmez. Ancak Hürthle hücre atipisi bulunmalıdır. Hürthle hücre atipisi büyük hücre diplazisi ve küçük hücre displazisi olarak 2 tipte görülmektedir. Büyük hücre diplazisinde nukleusun en az 2 katı büyüklüğünde sitoplazması olan hücreler bulunur. Küçük hücre diplazisinde hücrelerin sitoplazması daha az olmakla birlikte nukleus/sitoplazma oranı yüksektir. Hücreler baskın olarak dağınık görülmekle birlikte kalabalıklaşmalar ya da sinsityal patern oluşturabilir. Binukleasyon yaygındır. Kolloid yoktur ya da az miktarda görülür. Lenfosit ya da plazma hücresi yoktur. Bazı olgularda anastomozlaşan vasküler yapılar görülebilir. Hürthle hücreleri, lenfositik tiroidit ve multinodüler guatr gibi benign durumlarda da görülebilmektedir. Ayrımda materyalin tamamına yakınının Hürthle hücresinden oluşması, hücrelerin displazi göstermesi, kolloid görülmemesi ya da

az miktarda görülmesi anastomozlaşan vasküler yapıların varlığı yardımcı olabilir (11).

HHN/HHNŞ tanısı alan hastalara tanısal lobektomi uygulanır. Ancak 2015 ATA rehberi HHN/HHNŞ kategorisine lobektomiden önce moleküler yöntem uygulanmasını önermektedir (1).

2.5.6 Malignite Şüphesi

Sitolojik bulgular malignite açısından kuvvetli şüpheli ancak kesin tanı vermek için yeterli değilse MŞ tanısı verilmektedir. MŞ farklı kökenli maligniteleri içerdiği için heterojen bir kategoridir. Sadece Foliküler ve Hürthle hücreli neoplazi şüphesi bu kategoride yer almaz. MŞ tanısı tüm tiroid ince iğne aspirasyonlarının yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır (11, 21, 128-130).

MŞ; PTK şüphesi, MTK şüphesi, lenfoma şüphesi, NOS altkategorilerini içermektedir. PTK şüphesi 4 paternde görülebilmektedir. İlkinde orta derecede ya da hipersellüler materyalde normal görünümde folikül epitel hücreleri arasında nükleer irileşme, şeffaflanma, çentiklenme, sınır düzensizliği ve *molding* gösteren epitel hücreleri görülür. İntranükleer psödoinklüzyonlar yoktur ya da çok az sayıdadır. Psammom cismi ve papiller yapılanma yoktur. İkinci paternde sellülarite az ya da çok olabilir. Hafif-orta derecede nükleer irileşme ve hafif nükleer soluklaşma görülür. Nükleer çentiklenmeler belirgindir. Nükleer sınır düzensizlikleri ve *molding*'ler çok azdır ya da yoktur. İntranükleer psödoinklüzyonlar yoktur ya da çok az sayıdadır. Psammom cismi ve papiller yapılanma yoktur. Üçüncü paternde PTK'nin özelliklerinin çoğu görülür, ancak

materyalin sellülaritesi azdır. Dördüncü paternde hemosiderin yüklü makrofajların varlığı ile karakterli kistik dejenerasyon bulgularının bulunduğu bir zeminde irileşmiş, soluk nukleuslu, yer yer nükleer çentiklenmeler gösteren folikül epitel hücre grupları ve tabakaları izlenir. Yer yer iri nukleuslu, geniş vakuole sitoplazmalı, büyük, atipik, histiositoid hücreler görülür. İntranükleer psödoinklüzyonlar yoktur ya da çok az sayıdadır. Psammom cismi ve papiller yapılanma yoktur (11).

FVPTK, sitoloji materyalinde tanı vermede zorluklara neden olabilmektedir. Folikül epitel hücreleri foliküler patern oluşturur, ancak PTK'nin nükleer özelliklerini de gösterir. Benzer görünüm NIFTP sitolojisinde de yer alır. FVPTK ve NIFTP ayrımını sitoloji materyalinde yapmak mümkün değildir. Kesin tanı için histopatolojik olarak tümörün kapsülüyle birlikte tümüyle incelenmesi gerekmektedir (13, 43).

MTK şüphesinde sellülaritesi az ya da orta derecede olan yaymalarda nonkoheziv, monomorfik, yüksek nükleus/sitoplazma oranına sahip küçük-orta boyutta hücreler görülür. Hücrelerin sınırları belirsizdir. Preparasyonun suboptimal olması durumunda nukleus ekzantrik yerleşimli olup kromatin lekeli görülür. Amiloidle uyumlu amorföz materyal fragmanları bulunabilir. MTK tanısı koymaya yardımcı olan immünhistokimyasal/histokimyasal çalışmalar için materyal yetersizdir (11).

Lenfoma şüphesinde sellüler örneklerde çok sayıda monomorfik küçük-orta büyüklükte lenfoid hücreler bulunur. Tanıyı doğrulamak için yapılması

gereken akım sitometrik ve immünhistokimyasal yöntemler için materyal yetersizdir. Örneğin sellülaritesi az olup atipik lenfoid hücreler içermesi durumunda da lenfoma şüphesi tanısı verilir (11).

MŞ kategorisinin malignite riski NIFTP tanımı gelmeden önce yaklaşık %70'ti. NIFTP tanımının gelmesinden sonra, MŞ kategorisinde malignite riski hesaplanması tartışmalara yol açmıştır. NIFTP'in malign bir hastalık olarak düşünülmemesi durumunda malignite riski %50'ye düşmektedir (13). Ancak NIFTP cerrahi gerektirdiği için malign olduğu düşünülürse malignite riski %70 olmaktadır (13, 34, 35).

2.5.7 Malign Sitoloji

Malign sitoloji; PTK, MTK, az diferansiye karsinom, andiferansiye karsinom, skuamöz hücreli karsinom, mikst özellikler gösteren karsinom, metastaz, non-Hodgkin lenfoma altkategorilerini içermektedir. Malign sitoloji, tüm tiroid sitolojilerinin yaklaşık %5'i olup bu grubun büyük kısmını PTK oluşturmaktadır (1, 11, 21).

Malign kategorinin malignite riski %97-99'dur. Bazı PTK'lerin NIFTP olarak yeniden sınıflandırılması göz önüne alındığında histolojik takipte olguların %94-96'sının PTK olduğu ortaya çıkar. Malign kategoriden NIFTP olgularını elimine etmek amacıyla, foliküler patern oluşturan ve PTK'nin nükleer özelliklerini gösteren ancak intranükleer sitoplazmik psödoinklüzyon ve

psammom cismi içermeyen sitolojilere malign tanısından ziyade MŞ tanısı verilmesi uygun bulunmuştur (11).

2.6 ATA kılavuzu

ATA, tiroid nodülü olan hastaların tedavisine yön verme amacıyla 1996'dan beri kılavuzlar yayımlamaktadır. Bu kılavuzların ana amacı, hastalığa özgü mortalite ve morbidite açısından düşük riskli hastaların çoğunda aşırı tedaviden kaynaklanan zararı en aza indirirken, daha yüksek risk altındaki hastaları uygun şekilde tedavi etmek ve izlemektir (1).

ATA, 2015'te yayımladığı kılavuzda Bethesda sınıflandırmasına göre belirsiz kategoride tanı alan sitoloji materyallerine, klinik ve sonografik özellikler değerlendirildikten sonra, moleküler test sonucu uygulanacak cerrahi tipini değiştirecekse moleküler testlerin uygulanmasını önermektedir (1). İdeal bir mutasyon testinin histopatolojik olarak kanıtlanmış maligniteye benzer pozitif prediktif değere (PPD), ideal bir dışlama testinin benign sitolojik tanıya benzer bir negatif prediktif değere (NPD) sahip olması gerekmektedir (133).

BRAFV600E mutasyon testinin özgünlüğünün yaklaşık %99 olduğu tahmin edilmekle birlikte duyarlılığının malignite varlığını güvenilir bir şekilde ekarte etmek için çok düşük olduğu kabul edilmiştir (134). Bu nedenle panel BRAF, NRAS, HRAS, NRAS nokta mutasyonlarını ve RET/PTC1, RET/PTC3, PAX8/PPARgama rearanjmanlarını saptayacak şekilde genişletilmiştir (116, 117, 135-139). Belirsiz kategoride 7 genden oluşan mutasyon panelinin duyarlılığı

%44-100 aralığında bildirilmiştir (117, 138, 140). Yeni jenerasyon sekanslama (NGS) yönteminde nokta mutasyon, insersiyon/delesyon ve gen rearanjmanlarını içeren daha geniş bir panele bakılmaktadır. Başlangıçta 7 gene PCR ile bakılan testler zamanla NGS ile birleştirilerek çok sayıda gen mutasyonu saptayabilen paneller oluşturulmuştur. Bu panelin sensitivitesi AUS/FLUS ve FN/FNŞ kategorileri için %94, spesifitesi %82, NPV'si %97, PPV'si %66 olarak bildirilmiştir (151).

Belirsiz kategoride yer alan sitolojiler uygulanabilecek diğer bir moleküler yöntem 167 adet genin mRNA ekspresyonunu ölçen *gene expression classifier* (GEC) testidir. GEC'de sonuçlar benign, şüpheli ve nondiagnostik olarak sonuçlanır. Testin NPD'si AUS/FLUS ve FN/FNŞ kategorileri için %94 olarak bildirilmiştir. Ancak belirsiz kategoride spesifitesi %38-50 bulunmuştur. Bu nedenle GEC'in belirsiz kategoride maligniteyi tespit etme gücü güvenilir olmayabilir (140). Ancak daha sonra teste nükleer ve mitokondrial mRNA belirteçleri de eklenmiştir (149). Bu değişiklikle birlikte Geng ve ark. çalışmasında Bethesda III ve IV numaralı kategori için spesifitenin %28'den %42'ye istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını bildirmiştir. FN/FNŞ tanısı olan vakalarda spesifite %86'ya kadar yükselmiştir (150). Mutasyon testini uygulamak için kullanılan tekniklerdeki farklılıkların sonucu ne derecede etkilediği bilinmemektedir. Henüz belirsiz sitoloji vakalarında maligniteyi kesin olarak tespit edebilecek ya da ekarte edebilecek tek bir optimal moleküler test bulunmamaktadır ve klinik faydayı kanıtlayan uzun vadeli verilere ihtiyaç vardır (1).

2.7 RAS ve BRAF

2.7.1 RAS

Kansere neden olan mutasyonların görüldüğü 4 ana gen grubu vardır: büyümeyi sağlayan protonkogenler, büyümeyi inhibe eden tümör supresör genler, programlanmış hücre ölümünü (apoptoz) düzenleyen genler, DNA onarımını sağlayan genler (147).

RAS ve BRAF geninde meydana gelen bir mutasyon protoonkogenik etkiyle kanser gelişimine yol açacaktır. Sinyal ileten bir molekül olan RAS'ın aktifleştirdiği yolaklar olan *mitojen-activated protein kinase* (MAPK) ve *phosphoinositidyl-3-kinase* (PI3K)/AKT yolaklarında meydana gelen moleküler defekt insandaki kanserlerin çoğunda (olasılıkla hepsinde) rol oynamaktadır. Pankreas adenokarsinomları ve kolanjiokarsinomların %90'ı, kolon, endometrium ve tiroid karsinomlarının %50'si, akciğer adenokarsinomları ve myeloid lösemilerin ise %30'unda RAS mutasyonu bulunur (147).

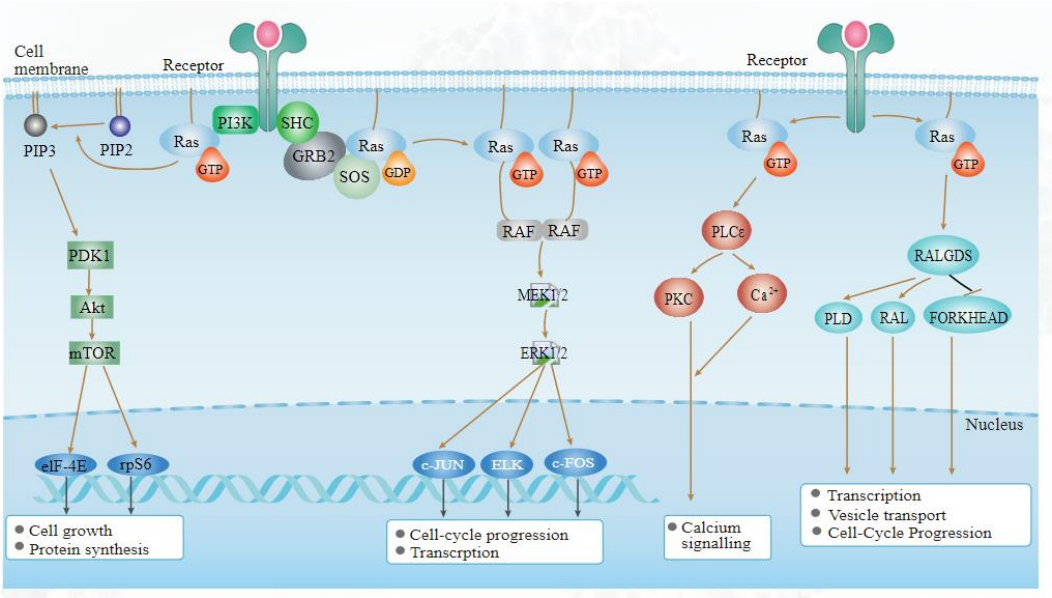
RAS proteinleri guanozin nükleotidleri bağlayan membran ilişkili küçük G proteinleri ailesinin bir üyesidir. Hücre proliferasyonu, apoptoz, göç, farklılaşmayı içeren çeşitli hücresel olaylarda rol alır. İnsanda HRAS, KRAS, NRAS olmak üzere 3 tane RAS geni bulunur. Büyüme faktörleri reseptör tirozin kinazları uyardığında inaktif halde bağlı bulunduğu GDP, GTP'ye dönüşür ve sinyal iletimi başlar. Bu yolla RAS hem MAPK hem de PI3K/AKT yolağını uyarır. Bu kinazlar çok sayıda sitoplazmik efektörü ve traskripsiyon faktörünü fosforile eder ve

aktifleştirir. RAS'ın aktivasyonu geçicidir, çünkü *GTPaz-activating proteins* (GAPs) GTP'yi RAS'tan ayırarak sinyal iletimini sonlandırır (147).

Kanser hücrelerinde GTPaz aktivitesini azaltan çeşitli RAS mutasyonları tanımlandı. Bu mutasyonların sonucunda RAS, aktif hali olan GTP bağlanmış halinde kalır ve hücre devamlı olarak hücre büyümesine yol açan sinyalleri alır. Örneğin; bu yolakta rol alan GAP'i kodlayan NF1 geninde bir mutasyon Familyal Nörofibromatozis 1 hastalığına yol açar (147).

2.7.2 BRAF

RAF ailesinin bir üyesi olan BRAF mutasyonları saçlı hücreli lösemilerin tamamına yakınında, melanomların %60'ından fazlasında, benign nevüslerin %80'inde, diğer neoplazilerin küçük bir kısmında saptanır. BRAF, MAPK ailesinin diğer serin/treonin kinazlar kaskadının başında yer alır. Aktif, GTP bağlı RAS, RAF'ı dimerize eder ve bağlar, böylece RAF'ın dimerizasyonunu ve aktivasyonunu sağlar. Bu olay bir dizi fosforilasyon sonucu transkripsiyon aktivasyonu ve hücre çoğalmasına öncülük eder. RAS mutasyonlarında olduğu gibi BRAF'ı aktive eden mutasyonlar varlığında da kinazlar uyarılır ve transkripsiyon faktörleri aktive olur (147).



Şekil 5: RAS ve RAF molekülleri ile ilişkili sinyalizasyon yolakları (148)

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların Seçilmesi, Verilerin Toplanması ve İncelenen Parametreler

Çalışmamızda, 2010 ile 2020 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda mevcut hastane otomasyon sisteminde tarama yapılarak eksizyon materyalinde FVPTK ve NIFTP tanısı alan 259 olgu sitoloji materyali ile birlikte değerlendirilmiştir. 149 olgu sitoloji materyalinin yetersiz olması ve aspirasyon yapılan nodül ile NIFTP ya da FVPTK histolojik tanısı alan nodülün farklı olması nedeniyle çalışmaya dahil edilmemiştir.

Hastalara ait yaş, cinsiyet, başvuru şikayeti, patoloji raporu, cerrahi şekli, metastaz durumu, hastaların sağkalım durumlarına e-nabız ve hastane otomasyon sisteminden ulaşılmıştır.

Her bir olgunun rezeksiyon ve sitoloji materyalleri, iki gözlemci tarafından ışık mikroskobunda (Olympus Bx50), x40, x100, x200 ve x400 (objektif lensx10xoküler lens) büyütmelerde incelenmiştir.

3.2 Olguların tanımlanması

Olgular tümörün histolojik tipi açısından yeniden değerlendirilmiştir. Otomasyon sisteminde 2016 yılının sonlarına doğru, WHO sınıflamasına girmeden önce makalelerin desteğiyle NIFTP tanısının verilmeye başlandığı görülmüştür. 2010-2016 yılları arasında FVPTK tanısı almış olup kriterleri karşılayan olgular NIFTP olarak yeniden adlandırılmıştır. Rezeksiyon

materyalinde FVPTK, NIFTP ve KVPTK tanısı alan 104 hastaya ait 107 nodülün sitoloji materyali yeniden değerlendirilmiş ve Nikiforov ve ark. nın 2018'de yayımladığı NIFTP tanısını revize eden makalesindeki kriterlere göre sitoloji materyali yeterli olan 31 Adet FVPTK, 64 adet NIFTP ve ayrıca 12 adet KVPTK tanısı alan olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Nikiforov ve ark. nın 2016'da yayımladıkları makaleye göre NIFTP tanısı alan %1'den az papiller yapı içeren 5 tümör KVPTK kategorisine dahil edilmiştir. 2011, 2013 ve 2014'te örneklenen rezeksiyon materyallerinde NIFTP kriterlerini karşılayan 3 nodül tamamı örneklenmediği için gri kategoriye alınmıştır.

3.3 Morfolojik Parametreler

NIFTP ve FVPTK tanısı, 2017 *WHO Classification of Tumours of Endocrine Origins*'te yer alan kriterlere ve Nikiforov ve ark. nın 2018'de yayımladığı NIFTP tanısını revize eden makaleye göre verilmiştir. Çapı 1 cm'nin altında olan, tümör çapı kriteri dışında NIFTP, FVPTK ve KVPTK'den birinin kriterlerini karşılayan tümörler de değerlendirmeye alınmıştır. Olguların metastaz durumu, eşlik eden tiroid tümörü ya da hastalığı olup olmadığı belirtilmiştir. Aspirasyon tanıları 2017 Bethesda kriterlerine göre verilmiştir.

3.4 Metod

Aspirasyon materyallerinde her bir moleküler test için en az 400 adet hücre içeren alanlar işaretlenmiştir. Bu alanlar fotoğraflandıktan sonra lamlar ksilenle açılmıştır. Daha sonra sırasıyla %100, %90 ve 75'lik alkolde 30 dk

bekletilmiştir. Havada kurutulduktan sonra işaretli alandaki hücreler kazınarak nükleik asit izolasyonu için steril pipetlerle ependorf tüplere alınmıştır.

3.5 DNA İzolasyonu ve Presipitasyonu

DNA izolasyon ve presipitasyon basamakları aşağıda sıralanmıştır:

- 1 M NaSCN(sodyum tiyosiyanat) ile 37C'de bir gece inkübasyonda bırakılarak protein denatürasyonu sağlanır.
- 180 mikroL Lizis buffer+70 mikroL proteinaz K solüsyonu ilave edildikten sonra vortekslenir.
- 56 derecede, ardından 90 derecede bekletilir.
- Oda sıcaklığına gelene kadar bekletilir.
- 200 mikroL DNA Binding Buffer eklenir, karıştırılır.
- Oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
- 100 mikroL İsopropanol eklenir, karıştırılır.
- Tüm karışım filtreli tüpe aktarılır, 1 dk santrifüjlenir.
- Filtreli tüp yeni bir collection tüp içerisine yerleştirilir.
- 500 mikroL Wash Buffer I filtreli tüpe aktarılır ve santrifüjlenir.
- 500 mikroL Wash Buffer II filtreli tüpe aktarılır ve santrifüjlenir.
- Filtreli tüp yeni bir collection tüp içerisine yerleştirilir ve membranı kurutmak için 1 dk santrifüjlenir.

- Filtreli tüp ependorfa yerleştirilir ve üzerine 100 mikroL DNA Elution Buffer aktarılır.
- Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildikten sonra 1 dk santrifüjlenir.

3.6 DNA miktarının UV spektrofotometre ile belirlenmesi

Pürin ve pirimidinlerin halka yapısının UV absorbsiyonu DNA ve RNA miktarını ölçmekte kullanılır. İzolasyonun ardından Nanodrop UV-Vis Spectrophotometer (ND-1000 ya da ND-2000) ile DNA miktarı hesaplanır. KRAS için DNA miktarı >4 ng/µl, BRAF ve NRAS için >5 ng/µl olmalıdır.

3.7 Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi ve Sonuçlarının Değerlendirilmesi

PCR yöntemi Real-Time PCR Cobas Z480 cihazı ile çalışılmış ve değerlendirilmiştir.

3.8 İstatistiksel Analiz

Araştırma verisi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 23.0 istatistik paket programı aracılığı ile değerlendirilmiştir.

Tanımlayıcı istatistikler sunulurken yaş, tümör boyutu ve takip süresi için ortalama±standart sapma değeri, sınıflandırılabilir değişkenler için vaka sayıları

ve yüzdeleri verilmiştir. Kategorik verilerin karşılaştırmalarında Pearson Ki-Kare, Fisherin Kesin Testi, Likelihood ratio, Yates Ki Kare testleri kullanılmıştır. 2x2 den büyük Ki-kare testlerinde anlamlı fark saptananlar post-hoc Bonferroni analiziyle değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenlerin dağılımı objektif ve subjektif parametreler kullanılarak değerlendirilmiş olup normal dağılan değişkenlerin karşılaştırmasında t-testi, normal dağılmayan değişkenlerin karşılaştırmasında Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis testleri kullanılmıştır. Tümör tiplerinin sağkalım üzerine etkileri log-rank testi kullanılarak incelenmiştir. Sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

3.9 Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Etik Komisyonu'nun 08.09.2020 tarihinde 08 sayılı toplantısında etik kurul onayı alınmıştır.

4.BULGULAR

4.1 Hastaların Demografik, Klinik Özellikleri ve Görüntüleme Bulguları

Çalışmamızda hastaların yaş aralığı 9-81 olup ortalaması 47,37±13,56'dır. Hastaların %23'ü erkek, %77'si kadındır. Tümör gruplarının demografik özellikleri Tablo 6'da verilmiştir.

En sık başvuru nedeni NIFTP, FVPTK ve KVPTK olgularında benzer olup boyunda şişlik ve multinodüler guatrdır. Diğer başvuru nedenleri hipertiroidi ve hipotiroididir.

Tablo 6: Olguların demografik özellikleri

	Histolojik tümör tipi		
Demografik özellikler	**NIFTP n=64**	**FVPTK n=31**	**KVPTK n=12**
Yaş Ortalama±ss	47,31±14,24	47,74±13,70	44,41±10,6
Cinsiyet Kadın Erkek	52(%81) 12(%19)	23(%74) 8(%26)	8(%67) 4(%33)

ss: standart sapma

Toplamda 78 olgunun USG raporuna ulaşılabilmiştir. Ulaşılabilen raporlarda ise tanımlama eksik olmakla birlikte NIFTP olgularının USG bulguları sıklıkla düzgün sınırlı, kistik alanlar içeren, heterojen ekoda, kalsifikasyon içermeyen, periferik halo bulunduran, santralden ve periferden kanlanan nodül şeklinde izlenmiştir. FVPTK'lerin USG bulguları ise sıklıkla düzensiz sınırlı kistik alan içermeyen, hipoekoik, kalsifasyon içermeyen nodül şeklindedir.

KVPTK'ler ise kistik alan içermeyen, mikrokalsifikasyon bulunduran, hipoekoik nodül olarak görülmüştür (Tablo 7).

Tablo 7: USG bulguları

	Histolojik tümör tipi		
USG bulguları	**NIFTP n=44**	**FVPTK n=23**	**KVPTK n=7**
Sınır			
Düzenli	10	1	1
Düzensiz	1	7	1
Kistik alan			
Var	22	5	2
Yok	19	18	5
Hipoekoik	10	13	4
İzoekoik	12	5	0
Hiperekoik	4	1	1
Heterojen	14	3	0
Kalsifikasyon			
Mikrokalsifikasyon	6	5	4
Kaba kalsifikasyon	1	1	1
Kaba+mikrokalsifikasyon	0	1	1
Çeper kalsifikasyonu	1	3	0
Yok	32	12	1
Periferik halo			
Var	14	4	2
Yok	4	0	0
Patolojik kanlanma			
Santral	0	1	0
Periferal	8	4	0
Santral+periferal	9	2	2

4.2 Olgularda Tümör Yerleşimi ve Histopatolojik Özellikler

Bu çalışmada 3 benign sitoloji, 44 AUS/FLUS, 19 FN/FNŞ, 19 MŞ, 25 malign sitoloji tanısı almış nodül incelenmiştir. Sitoloji tanıları verilen nodüllerin

histopatolojik tanıları 31FVPTK, 64 NIFTP, 12 KVPTK'dir (5 inde folliküler pattern baskın olarak izlenmiştir). 3 nodül tamamı örneklenmediği için gri kategori olarak sınıflandırılmış, istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır. 3 FVPTK olgusunda az diferansiye komponent görülmüştür.

Tüm olgularda ortalama tümör çapı 2,17±1,49 olup olgu gruplarına ait tümör çapı bilgileri Tablo 9'da gösterilmiştir. 14 olguda tümör çapı 1 cm'nin altında, 5 olguda ise 1 cm'dir. Çapı 1 cm'nin altında olan tümörler de değerlendirmeye alınmış ve morfolojik kriterlere göre NIFTP, FVPTK ya da KVPTK'den uygun olan kategoriye alınmıştır. Çapı 1 cm'nin altında olan olgulardan 11 tanesi NIFTP, 6 tanesi FVPTK, 2 tanesi KVPTK'dir. NIFTP'lerin %51'i sağ lob, FVPTK'lerin %48'i sol lob, KVPTK'lerin %42'si sol lob yerleşimli olup tümör yerleşim yeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 8: Olgularda tümör yerleşim yeri

	Histolojik tümör tipi			
Tümör yerleşim yeri	**NIFTP n=64**	**FVPTK n=31**	**KVPTK n=12**	***P***
Sağ Sol İstmus	32(%51) 28(%44) 3(%5)	12(%39) 15(%48) 4(%13)	5(%42) 5(%42) 2(%16)	*0,476*
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

Tablo 9: Tümör çapı

	Histolojik tümör tipi			
Tümör çapı	**NIFTP n=64**	**FVPTK n=31**	**KVPTK n=12**	***P***
Tümör çapı (cm)				
Ortalama±ss	2,1±1,67	2,25±1,32	1,7±0,8	*0,592*
Ortanca (min-maks)	1,5 (0,3-9,5)	2,2 (0,5-5,5)	1,6 (0,6-3,5)	
Tümör çapı (cm)<1 cm olan olgu sayısı	8 (%13)	4 (%13)	2 (%17)	-

ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum

Rezeksiyon materyalinde NIFTP tanısı alan olguların büyük çoğunluğu sitoloji materyalinde (%56 oranında) AUS/FLUS tanısı almıştır. FVPTK tanısı alan olgular ise en sık malign kategoride (%32) tanı almış, AUS/FLUS (%23), FN/FNŞ (%23), MŞ (%19) kategorilerinde benzer oranlarda tanı almıştır. KVPTK'lerin %67'si (8/12) aspirasyon materyalinde malign sitoloji tanısı almıştır (Tablo 10). Olgu grupları arasında sitoloji tanısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=*0,000*). Farkın nerden kaynaklandığını anlamak için yapılan Post-hoc Bonferoni düzeltmesinde, istatistiksel anlamlılığın NIFTP ve FVPTK ile NIFTP ve KVPTK arasındaki farktan kaynaklandığı anlaşılmıştır.

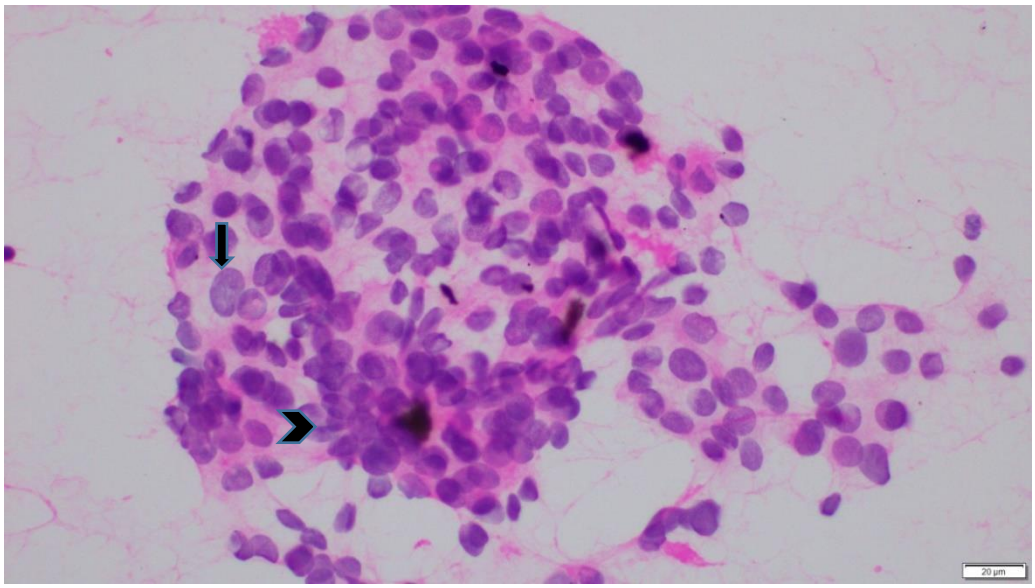
Tablo 10: Olguların sitoloji tanıları

	Histolojik tümör tipi				
Sitoloji tanısı	**NIFTP**	**FVPTK**	**KVPTK**	**Gri kategori**	**Toplam**
Benign	1(%2)	1(%3)	0 (%0)	1(%33)	3
AUS/FLUS	36(%56)	7(%23)	1 (%8)	0 (%0)	44
FN/FNŞ	11(%17)	7(%23)	1 (%8)	0 (%0)	19
Malignite şüphesi	10(%16)	6(%19)	2 (%16)	1(%33)	19
Malign	6(%9)	10(%32)	8 (%67)	1(%33)	25
Toplam	64	31	12	3	110

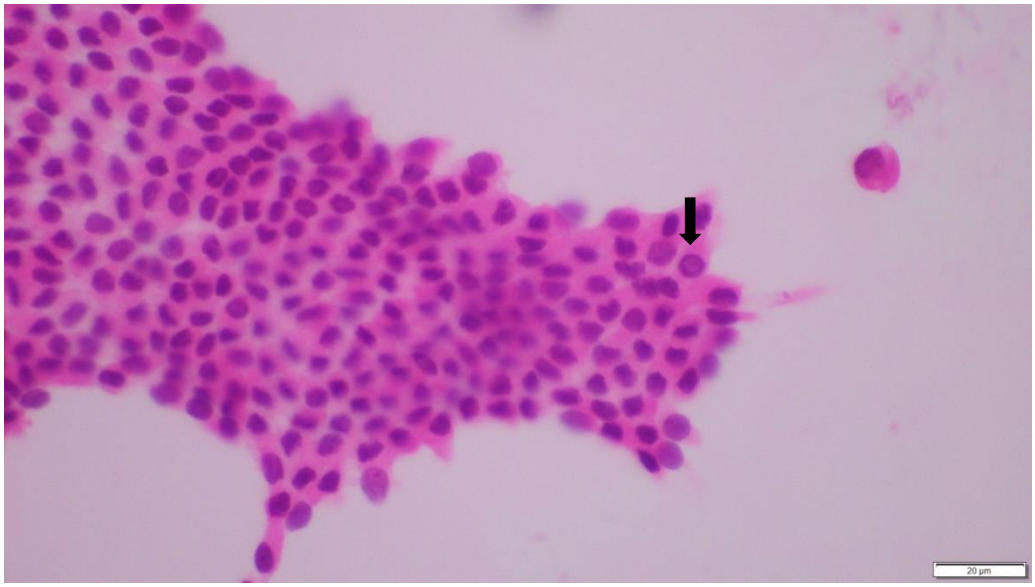
*Post-hoc Bonferoni düzeltmesinde p<0,017 anlamlı kabul edilmiştir.

FVPTK'lerin %68'i (21/31) kapsülle çevrili olup kapsül invazyonu göstermektedir. NIFTP'lerin %3'ü (2/64) kapsül içermemekte olup iyi sınırlıdır. FVPTK'lerin %23'ü (7/31), KVPTK olgularının ise %8'i (1/12) vasküler invazyon göstermektedir. 2 FVPTK, 2 KVPTK, cerrahi sınırda devamlıdır.

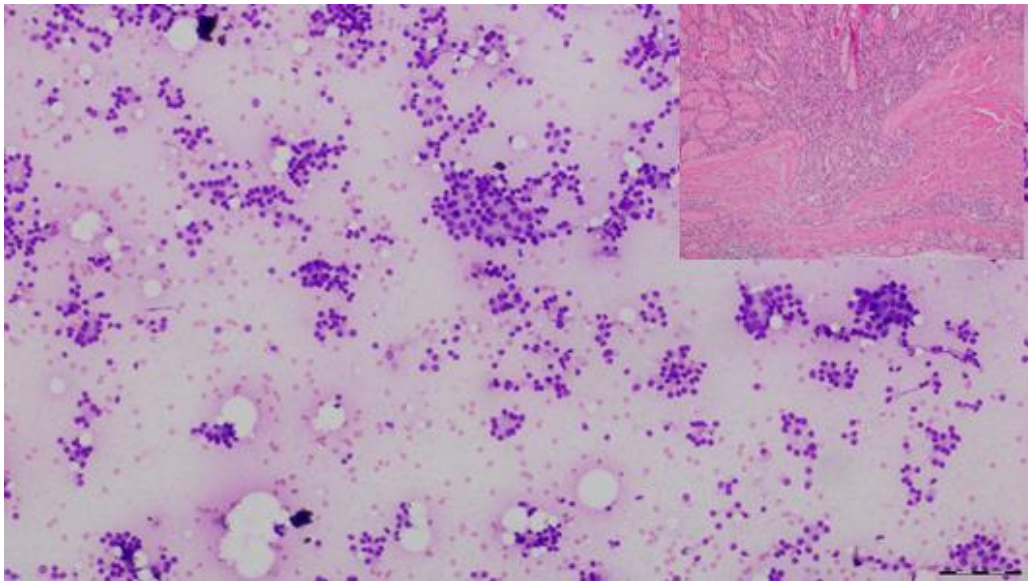
NIFTP, FVPTK ve KVPTK'de çevre tiroid parankiminde en sık eşlik eden patoloji nodüler guatr ve kronik lenfositik tiroidit olup olgu grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.



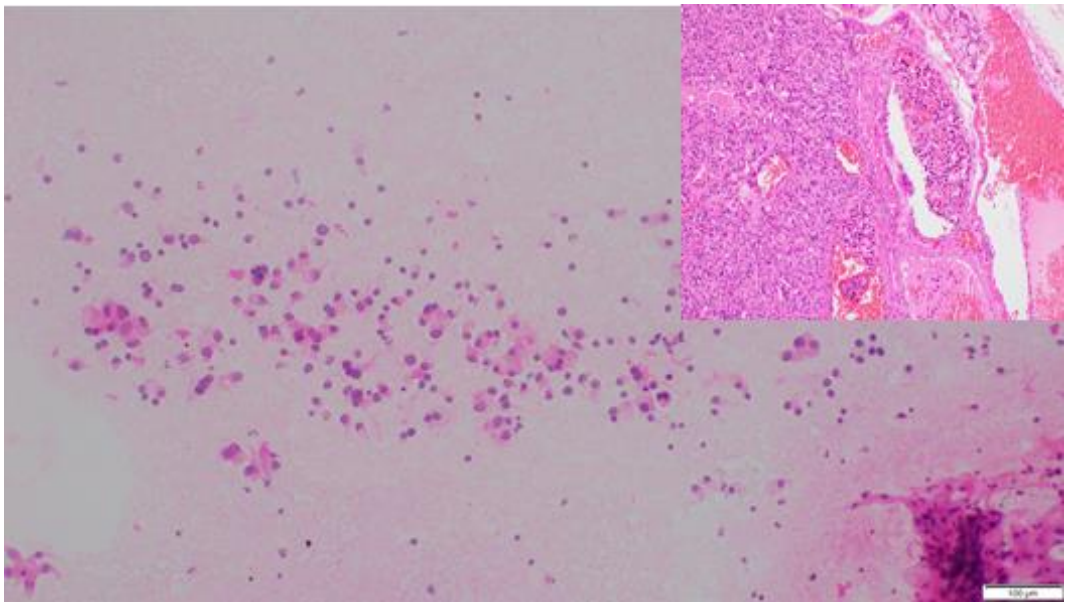
Resim 1: Sitoloji materyalinde MŞ tanısı alan iri nukleusların (ok) ve üstüste düşüşlerin (ok başı) izlendiği FVPTK örneği (H&Ex400)



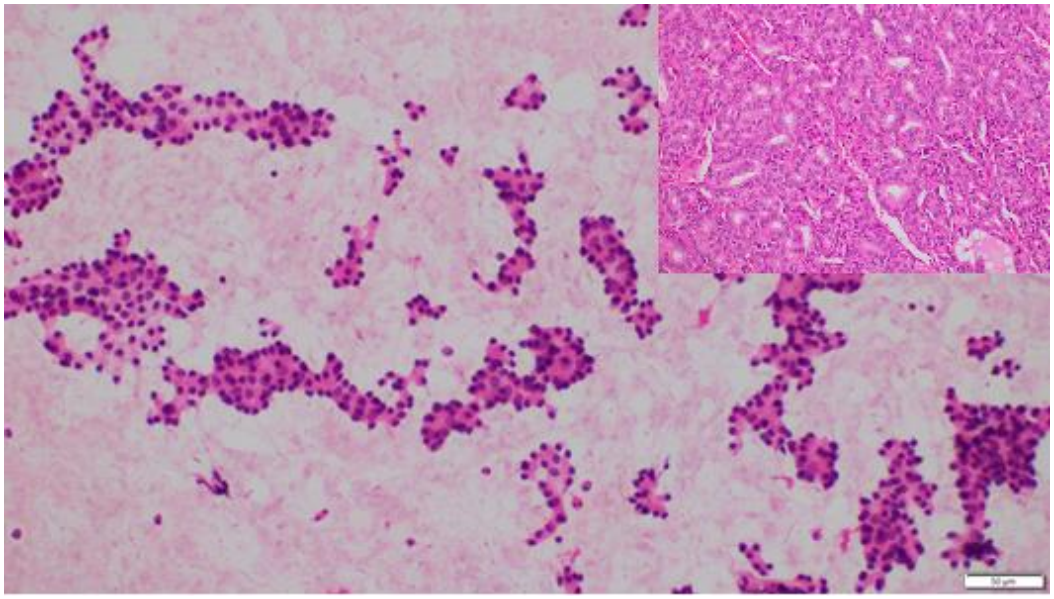
Resim 2: Sitoloji materyalinde PTK tanısı alan FVPTK örneği (Ok, inklüzyonu göstermektedir, H&Ex400).



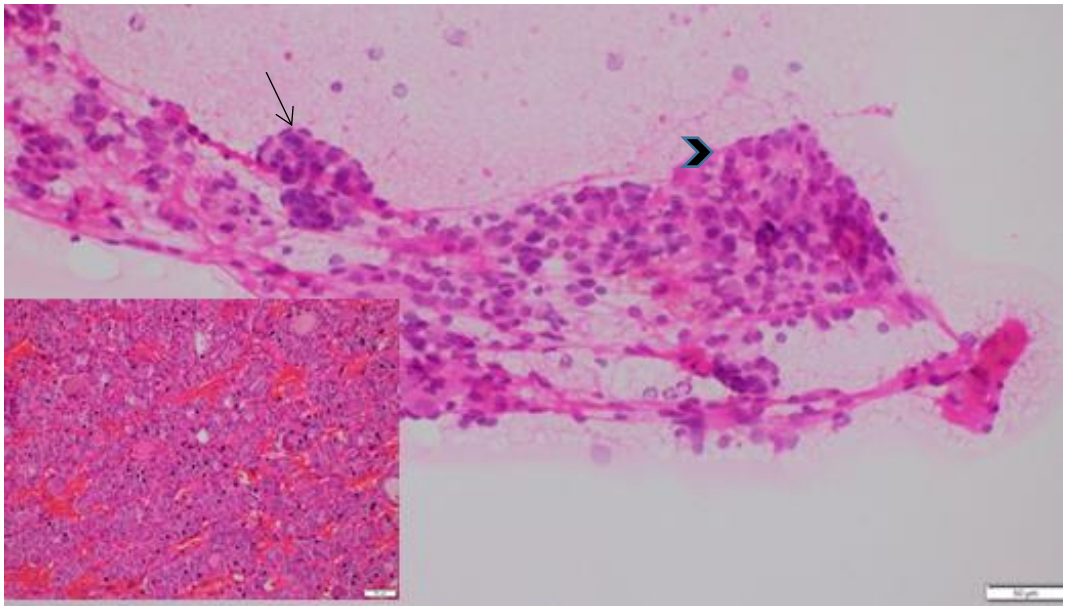
Resim 3: Aspirasyonda FN tanısı alan FVPTK, yaygın mikrofoliküler patern ve yer yer tek tek düşüş gösteren folikül epitel hücreleri görülüyor. Sağ üstteki resimde ise kapsüler invazyon mevcut (Giemsax100, Sağ üst: H&Ex40).



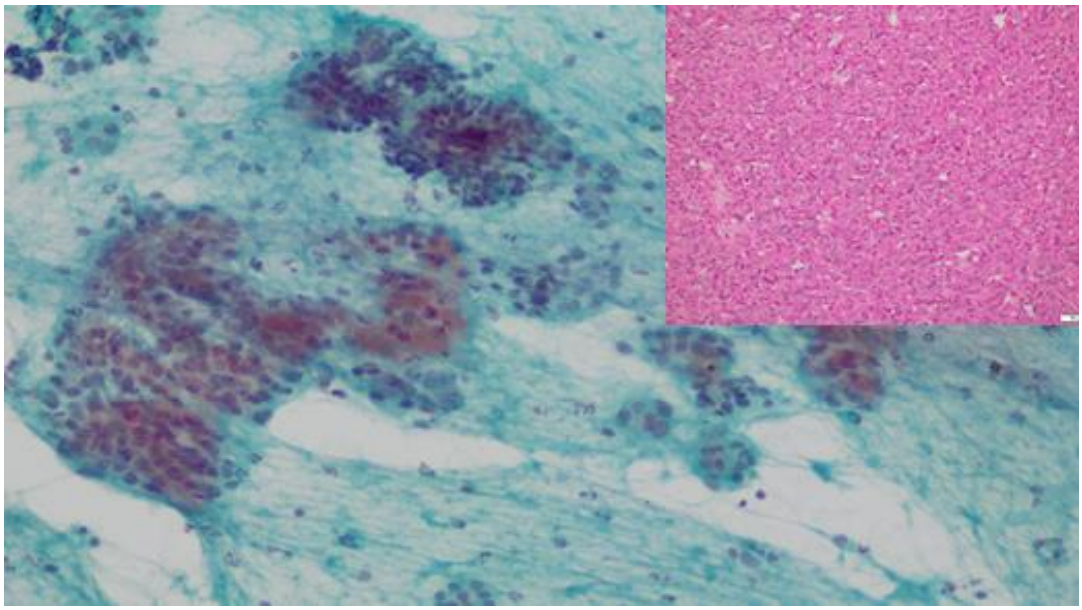
Resim 4: Aspirasyonda FN tanısı alan FVPTK, mikrofoliküler patern oluşturan ve yer yer tek tek düşüş gösteren folikül epitel hücreleri görülüyor, sağ üstte vasküler invazyon mevcut (H&Ex100, Sağ üst: H&Ex100).



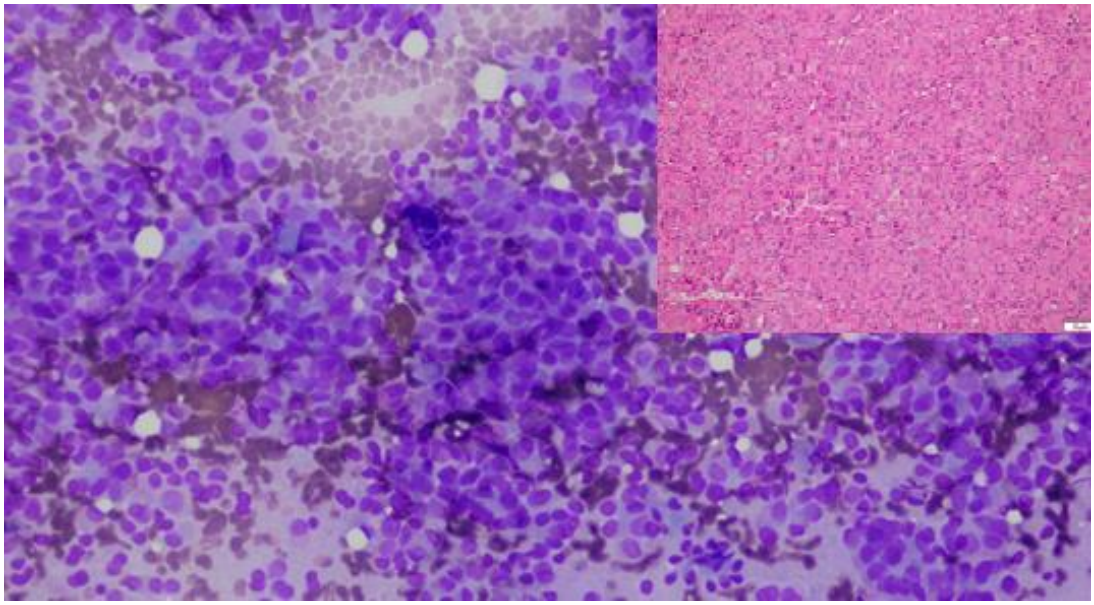
Resim 5: Aspirasyonda FN tanısı alan NIFTP, mikrofoliküler patern oluşturan folikül epitel hücreleri görülüyor (H&Ex200, Sağ üst: H&Ex200).



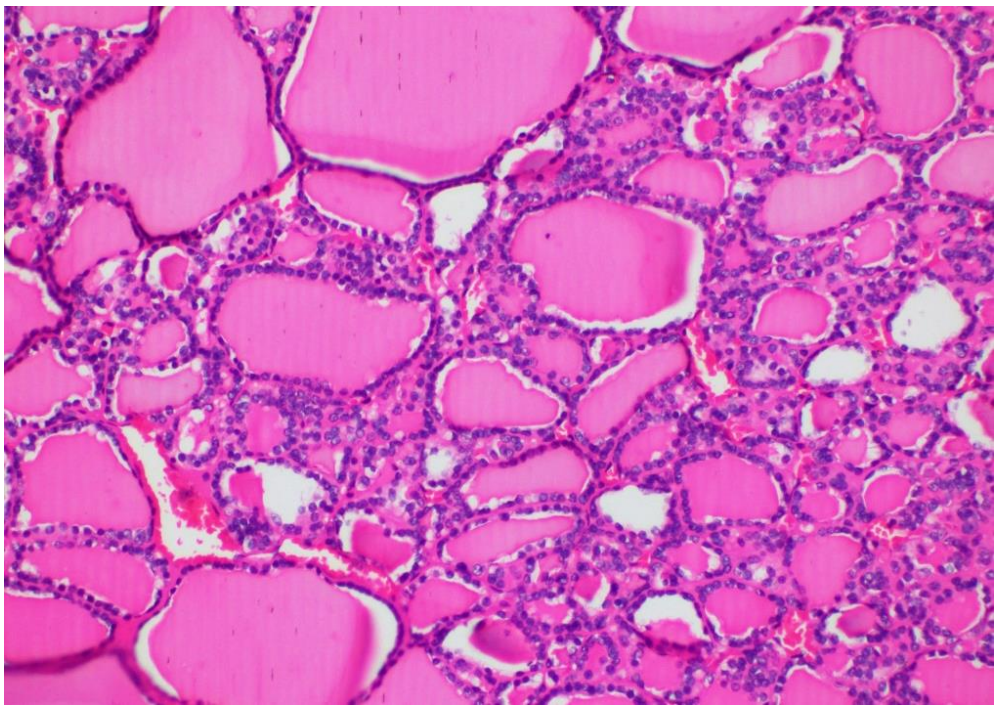
Resim 6: Aspirasyonda AUS/FLUS tanısı alan NIFTP, hafif nükleer irileşme ve üstüste düşüşler gösteren folikül epitel hücreleri (ok) yanısıra resmin sağında 2 adet mikrofolikül (ok başı) görülüyor (H&Ex200, Sol alt: H&Ex200).



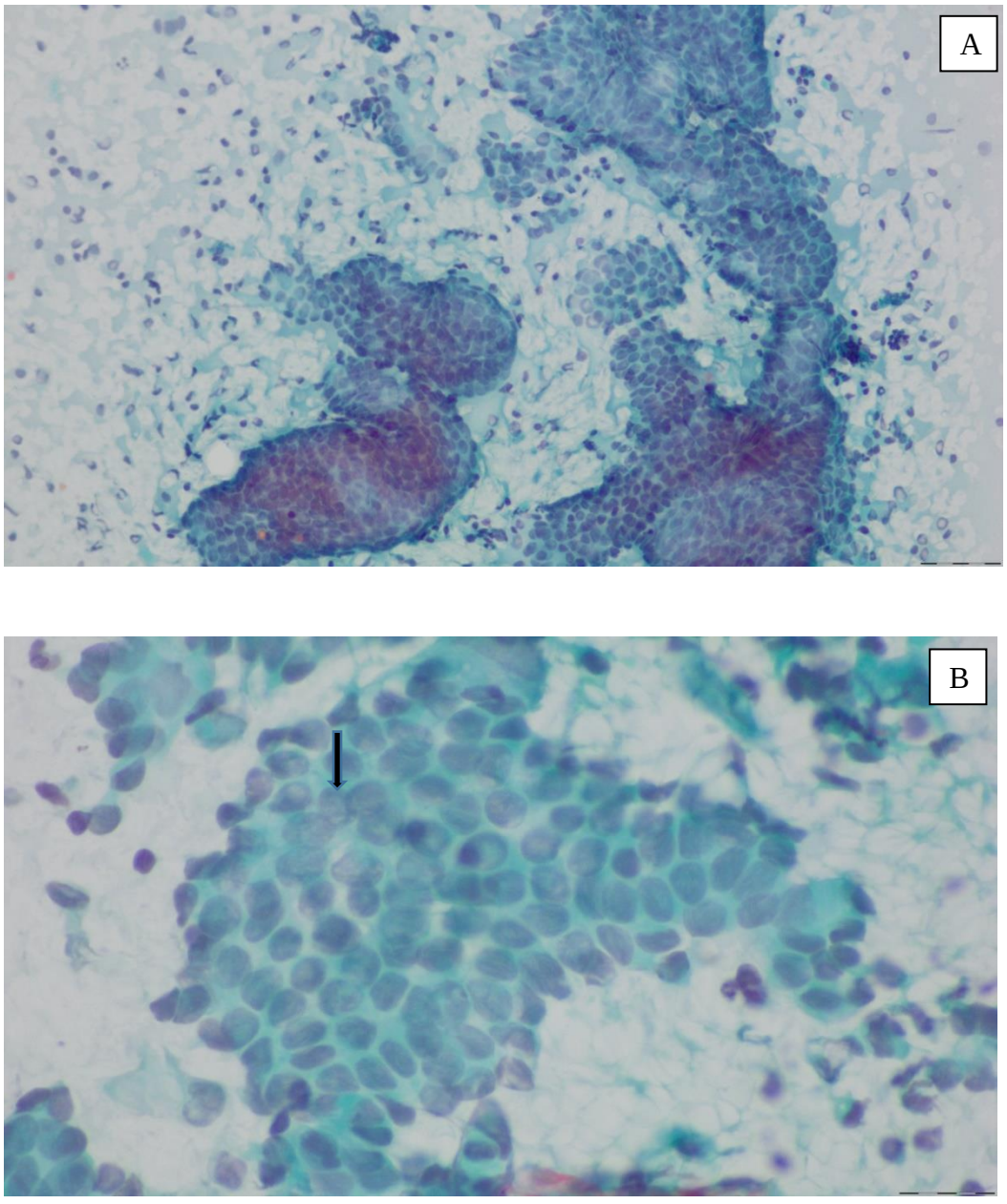
Resim 7: Aspirasyonda MŞ tanısı alan NIFTP, tabakalar halinde düşen folikül epitel hücrelerinde belirgin nükleer irileşme görülüyor (PAPx200, sağ üst: H&Ex200).



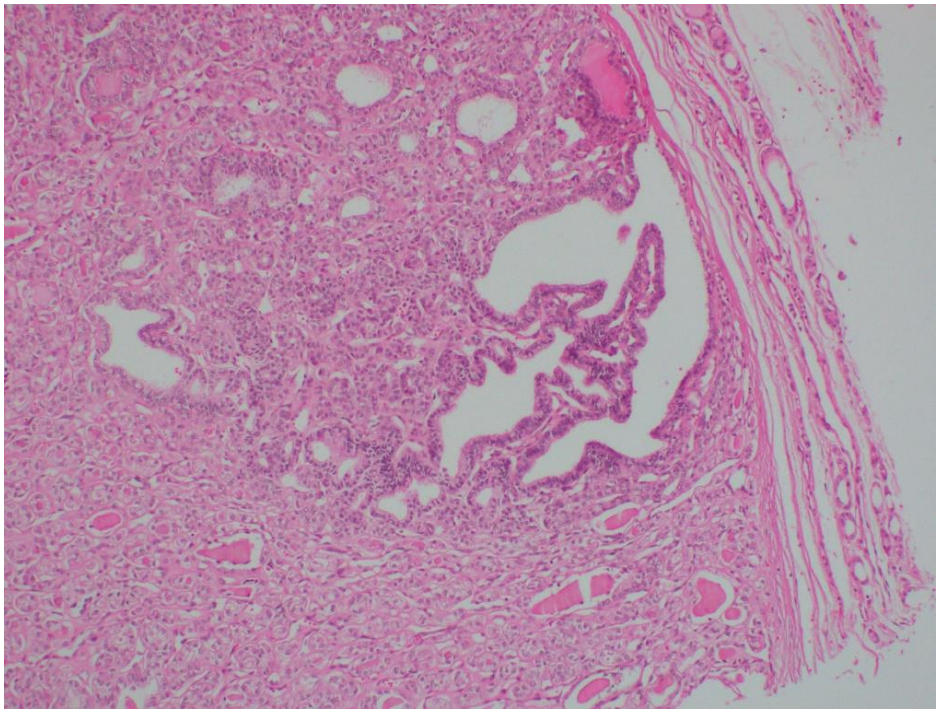
Resim 8: Aspirasyonda PTK tanısı alan NIFTP, tabakalar halinde düşen folikül epitel hücrelerinde belirgin nükleer irileşme ve nükleer çentiklenmeler görülüyor (Giemsax200, sağ üst: H&Ex200).



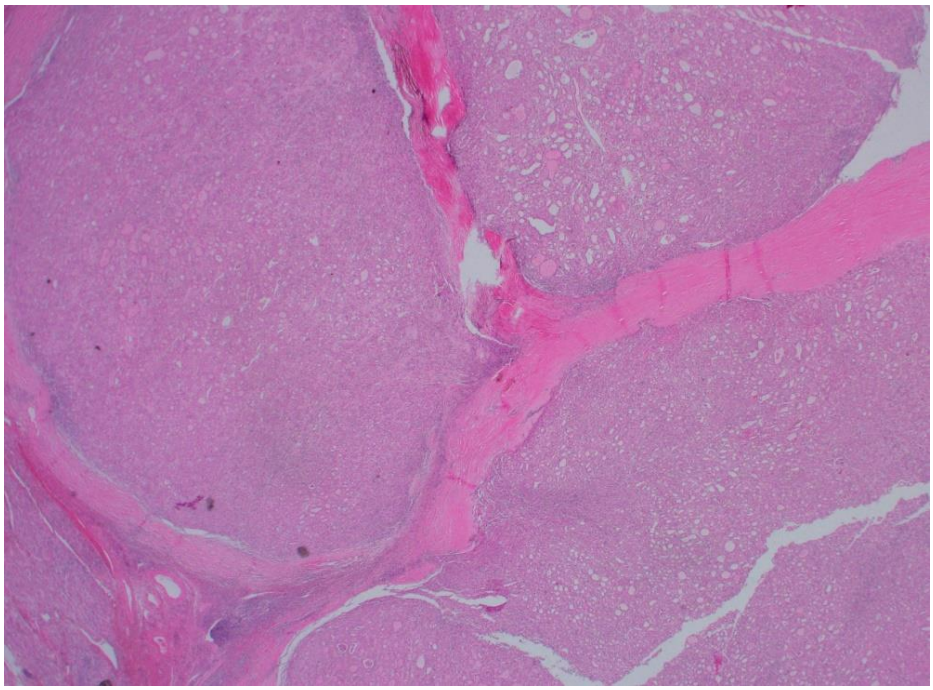
Resim 9: Makrofoliküler patern oluşturan NIFTP, aynı zamanda *sprinkling* patern görülüyor (H&Ex200).



Resim 10: Aspirasyonda PTK tanısı alan foliküler patern baskın KVPTK; tabakalar halinde düşen folikül epitel hücrelerinde belirgin nükleer irileşme, nükleer inklüzyon (ok), yaygın nükleer çentiklenmeler görülüyor (A: PAPx200, B: PAPx600)



Resim 11: %1'den az oranda papiller yapı içeren foliküler patern baskın KVPTK (H&Ex100)



Resim 12: FVPTK olgusunda invazyon alanı (H&Ex12,5)

4.4 PCR Bulguları

5 olguda DNA yetersizliği nedeniyle mutasyon çalışılamamıştır. KRAS mutasyon testinde 9, NRAS ve BRAF mutasyon testinde 18 olguda geçersiz sonuç alınmıştır. NRAS ve BRAF çalışmasında 9 NIFTP, 4 FVPTK, 4 KVPTK, 1 gri kategoride yer alan olguda suboptimal sonuç vermiştir. KRAS çalışmasında 6 NIFTP, 1 FVPTK, 1 KVPTK suboptimal sonuç vermiştir. Sonuç olarak 97 olguda KRAS, 87 olguda NRAS ve BRAF mutasyonu bakılmıştır.

NIFTP olgularında en sık NRAS geninde 61. pozisyonda tek nükleotid değişikliği ile karakterli mutasyon (Q61X) görülmüştür. İkinci sıklıkta KRAS geninde benzer mutasyon izlenmiştir. 1 olguda KRAS geninde 12. pozisyonda tek nükleotid değişikliği ile karakterli mutasyon (G12X) görülmüştür. BRAF mutasyonu görülmemiştir.

4 FVPTK'da (%15) BRAF geninde 600. pozisyonda valin aminoasidinin yerine glutamatın geçmesi ile sonuçlanan mutasyon (BRAFV600E) görülmüştür. 4 olguda (%15) NRAS geninde Q61X, 1 olguda (%3) KRAS geninde G12X mutasyonu izlenmiştir. KVPTK'lerde 5 olguda (%63) BRAFV600E, 1 olguda (%13) NRAS geninde Q61X mutasyonu görülürken 1 olguda (%9) KRAS geninde Q61X mutasyonu görülmüştür.

KRAS ve NRAS mutasyon durumu ve tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla, $p=0,723$ ve $p=0,289$). KVPTK ve FVPTK arasında BRAF mutasyonu durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur ($p=0,000$).

Nikiforov ve ark. nın 2018'de yayımladıkları NIFTP kriterlerini revize eden makaleye göre bu kriterleri karşılayan ancak tümör kapsülünün tümüyle örneklenmediği, bu nedenle gri kategoride yer alan 1 olguda BRAFV600E mutasyonu görülmüştür.

Tablo 11: BRAF ve NRAS mutasyonu durumu ile histolojik tümör tipinin karşılaştırması

	Histolojik tümör tipi			
Moleküler özelikler	**NIFTP n=51**	**FVPTK n=26**	**KVPTK n=8**	***P***
NRAS mutasyonu	15 (%30)	4 (%15)	1 (%13)	*0,289*
BRAFV600E mutasyonu	0 (%0)	4 (%15)	5 (%63)	-
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

Tablo 12: KRAS mutasyonu durumu ile histolojik tümör tipinin karşılaştırması

	Histolojik tümör tipi			
Moleküler özelikler	**NIFTP n=54**	**FVPTK n=29**	**KVPTK n=11**	***P***
KRAS mutasyonu	4 (%7)	1 (%3)	1 (%9)	*0,723*
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

Sitoloji tanısı ile BRAF mutasyon durumu karşılaştırıldığında, AUS/FLUS tanısı alanların %7'si (2/31) ve malign sitoloji tanısı alanların %38'inde (8/21) BRAF mutasyonu saptanmıştır. Diğer kategorilerde mutasyon görülmemiştir. AUS/FLUS ve malign tanısı alan olgular arasında BRAF mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmıştır (Likelihood ratio testi kullanılmıştır, *p=0,004*) (Tablo 13).

Tablo 13: BRAF mutasyonu durumu ile sitoloji sonucunun karşılaştırması

	Sitoloji tanısı				
Moleküler özelikler	**Benign n=1**	**AUS/FLUS n=31**	**FN/FNŞ n=17**	**MŞ n=16**	**Malign n=21**
BRAFV600E mutasyonu	0 (%0)	2 (%7)	0 (%0)	0 (%0)	8 (%38)
Likelihood ratio testi kullanılmıştır.					

Sitoloji tanısı ile NRAS mutasyon durumu karşılaştırıldığında, AUS/FLUS tanısı alanların %26'sı (8/31), FN/FNŞ tanısı alanların %35'i (6/17), MŞ tanısı alanların %31'i (5/16), malign sitoloji tanısı alanların %5'inde (1/21) NRAS mutasyonu saptanmıştır. Kategoriler arasında NRAS mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmamıştır (*p=0,11*) (Tablo 14).

Tablo 14: NRAS mutasyonu durumu ile sitoloji sonucunun karşılaştırması

	Sitoloji tanısı				
Moleküler özelikler	**Benign n=1**	**AUS/FLUS n=31**	**FN/FNŞ n=17**	**MŞ n=16**	**Malign n=21**
NRAS mutasyonu	0 (%0)	8 (%26)	6 (%35)	5(%31)	1(%5)
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.					

Sitoloji tanısı ile KRAS mutasyon durumu karşılaştırıldığında AUS/FLUS tanısı alanların %6'sı (2/33), FN/FNŞ tanısı alanların %5'i (1/19), MŞ tanısı alanların %6'sı (1/17), malign sitoloji tanısı alanların %8'inde (2/25) KRAS mutasyonu saptanmıştır. Kategoriler arasında KRAS mutasyon varlığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (*p=0,983*) (Tablo 15).

Tablo 15: KRAS mutasyonu durumu ile sitoloji sonucunun karşılaştırması

	Sitoloji tanısı				
Moleküler özelikler	**Benign n=3**	**AUS/FLUS n=33**	**FN/FNŞ n=19**	**MŞ n=17**	**Malign n=25**
KRAS mutasyonu	0 (%0)	2 (%6)	1 (%5)	1 (%6)	2 (%8)
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.					

4.3 Olgularda Tedavi, Nüks, Metastaz ve Sağkalım Durumu

NIFTP olguları 63,15±36,64 ay, FVPTK olguları 52,70±41,87 ay, KVPTK olguları 81,00±40,97 ay takip edilmiştir.

NIFTP ve FVPTK'lerin %94'üne, KVPTK'lerin tamamına cerrahi yöntem olarak total tiroidektomi uygulanmıştır. NIFTP'lerin %27'si (17/64), FVPTK'lerin %39'u (12/31), KVPTK'lerin %58'i (7/12) RAİ almıştır. RAİ alan NIFTP'lerin %76'sı (13/17) NIFTP tanımı WHO sınıflamasında girmeden önce (2017 yılından önce) FVPTK olarak tanı aldıkları için bu tanıya göre tedavi görmüştür.

Olguların büyük çoğunluğunda lenf nodu örneklemesi yapılmamıştır. Lenf nodu örneklenen 28 olgudan 8 tanesinde metastaz görülmüş olup bunlardan 1'i NIFTP, 3'ü FVPTK, 4'ü KVPTK'dir. Olgu grupları arasında lenf nodu metastazı açısından anlamlı fark saptanmış olup bu farkın NIFTP ve KVPTK arasındaki farktan kaynaklandığı tespit edilmiştir *(p=0,000).* Lenf nodu metastazı görülen NIFTP'e 2012 yılında total tiroidektomi yapılmış olup tanıdan 4 ay sonra boyun lenf nodunda metastaz tespit edilmiştir. Bu olguda tiroid dokusunda ayrıca klasik

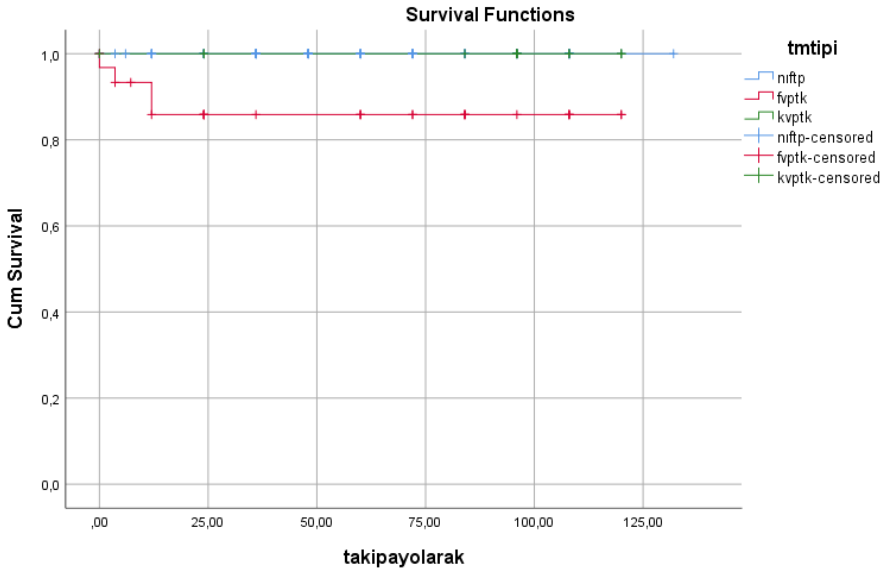
ve foliküler patern oluşturan düzensiz sınırlı mikrokarsinom odakları izlenmiş ve metastatik lenf nodunda klasik patern görülmüştür. Az diferansiye komponent içeren 1 FVPTK'de mediastene yayılım şeklinde uzak metastaz görülmüştür (Tablo 16).

110 olgunun exitus olan 4'ünde FVPTK tanısı mevcuttur. 3 olgunun ölüm nedenine ulaşılamamıştır. Ölüm nedeni bilinmeyen 2 olgu 2012 yılında FVPTK tanısı almış ölüm tarihlerine ulaşılamamıştır. Olgulardan biri 73 yaşında erkek olup aynı zamanda larinks karsinomu ve diffüz büyük B hücreli lenfoma tanıları mevcuttur. Diğeri 91 yaşında kadın olup ek hastalık bilgisi bulunmamaktadır. Ölüm nedeni bilinmeyen 1 olgu 2017 yılında FVPTK tanısı almış 69 yaşında kadın hasta olup ölüm tarihine ulaşılamamıştır. Bu olgunun ayrıca marjinal zon lenfoma tanısı bulunmaktadır. FVPTK nedeni ile ex olduğu bilinen 73 yaşında erkek hasta, 2020 yılında FVPTK tanısı almış olup olguya az diferansiye tiroid karsinomu odakları eşlik etmektedir. Hastada kemik ve mediasten metastazları bulunmaktadır. Boyun ve mediastendeki kitle rezeksiyonu sonrasında gelişen hematomu boşaltma işlemi sırasında aort rüptürü gelişen hasta tekrar opere edilmiştir, ancak operasyondan sonra COVID-19 pnömonisi nedeniyle FVPTK tanısından 4 ay sonra ex olmuştur. Takiplerde 82 olgu tiroid tümör nüksü olmadan yaşamını sürdürmektedir. Ancak yaşayan 25 olgunun nüks bilgisine ulaşılamamıştır. Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan analizlerde tümör tipi ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmış olup FVPTK tanısına sahip olan olguların daha kötü sağkalıma sahip olduğu gözlenmiştir *(p=0,005)* (Grafik 1).

Tablo 16: Olgularda tedavi, nüks, metastaz, sağkalım durumu

	Histolojik tümör tipi			
Tedavi, nüks, metastaz, sağkalım durumu	**NIFTP n=64**	**FVPTK n=31**	**KVPTK n=12**	***P***
Takip süresi (ay) Ortalama±ss	63,15±36,64	52,70±41,87	81,00±40,97	-
Cerrahi tipi				
Total tiroidektomi	60(%94)	29(%94)	12(%100)	*0,67*
Lobektomi	4(%6)	2(%6)	0	
RAI tedavisi	17(%27)	12(%39)	7(%43)	*0,07*
Lenf nodu metastazı	1(%2)	3(%10)	4(%57)	***0,004***
Nüks				
Var	0	1(%3)	0	
Yok	52(%81)	19(%61)	9(%71)	-
Bilinmiyor	12(%19)	10(%36)	3(%29)	
Sağkalım				
Eksitus	0	4(%13)	0	
Yaşıyor	64(%100)	27(%87)	12(%100)	***0,006***

ss: standart sapma. Tümör tipi ve sağkalım arasındaki ilişki Kaplan-Meier yöntemi ile araştırılmış olup diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.



Grafik 1: NIFTP, FVPTK ve KVPTK olgularında tümör tipi ile genel sağkalım arasındaki ilişki

5.TARTIŞMA

1950'li yıllarda PTK ve foliküler karsinom olarak sınıflandırılan tiroid tümörlerinin tiplendirmesi zaman içinde değişikliklere uğramıştır. 1960 yılında Lindsay tarafından foliküler karsinom tanısı alan bazı olguların papiller nükleer özellikler gösterdiği, lenf nodu metastazı yaptığı ileri sürülerek bu olgular FVPTK olarak tanımlanmıştır (153).

2006'da Liu ve ark. FVPTK'nin büyüme paternine göre klinik davranışını inceleyen bir çalışma yayımlamıştır. Bu çalışmaya dahil edilen 18 enkapsüle invaziv, 43 enkapsüle noninvaziv, 17 infiltratif FVPTK'yi incelemiş, infiltratif büyüme patterninin %65'inin, enkapsüle paternin %5'inin lenf nodu metastazı yaptığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada sadece lobektomi yapılmış, radyoaktif iyot tedavisi almamış olan noninvaziv enkapsüle FVPTK'ler 11 yıllık takip süresi boyunca hastalık rekürrensi göstermemiştir. Sonuçlar FVPTK'nin 2 gruba ayrıldığını destekler nitelikte olup, infiltratif olanının KVPTK'ye benzer şekilde yüksek oranda lenf nodu metastazı yaptığı, enkapsüle olanın ise metastaz yapmadığı ve nüksetmediğini desteklemektedir. Çalışmanın sonuçlarına dayanarak ötorler enkapsüle FVPTK'nin sadece lobektomi ile tedavi edilmesini önermişlerdir (23). Noninvaziv FVPTK'nin indolent davranışını destekleyen başka bir çalışma da Piana ve Rosai tarafından yayımlanmıştır. Çalışmada ortalama takip süresi 9.8 yıl olan 1039 tiroid tümörü değerlendirilmiş ve enkapsüle FVPTK'lerin ölüme yol açmadığı gösterilmiştir (24).

Rivera ve ark. 2010'da yaptıkları çalışmada büyüme paternine göre FVPTK'lerin moleküler özelliklerini yayımlamış, noninvaziv enkapsüle FVPTK'nin foliküler adenom ve karsinoma benzer şekilde sıklıkla RAS mutasyonu (%36), daha az oranda da PPARG rearanjmanı içerdiğini, BRAFV600E mutasyonu içermediğini göstermişlerdir. Buna karşılık infiltratif FVPTK'nin KVPTK'ye benzer şekilde kabaca %25 oranında BRAFV600E mutasyonu, daha az oranda da RET/PTC rearanjmanı içerdiğini bildirmişlerdir. Bu verilerle noninvaziv enkapsüle ve infiltratif FVPTK'nin ayrı tümörler olduğu sonucuna varılmıştır (25).

Nikiforov'un liderlik ettiği, 24 endokrin patolog (7 ülkeden), 2 endokrinolog, bir endokrin cerrahı, bir psikyatrist, 1 moleküler patolog, 1 biyoistatistikçi ve 1 tiroid kanser hastasından oluşan katılımcı ile gerçekleştirilen invazyon gösteren ve göstermeyen enkapsüle FVPTK olgusunu değerlendiren bir çalışma gerçekleştirildi. Retrospektif olarak yapılan bu çalışmada 109 adet noninvaziv enkapsüle FVPTK olgusu ortalama 14,4 yıl (10-26 yıl), 101 adet invaziv enkapsüle FVPTK olgusu ortalama 5,6 yıl (1-18 yıl) takip edildi. Enkapsüle noninvaziv FVPTK olgularının 67 tanesine tedavi olarak sadece lobektomi uygulanmış, RAI verilmemişti. Takip sonucunda enkapsüle noninvaziv FVPTK olgularının hiçbirinde nüks ya da hastalık nedeniyle ölüm görülmedi. Enkapsüle invaziv FVPTK olgularının ise 12 tanesinde kötü klinik gidiş saptandı. Bu bulgularla 2004 DSÖ endokrin organ tümör sınıflamasında enkapsüle FVPTK olarak adlandırılan tümörün prognozu invaziv tipe göre daha iyi olduğu için aşırı tedaviyi önlemek amacıyla 2017 DSÖ endokrin tümörler sınıflandırmasında

"karsinom" tabirinden kaçınılarak *noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features* olarak yeniden adlandırıldı **(**13). 2018'de NIFTP histopatolojik tanı kriterleri revize edilerek %1'den az papiller yapı görülmesi şartı hiç papiller yapı görülmemesi şeklinde değiştirildi. Ayrıca moleküler ya da immünhistokimyasal olarak BRAFV600E mutasyonu ve RET/PTC füzyonları gibi KVPTK'nin içerdiği mutasyonların ya da TERT mutasyonu gibi yüksek riskli mutasyonların tespiti halinde invaziv özelliklerin ve papiller yapı varlığının katı kurallarla araştırılması önerildi (39).

NIFTP tanımının getirilmesi ile Bethesda kategorilerinin öngördüğü malignite riski azalmıştır. AUS/FLUS, FN/FNŞ ve MŞ tanısı alan aspirasyonlarda malignite riskinde Faquin ve ark. nın A.B.D'de yaptığı çalışmada 45%, 18%, 48%; Strickland ve ark. nın A.B.D ve İsviçre'de yaptıkları çalışmada 44%, 46%, 28%; Canberk ve ark. nın Türkiye'de yaptıkları çalışmada ise 33%, 66%, 33% oranlarında azalma görülmüştür (34, 35, 52).

2015 yılında yayımlanan ATA kılavuzunda Bethesda sınıflandırmasına göre belirsiz kategoriler olan AUS/FLUS, FN/FNŞ, MŞ kategorilerinden birinde tanı alan sitoloji materyallerinde, klinik ve sonografik özellikler ön plana alınmalı, moleküler testler düşünülüyorsa, testlerin potansiyel yararları ve sınırlamaları ile sonuçların terapötik ve uzun vadeli klinik etkilerindeki olası belirsizlikler göz önünde bulundurularak moleküler yöntemler uygulanmalıdır. Geniş serilerle yapılan çalışmalarla belirsiz aspirasyon sitolojisi olan olgulara ameliyat öncesi uygulanabilecek BRAF, NRAS, HRAS, KRAS, RET/PTC1, RET/PTC3, PAX8/PPARgama olmak üzere 7 genden oluşan moleküler panelin uygulanması

önerilmektedir (1). Yapılan büyük bir çalışmada preoperatif olarak AUS/FLUS tanısı alan nodüllerde RT-PCR kullanılarak BRAF, RAS, RET/PTC ve PAX8/PPARgama mutasyonlarına bakılmıştır. Bu çalışmada AUS/FLUS kategorisinde bu panelin sensitivitesi %63, spesifitesi %99, pozitif prediktif değeri (PPD) %88, negatif prediktif değeri (NPD) ise %94 olarak bildirilmiştir (116). FN/FNŞ/Hürthle hücreli neoplazi tanısı alan nodülerde bu panelin sensitivitesi %57, spesifitesi %97, pozitif prediktif değeri (PPD) %87, negatif prediktif değeri (NPD) ise %86 olarak bildirilmiştir (116). MŞ tanısı alan nodüllerde BRAF mutasyon testinin sensitivitesi %36, spesifitesi %100 olarak bildirilmiştir (116). 143 adet FN/FNŞ tanısı alan ince iğne aspirasyon sitolojisi ile yapılan bir çalışmada panel genişletilerek uygulanan yeni nesil sekanslama yönteminin sensitivitesi %90, spesifitesi %93, PPD'si %83, NPD'si %96 olarak bildirilmiştir (66). Başka bir çalışmada BRAF mutasyon testinin sensitivitesi %45.5, spesifitesi %85.7 olarak bildirilmiştir (170). MŞ tanısı alan tiroid aspirasyon sitolojilerine 7 genden oluşan panelin uygulandığı bazı çalışmalarda bu yöntemin sensitivitesi ise %50-68, spesifitesi %86-96, PPD'si %80-95, NPD'si %72-75 olarak bildirilmiştir (116, 117, 139). Çalışmamızda ATA'nın 2015'te yayımladığı rehberde tiroid ince iğne aspirasyon sitolojilerine uygulanması önerilen 7 genden üçü olan BRAF, KRAS ve NRAS'taki mutasyonların PCR ile tespitinin Bethesda raporlama sistemine göre belirsiz kategoride yer alan olgularda sitoloji tanısına katkısını değerlendirdik.

Çalışmamızda NIFTP tüm olguların %58'ini, FVPTK %28'ini, KVPTK %9'unu oluşturmaktadır. Tüm olguların %77'si kadın olup yaş ortalamaları

47,37'dir. NIFTP, FVPTK ve KVPTK tanısı alan olgularda bu dağılımlar benzerdir. Cinsiyet ve yaş dağılımları PTK'nin epidemiyolojisi ile uyumludur (1, 30, 71).

Çalışmamızda NIFTP olgularının USG bulguları en sık düzgün sınırlı, kistik alanlar içeren, heterojen ekoda, kalsifikasyon içermeyen, periferik halo bulunduran, santralden ve periferden kanlanan nodül şeklinde izlenmiştir. FVPTK'lerin USG bulguları ise en sık düzensiz sınırlı, kistik alan içermeyen, hipoekoik, kalsifikasyon içermeyen nodül şeklindedir. KVPTK'ler ise kistik alan içermeyen, mikrokalsifikasyon bulunduran, hipoekoik nodül olarak görülmüştür. Hahn ve ark. çalışmasında NIFTP'in PTK'den farklı olarak USG'de izo-hiperekoik olduğunu, periferal halo bulundurduğunu ve mikrokalsifikasyon içermediğini göstermişlerdir (154). Brandler ve ark. NIFTP, PTK ve foliküler adenomun USG özelliklerini karşılaştırdıkları çalışmada, ultrasonografik olarak NIFTP'in foliküler adenoma benzer, PTK'den farklı özellikler gösterdiğini bildirdiler (155). Bu sonuçlar Rosario ve ark. nın elde ettiği sonuçlarla tutarlılık göstermektedir (36). Yang ve ark. ise USG ile NIFTP ve FVPTK arasında önemli farklılıklar bulmuştur. NIFTP iyi sınırlı, hipoekoik kenarları olan oval-yuvarlak şekilde olup Doppler ile çoğunlukla hipervasküler olarak izlenirken FVPTK düzensiz sınırlı Doppler'de hipervasküler görünümde oval-yuvarlak nodül olarak görülmüştür (51). Ancak Rosario ve ark. nın yaptığı başka bir çalışmada NIFTP ve FVPTK arasında USG ile belirgin bir fark görülmemiş, ikisi de hafif şüpheli sonucunu vermiştir (156).

Çalışmamızda NIFTP'lerin ortalama tümör çapı 2,1 cm, FVPTK'lerin ortalama tümör çapı 2,25 cm, KVPTK'lerin ortalama tümör çapı 1,7 cm olup olgular arasında tümör çapları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. 19 olguda tümör çapı 1 cm ve altındadır. Bu olgulardan 11 tanesi NIFTP, 6 tanesi FVPTK, 2 tanesi KVPTK'dir. NIFTP'lerin minimum ve maksimum tümör çapları 0,3 cm ve 9,5 cm'dir. NIFTP'in tanı kriterleri arasında boyutun 1 cm'nin üzerinde olması yer alırken üst sınırda bir limit bulunmamaktadır. Çeşitli çalışmalarda 4 cm'den daha büyük tümörlerin de indolent gidişat gösterdiği bildirilmiştir (13, 23, 157-160). 1 cm'nin altındaki tümörler için, tümörün iyi sınırlı olup olmadığını ve papiller yapı varlığını belirlemenin zor olabileceği öne sürülerek NIFTP tanısı koyulmaması gerektiği düşünülmektedir. Çalışmamızda 4 cm ve üstünde 9 NIFTP, 1 cm ve altında 11 NIFTP olgusu bulunmaktadır. Tümör çapı 4,5 cm olan 2 NIFTP'te sitoloji materyalinde NRASQ61X, 1 cm olan NIFTP'te KRASG12X, 1 cm olan NIFTP'te NRASQ61X mutasyonu görülmüştür. NIFTP'lerin ortalama takip süresi 63,15 ay olup takip süresi boyunca olgularda nüks ya da eksitus görülmemiştir. Ayrıca 0,7 cm olan FVPTK'de NRASQ61X, 0,7 cm olan FVPTK'de BRAFV600E, 0,6 cm ve 0,9 cm olan KVPTK'de BRAFV600E mutasyonu görülmüştür. 0,7 cm olan FVPTK'de BRAFV600E mutasyonu görülmesi üzerine olgu seri kesitlerle incelenmiş, bir odakta papiller yapı izlenmiştir. Tümör çapı 0,9 cm ve 0,6 cm olan 2 KVPTK'de lenf nodu metastazı görülürken çapı 1 cm'nin altında olan NIFTP ve FVPTK'lerde metastaz görülmemiştir. Bu sonuçlar, çapı 1 cm'nin altında olan tümörlerin çapı 1 cm'nin üzerinde olan tümörlerle benzer moleküler,

histopatolojik ve klinik özelliklere sahip olduğunu, bu nedenle NIFTP tanısı koyarken "1 cm'nin üzerinde olması" kriterinin sorgulanması gerektiğini desteklemektedir.

2016'da Nikiforov ve ark. nın çalışmasında NIFTP tanı kriterlerinden biri de papiller yapı oranının %1'in altında olmasıydı (13). Ancak papiller yapının farklı biyolojik özelliklerle ilişkili olduğu düşünülerek revize edilmiş ve hiç papiller yapı içermemesi gerektiği tanı kriterlerine eklenmiştir. Ayrıca Grade 3 nükleer özellikler ve BRAFV600E mutasyonu ve RET/PTC füzyonları gibi KVPTK'nin içerdiği mutasyonların ya da TERT mutasyonu gibi yüksek riskli mutasyonların tespiti halinde invaziv özelliklerin ve papiller yapı varlığının katı kurallarla araştırılması önerilmiştir (39). Çalışmamızda, çapı 0,7 cm olan FVPTK'nin sitoloji materyalinde BRAFV600E mutasyonu görülmesi üzerine seri kesitlerle incelenmesi sonucunda bir odakta papiller yapı izlenmesi, BRAFV600E mutasyonu ve papiller yapı birlikteliğini desteklemektedir. Cho ve ark. nın yaptığı çalışmada NIFTP tanısının papiller yapı oranının %1'in altında olması kriteri ile konulduğunda olguların %10'unda BRAFV600E mutasyonu görülmüştür. Kriter hiç papiller yapı görülmemesi şeklinde değiştirildiğinde ise BRAFV600E mutasyonu saptanmamıştır (40). Benzer şekilde, Chung ve ark. nın çalışmasında da papiller yapı içermeyen NIFTP'lerde BRAFV600E mutasyonu görülmemiştir. Ancak bu çalışmadan farklı olarak, Xu ve ark. nın 2019'da yayımladıkları çalışmada %1'in altında papiller yapı içeren NIFTP'lerde lenf nodu metastazı görülmemiştir, BRAFV600E mutasyonu ise sadece 1 olguda görülmüştür. Bu olgu %10 oranında *tall* hücreli komponent içermektedir, dolayısıyla NIFTP

kriterlerini karşılamamaktadır. Çalışmamızda 5 olgu %1'in altında papiller yapı içerdiği için foliküler patern baskın KVPTK tanısı verilmiştir. Bu 5 olgudan birinde KRASQ61X, birinde NRASQ61X, birinde BRAFV600E mutasyonu saptanmıştır. 1 olguda mutasyon görülmezken 1 olguda PCR çalışması geçersiz sonuç vermiştir. %1'in altında papiller yapı içeren 5 olgunun takip süresi 8-10 yıl arasında olup bu olgularda nüks ya da metastaz görülmemiştir. %1'in altında papiller yapı içeren, bu nedenle KVPTK kategorisine alınan olgularda nüks ve sağkalım açısından NIFTP olgularına göre anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak %1'in altında papiller yapı içeren bir olguda yüksek riskli histopatolojik ve klinik bulgularla ilişkili olan BRAFV600E mutasyonu saptanması, bu olguların KVPTK olarak tanı alması gerektiğini destekler niteliktedir.

Çalışmamızda NIFTP ve FVPTK'lerin %94'üne, KVPTK'lerin tamamına cerrahi yöntem olarak total tiroidektomi uygulanmıştır. NIFTP'lerin %27'si, FVPTK'lerin %39'u, KVPTK'lerin %58'i RAİ almıştır. RAİ alan NIFTP'lerin %76'sı 2016 yılı başı ve öncesinde tanı almış ve tedavi görmüştür. NIFTP'e tedavi olarak sadece lobektomi önerilmesine rağmen olguların tamamına yakını tiroidektomi geçirmiştir. NIFTP tanımının gelmesi ile RAİ gören hasta oranında düşüş görülmüştür. Nikiforov ve ark. nın NIFTP tanısını bildirdiği tarih olan 2016 yılı ortasına kadar eksize edilen NIFTP kriterlerini taşıyan olgular ile 2016 yılı ortasından 2020 yılına kadar tanı alan NIFTP olguları arasında RAİ görme oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır *(p=0,048).* Hormon replasmanından ve cerrahinin komplikasyonlarından kaçınmak için NIFTP tanısı

alan olgulara lobektomi uygulanmalı, RAİ verilmemelidir (8, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19).

Çalışmamızda 1 NIFTP, 3 FVPTK, 4 KVPTK'de lenf nodu metastazı, 1 FVPTK'de uzak metastaz görülmüştür. Olgu grupları arasında lenf nodu metastazı açısından anlamlı fark saptanmış olup bu farkın NIFTP ve KVPTK arasındaki farktan kaynaklandığı tespit edilmiştir *(p=0,000)*. Lenf nodu metastazı görülen NIFTP'te tiroid dokusunda ayrıca klasik ve foliküler patern oluşturan düzensiz sınırlı mikrokarsinom odakları izlenmiş ve metastatik lenf nodunda klasik patern görülmüştür. Metastazın ön planda mikrokarsinom odaklarına ait olduğu düşünülmüştür. Lenf nodu metastazı yapan FVPTK'lerden biri 1,2 cm çapta olup düzensiz sınırlıdır. Vasküler invazyon görülmemiştir. Diğeri 5,5 cm çapta olup kapsülle çevrilidir. Bu tümör kapsüler ve vasküler invazyon göstermektedir**.** Literatürde bildirilen 3 çalışmada 5 NIFTP vakasında lenf nodunda mikrometastaz görülmüştür (40, 57, 161). Ayrıca 61 adet NIFTP tanısı alan olgudan oluşan bir çalışmada lenf nodu metastazı %5 oranında görülmüş, hiç uzak metastaz görülmemiştir (23). Parente ve ark. çalışmasında ortalama 5,7 yıllık takip süresi olan NIFTP'lerden 5'inde lenf nodu metastazı, birinde akciğer metastazı bulunduğunu bildirmişlerdir (41). Cho ve ark. 2 NIFTP'te lenf nodu metastazı gördüklerini bildirdiler (40). Başka bir çalışmada lenf nodu metastazı görülen NIFTP olgusunda metastazın başka bir odağa ait olup olmadığını göstermek için tiroidin tamamına yakını örneklenmesine rağmen başka bir odak görülmemiştir (162). Enkapsüle invaziv FVPTK'lerde metastaz oranları net olarak bilinmemekle birlikte bazı gruplar tarafından %5-15 oranında olduğu bildirilmiştir. Uzak

metastaz genellikle Vİ içeren FVPTK'lerde bildirilmekle birlikte sadece Kİ içeren nadir enkapsüle FVPTK'de de bildirilmiştir (158, 163). Bu yüzden kapsüler invazyonu dışlamak için tümör tümüyle örneklenmeli, invazyon şüphesinde seri kesitler alınmalıdır.

Çalışmamızda NIFTP olgularından hiçbiri total rezeksiyondan sonra nüksetmemiştir. Nikiforov ve ark. nın çalışmasında ortalama takip süresi 13 yıl olan 109 NIFTP'ten hiçbirinde nüks görülmemiştir.(13) Bu çalışmadan önce bildirilen 352 NIFTP'ten sadece 2 tanesinde rekürrens izlenmiştir (24, 157, 158, 164-7). Bu olgulardan birinde lezyon inkomplet eksize edilmiştir. Vivero ve ark. nın yaptığı çalışmada cerrahi sınırda devamlılık gösteren 1 tane iyi sınırlı-parsiyel kapsüllü tümörde 7 yıl sonra tümör yatağında nüks görülmüştür. Bu tümöre uygulanan moleküler testler sonucunda BRAF V600E mutasyonu görülmemesi, RAS mutasyonu saptanması bu tümörün NIFTP olduğunu desteklemektedir (157).

Bilindiği gibi iyi diferansiye tiroid kanserinin prognozu çok iyi olup 5 yıllık sürvi %98,3'tür (71). Çalışmamızda bu bilgi ile tutarlı olarak NIFTP ve KVPTK'nin 5 yıllık sürvisi %100, FVPTK'nin ise %96 olarak bulunmuştur. 110 olgunun 4 tanesinde exitus görülmüş olup bu olgulardan biri FVPTK tanısından 4 ay sonra posteoperatif komplikasyonlar nedeniyle ex olmuştur. FVPTK tanısı mevcut olan 3 olgunun ölüm nedenine ulaşılamamıştır. FVPTK nedeni ile ex olduğu bilinen olguya az diferansiye tiroid karsinomu odakları eşlik etmektedir. NIFTP ve KVPTK olgularında exitus görülmemiştir. İstatistiksel olarak tümör tipi ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmış olmakla birlikte *(p=0,005)* 3 olgunun eksitus nedeninin bilinmemesi, FVPTK nedeni ile eks olan olguda az

diferansiye karsinom alanlarının bulunması ve ölüm nedeninin postoperatif komplikasyonlar olması nedeniyle tümör tipi ve sağkalım arasındaki istatistiksel sonuç suboptimal olarak değerlendirilmiştir.

NIFTP sitolojide Bethesda'nın 6 kategorisinden herhangi birinde tanı alabilmekle birlikte sıklıkla belirsiz kategoriler olarak tanımlanan AUS/FLUS, FN/FNŞ, MŞ tanısı almaktadır (44-48, 50-55). Çalışmamızda NIFTP en sık AUS/FLUS tanısı alırken FVPTK AUS/FLUS, FN/FNŞ, MŞ, PTK kategorilerinde benzer sıklıklarda tanı almıştır. Rezeksiyon ve sitoloji materyalinde FVPTK da nükleer membran düzensizlikleri, şeffaflanma, psödoinklüzyonlar ve çentiklenmelerle karakterli daha diffüz ve aşikar nükleer atipi görülürken NIFTP olgularında nükleer grade daha düşük oranda görülmüştür. Olgu grupları arasında sitoloji tanısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,000). İstatistiksel anlamlılığın NIFTP ve FVPTK ile NIFTP ve KVPTK arasındaki farktan kaynaklandığı anlaşılmıştır. Bu bulgular İbrahim ve ark. nın yaptığı çalışma ile uyumluluk göstermektedir (47). Paulson ve ark. nın yaptığı çalışmada aspirasyonda belirsiz tanı alan karsinomların %63'ünün NIFTP olduğu düşünülmüştür (175). Çalışmamızda benzer şekilde belirsiz tanı alan sitolojilerin %70'i (57/81) rezeksiyonda NIFTP tanısı almıştır. Maletta ve ark. nın yaptığı çalışmada NIFTP ve FVPTK olguları arasında sitolojik atipi bakımından anlamlı fark bulunmamıştır (48). Bazı otörler sitoloji materyalinde malign tanısının papiller yapı, psammom cismi, sık psödoinklüzyon görüldüğünde verilmesini önermektedir (43). Bu durum malign aspirasyon tanısı alan NIFTP

sayısını azaltacaktır, ancak nadir NIFTP olgusunda belirtilen bulguların görülebilmesi nedeniyle tamamen ortadan kaldırmayacaktır.

Çalışmamızda NIFTP olgularının aspirasyonlarında en sık NRAS-Q61X mutasyonu görülmüştür. İkinci sıklıkta KRAS geninde mutasyon izlenmiştir. BRAFV600E mutasyonu görülmemiştir. 4 FVPTK'de BRAFV600E, 4 FVPTK'de NRAS, 2 FVPTK'de KRAS mutasyonu görülmüştür. 5 KVPTK'de BRAFV600E, 1 KVPTK'de NRAS mutasyonu izlenmiştir. KRAS ve NRAS mutasyon durumu ve tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla, p=0,723 ve p=0,289). KVPTK ve FVPTK arasında BRAF mutasyonu durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (p=0,000). Moleküler olarak NIFTP olgularının yüksek oranda RAS ve PAX8/PPARgama mutasyonlarını barındırdığı, ancak genellikle yüksek riskli histopatolojik özelliklerle ilişkili olan BRAFV600E mutasyonu içermediği gösterilmiştir. Buna karşılık infiltratif büyüme gösteren FVPTK'lerde önemli oranda lenf nodu metastazı, rekürrens ve yüksek oranda BRAFV600E mutasyonu saptanmıştır (8, 11, 13, 21, 22, 23). Çalışmamızda NIFTP kriterlerini karşılayan ancak 2011'de eksize edildiği için tümör kapsülünün tamamının örneklenmediği, bu nedenle gri kategoriye konulan 1 olguda BRAFV600E mutasyonu görülmüştür. Bu durum ayrıntılı makroskopik ve mikroskobik incelemenin önemini ortaya koymaktadır. Cho ve ark. nın yaptığı bir çalışmada BRAFV600E mutasyonu içeren NIFTP olgularının %1'den az oranda papiller yapı içerdiği görülmüştür (40). Lee ve ark. nın yaptığı çalışmada bu durum tam olarak desteklenmemekte olup BRAFV600E mutasyonu olan tümörlerin %29'u NIFTP

tanısı almıştır (169). BRAFV600E mutasyonu görülen NIFTP olgularında genel olarak belirgin psödoinklüzyon varlığı gibi yüksek nükleer dereceyi gösteren histolojik özellikler görülmektedir. Bu nedenle grade 3 nükleer özellikler ve BRAFV600E mutasyonu görülmesi durumunda kapsüler ya da lenfovasküler invazyonu dışlamak için tümör kapsülüyle birlikte tamamen örneklenmelidir. Ayrıca papiller yapı, anormal patern, mitoz ve nekroz olmadığını göstermek için nodülden santrali de içerecek şekilde çok sayıda örnek almak gereklidir (39).

Çalışmamızda BRAF mutasyonu görülen 10 olgudan 2'si sitoloji materyalinde AUS/FLUS, 8'i malign tanı almıştır. Diğer kategorilerde mutasyon görülmemiştir. AUS/FLUS ve malign sitoloji tanısı alan olgular arasında BRAF mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmıştır *(p=0,004).* Bellevicine ve ark. çalışmasında daha yüksek malignite risk oranlarına sahip olan MŞ ve malign sitoloji kategorilerinde BRAFV600E mutasyonunun daha yüksek oranda bulunduğunu bildirmişlerdir (2). Tiroid aspirasyon sitolojilerine BRAFV600E mutasyon testinin uygulandığı 47 çalışmanın incelendiği bir çalışmada testin duyarlılığı %39-64 olarak hesaplanmıştır (177). 6 çalışmada belirsiz kategoride BRAFV600E mutasyon testinin duyarlılığı %6-56 aralığında hesaplanmıştır (177). Çalışmamızda NRAS mutasyonu görülen 20 olgudan 8'i AUS/FLUS, 6'sı FN/FNŞ, 5'i MŞ, 1'i malign sitoloji tanısı almıştır. Kategoriler arasında NRAS mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmamıştır *(p=0,11).* KRAS mutasyonu görülen 6 olgudan 2'si AUS/FLUS, 1'i FN/FNŞ, 1'i MŞ, 2'si malign sitoloji tanısı almıştır. Kategoriler arasında KRAS mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmamıştır *(p=0,983).* Yapılan çalışmalarda belirsiz kategoride

tanı alan ince iğne aspirasyonlarında en sık görülen mutasyon çalışmamızda olduğu gibi RAS mutasyonudur. Nikiforov ve ark. nın yaptığı çalışmalarda RAS mutasyonu AUS/FLUS ve FN/FNŞ tanısı alan nodüllerin yaklaşık yarısında saptanmıştır (66, 171). NIFTP tanımının kabulünden önce yapılan çalışmalara tiroid tümörleri arasında RAS mutasyonu %12 ile %100 arasında saptanmıştı (66, 171-174). Klinik ve ultrasonografik olarak düşük riske sahip RAS pozitif tümörlere lobektomi ya da hemitiroidektomi uygulanması önerilmektedir (8). Bunun yanısıra RAS mutasyonunun sadece indolent tümörlerde değil, az diferansiye tiroid karsinomu, anaplastik tiroid karsinomu gibi daha az görülen daha agresif tümörlerde (sırasıyla %50 ve %25 oranlarında) görülebileceği de unutulmamalıdır (176). Çalışmamızda az diferansiye komponentin eşlik ettiği 3 FVPTK'de RAS mutasyonu saptanmamıştır. Ancak değerlendirmenin daha büyük olgu gruplarında yapılması daha doğru olacaktır.

Rezeksiyon materyalinde NIFTP tanısı alan olguların sitoloji materyalinde BRAF mutasyonu saptanmaması ve AUS/FLUS ve malign tanısı alan olgular arasında BRAF mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanması, sitoloji materyaline BRAF mutasyon testinin uygulanmasının cerrahiyi yönlendirmede anlamlı olabileceğini göstermektedir.

Moleküler testlerin uygulanması bağımsız bir test olarak düşünülmemeli, hastanın klinik ve görüntüleme verileriyle entegre edilecek yardımcı bir yöntem olarak düşünülmelidir. Klinik risk faktörleri, USG bulguları, uygulanabilirlik ve hasta tercihi, moleküler testlerle ilgili karar vermede dikkate alınması gereken bazı faktörlerdir. Ameliyat endikasyonu moleküler test sonucuna bağlı değilse,

test sonucu tedavi kararını değiştirmeyecekse, moleküler testlerle devam etmek yararlı ve maliyet etkin değildir (1, 15). Ayrıca tüm moleküler testler için doğrulama, fayda ve maliyet etkinliği çalışmalarına ihtiyaç vardır (101).

Çalışmanın kısıtlılıkları retrospektif bir çalışma olması nedeniyle NIFTP kriterlerini karşılayan 3 olgunun kapsülünün tamamının örneklenmemiş olması, eks olan olguların ölüm nedenleri ve zamanlarının bilinmemesi, aspirasyon materyali yetersiz olgu sayısının çokluğu nedeniyle olguların seçilmesi sırasında olgu grupları arasında meydana gelen sayısal eşitsizliktir. Ayrıca merkezimizde uygulanan radikal tedaviler takiplerde net verilere ulaşılmasını zorlaştıran etkenlerdendir.

6. SONUÇLAR

1. NIFTP, FVPTK, KVPTK arasında ortalama yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark bulunmamaktadır.
2. NIFTP olguları ultrasonografik olarak düşük derecede şüpheli bulgular verirken FVPTK ve KVPTK yüksek derecede riskli bulgular vermiştir.
3. NIFTP, FVPTK ve KVPTK arasında tümör çapı ve tümör yerleşim yeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.
4. Rezeksiyon materyalinde NIFTP tanısı alan olguların büyük çoğunluğu sitoloji materyalinde (%56 oranında) AUS/FLUS tanısı almıştır. FVPTK tanısı alan olgular ise en sık malign kategoride (%32) tanı almış, AUS/FLUS (%23), FN/FNŞ (%23), MŞ (%19) kategorilerinde benzer oranlarda tanı almıştır. KVPTK'lerin %67'si aspirasyon materyalinde malign sitoloji tanısı almıştır NIFTP, FVPTK ve KVPTK arasında sitoloji tanısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu fark, NIFTP-FVPTK ve NIFTP-KVPTK arasındaki farktan kaynaklanmaktadır.
5. Tüm olgularda çevre tiroid parankiminde en sık eşlik eden patoloji nodüler guatr ve kronik lenfositik tiroidit olup olgu grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.
6. NIFTP'lerden 15 olguda (%30) NRAS, 4 olguda (%7) KRAS geninde mutasyon görülmüştür. BRAF mutasyonu saptanmamıştır. FVPTK'lerden 4 olguda (%15) BRAFV600E, 4 olguda (%15) NRAS, 1 olguda (%3) KRAS mutasyonu görülmüştür. KVPTK'lerden 5 olguda BRAFV600E, 1 olguda NRAS, 1 olguda KRAS mutasyonu görülmüştür. Tümör tipleri arasında

BRAF mutasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. Bu fark, sitolojide BRAF mutasyon incelemesinin cerrahiye yön verebileceğini destekler niteliktedir. Buna karşın KRAS ve NRAS mutasyon durumu ve tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

7. NIFTP kriterlerini karşılayan ancak kapsülü tamamıyla örneklenmediği için gri kategoriye alınan bir olguda BRAFV600E mutasyonu saptanması makroskopik örneklemenin katı kurallar çerçevesinde yapılmasını desteklemektedir.
8. 0,7 cm çapta bir FVPTK'de BRAFV600E mutasyonu görülmesi üzerine yapılan seri kesitlerde papiller yapı görülmesi, tanı koymada seri kesitlerin önemini ortaya koymaktadır.
9. %1'in altında papiller yapı içeren, bu nedenle foliküler patern baskın KVPTK tanısı alan bir olguda BRAFV600E mutasyonu saptanması, 2017 WHO endokrin tümörler sınıflandırmasında NIFTP tanı kriterlerinden biri olan %1'in altında papiller yapı görülmesi kriterinin revize edilerek hiç papiller yapı görülmemesi olarak değiştirilmesini desteklemektedir.
10. Rezeksiyon materyalinde NIFTP tanısı alan olguların sitoloji materyalinde BRAF mutasyonu saptanmamıştur. Ayrıca AUS/FLUS ve malign tanısı alan olgular arasında BRAF mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmıştır. Bu fark, BRAF mutasyon testinin Bethesda raporlama sistemine göre belirsiz kategoride tanı alan olgularda cerrahiyi yönlendirmede anlamlı olabileceğini göstermektedir.

11. Sitolojik tanı kategorileri arasında NRAS ve KRAS mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanmamıştır.
12. KVPTK'lerin tamamına, NIFTP ve FVPTK'lerin ise tamamına yakınına cerrahi yöntem olarak total tiroidektomi uygulanmıştır. NIFTP'lerin %27, FVPTK'lerin %39'u, KVPTK'lerin %58'i RAİ almıştır. RAİ alan NIFTP'lerin %76'sı 2017 yılına kadar FVPTK tanısı almış ve bu tanıya yönelik tedavi görmüştür. NIFTP tanısının WHO'ya girmesinden sonra radikal tedavi oranı azalmıştır.
13. 1 NIFTP, 3 FVPTK, 4 KVPTK'de lenf nodu metastazı saptanmıştır. Lenf nodu metastazı bulunan NIFTP olgusunda tiroid dokusunda ayrıca klasik ve foliküler patern oluşturan düzensiz sınırlı mikrokarsinom odakları izlenmiş ve metastatik lenf nodunda klasik patern görülmüştür. Bu nedenle lenf nodu metastazının NIFTP'e değil eşlik eden mikrokarsinom odaklarına ait olduğu düşünülmüştür.
14. 110 olgunun 4 tanesinde exitus görülmüş olup bu olguların FVPTK tanısı mevcuttur. Tümör tipleri arasında sağkalım açısından anlamlı fark saptanmıştır. Ancak eks olan olgulardan sadece biri tiroid tümörü nedeniyle eks olmuştur. Bu olguya az diferansiye tiroid karsinomu alanlarının eşlik etmesi, olguda postoperatif komplikasyonlar gelişmesi ve olgunun tanı anında ileri evre olmasının sağkalımı olumsuz etkilediği düşünülmüştür. Diğer 3 olgunun ölüm nedenleri bilinmemekle birlikte 2 olguda eş zamanlı lenfoma tanısının bulunmasının sağkalımı etkilediği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. Thyroid 2016;26:1-133.
2. Bellevicine C, Migliatico I, Sgariglia R, Nacchio M, Vigliar E, Pisapia P, et al. Evaluation of BRAF, RAS, RET/PTC, and PAX8/PPARg alterations in different Bethesda diagnostic categories: A multicentric prospective study on the validity of the 7-gene panel test in 1172 thyroid FNAs deriving from different hospitals in South Italy. Cancer Cytopathol. 2020 Feb;128(2):107-118.
3. Nagarajan N, Schneider EB, Ali SZ, Zeiger MA, Olson MT. How do liquid-based preparations of thyroid fine-needle aspiration compare with conventional smears? An analysis of 5475 specimens. Thyroid. 2015 Mar;25(3):308-13.
4. Yassa L, Cibas ES, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Gawande AA, et al. Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. Cancer. 2007 Dec 25;111(6):508-16.
5. Gharib H, Goellner JR, Johnson DA. Fine-needle aspiration cytology of the thyroid. A 12-year experience with 11,000 biopsies. Clin Lab Med. 1993 Sep;13(3):699-709.
6. Fadda G, Rossi ED. Liquid-based cytology in fine-needle aspiration biopsies of the thyroid gland. Acta Cytol. 2011;55(5):389-400.
7. Rana C, Vuong HG, Nguyen TQ, Nguyen HC, Jung CK, Kakudo K, et al. The incidence of noninvasive follicular neoplasm with papillary like nuclear features: A meta-analysis assessing worldwide impact of the reclassification. Thyroid. 2021 Jun 1. doi: 10.1089/thy.2021.0158.
8. Nikiforov YE. Ramifications of New Terminology for Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma-Reply. JAMA Oncol. 2016 Aug 1;2(8):1098-9.
9. Rossi ED, Pantanowitz L, Faquin WC. The Role of Molecular Testing for the Indeterminate Thyroid FNA. Genes (Basel). 2019;10(10):736.
10. Ali SZ, Cibas ES. editors. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Definitions, criteria and explanatory notes. New York: Springer, 2010.
11. Syed Z. Ali, Edmund S. Cibas (Eds). The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology 2nd ed.Switzerland, Springer, 2018
12. Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Thyroid. 2017 Nov;27(11):1341-1346.
13. Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, Baloch ZW, Basolo F, Thompson LD, et al. Nomenclature Revision for Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: A Paradigm Shift to Reduce Overtreatment of Indolent Tumors. JAMA Oncol. 2016 Aug 1;2(8):1023-9.
14. Baloch Z, LiVolsi VA. Fifty years of thyroid pathology: concepts and developments. Hum Pathol. 2020 Jan;95:46-54.
15. Patel KN, Yip L, Lubitz CC, Grubbs EG, Miller BS, Shen W, et al. The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for the Definitive

Surgical Management of Thyroid Disease in Adults. Ann Surg. 2020 Mar;271(3):e21-e93.
16. Amendoeira I, Maia T, Sobrinho-Simões M. Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): impact on the reclassification of thyroid nodules. Endocr Relat Cancer. 2018 Apr;25(4):R247-R258.
17. Wong KS, Barletta JA. Thyroid Tumors You Don't Want to Miss. Surg Pathol Clin. 2019 Dec;12(4):901-919.
18. Seethala RR, Baloch ZW, Barletta JA, Khanafshar E, Mete O, Sadow PM, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: a review for pathologists. Mod Pathol. 2018;31:39-55.
19. Rossi ED, Faquin WC, Baloch Z, Fadda G, Thompson L, Larocca LM, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): update and diagnostic considerations-a review. Endocr Pathol. 2019;30: 155-62
20. Bongiovanni M, Bellevicine C, Troncone G, Sykiotis GP. Approach to cytological indeterminate thyroid nodules. Gland Surg. 2019;8(Suppl 2):S98-S104.
21. Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a meta-analysis. Acta Cytol 2012; 56:333–9.
22. Sheffield BS, Masoudi H, Walker B, Wiseman SM. Preoperative diagnosis of thyroid nodules using the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: a comprehensive review and meta-analysis. Expert Rev Endocrinol Metab 2014; 9: 97–110.
23. Liu J, Singh B, Tallini G, Carlson DL, Katabi N, Shaha A, et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic study of a problematic entity. Cancer 2006; 107; 1255–1264.
24. Piana S, Frasoldati A, Di Felice E, Gardini G, Tallini G, Rosai J. Encapsulated well-differentiated follicular-patterned thyroid carcinomas do not play a significant role in the fatality rates from thyroid carcinoma. Am. J. Surg. Pathol. 2010; 34; 868–872.
25. Rivera M, Ricarte-Filho J, Knauf J, Shaha A, Tuttle M, Fagin JA, et al. Molecular genotyping of papillary thyroid carcinoma follicular variant according to its histological subtypes (encapsulated vs infiltrative) reveals distinct BRAF and RAS mutation patterns. Mod. Pathol. 2010;23; 1191–1200.
26. Lau RP, Paulsen JD, Brandler TC, Liu CZ, Simsir A, Zhou F. Impact of the Reclassification of "Noninvasive Encapsulated Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma" to "Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm With Papillary-Like Nuclear Features" on the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: A Large Academic Institution's Experience. Am J Clin Pathol. 2017 Dec 20;149(1):50-54.
27. Goldblum JR, Lamps LW, McKenny J, et al, eds. Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology. 11th ed. Cambridge, MA:Elsevier, 2018
28. Mills SE. Histology for Pathologists. 4th ed. Philadelphia: PA Lippincott Wiliams & Wilkins, 2012

29. https://www.britannica.com/science/thyroid-gland
30. Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J. WHO classification of tumours of endocrine organs (IARC WHO classification of tumours). 4th ed. Lyon: IARC Press, 2017
31. https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf
32. Richard C, Debreuve-Theresette A, Patey M, Brabencova E, Filieri C, Zalzali M, et al. Long-term progression of non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: A single-center retrospective study of the French Marne-Ardennes thyroid cancer registry. Ann Endocrinol (Paris). 2020 Feb;81(1):34-38.
33. Jung CK, Little MP, Lubin JH, Brenner AV, Wells SA Jr, Sigurdson AJ, et al. The increase in thyroid cancer incidence during the last four decades is accompanied by a high frequency of BRAF mutations and a sharp increase in RAS mutations. J Clin Endocrinol Metab. 2014 Feb;99(2):E276-85.
34. Faquin WC, Wong LQ, Afrogheh AH, Ali SZ, Bishop JA, Bongiovanni M, et al. Impact of reclassifying noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on the risk of malignancy in the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Cancer Cytopathol 2016; 124: 181–7.
35. Strickland KC, Howitt BE, Marqusee E, Alexander EK, Cibas ES, Krane JF, et al. The impact of noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on rates of malignancy for fine-needle aspiration diagnostic categories. Thyroid 2015; 25:987–92.
36. Rosario PW, Mourão GF, Nunes MB, Nunes MS, Calsolari MR. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features. Endocr Relat Cancer 2016; 23: 893–7.
37. Xu B, TalliniG, Ghossein RA. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features: historical context, diagnosis and Future Challenges Endocr Pathol. 2017;28:128-38.
38. Xu B, Ghossein R. Evolution of the histologic classification of thyroid neoplasms and its impact on clinical management. Eur J Surg Oncol. 2017;44:338-47.
39. Nikiforov YE, Baloch ZW, Hodak SP, Giordano TJ, Lloyd RV, Seethala RR, et al. Change in Diagnostic Criteria for Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm With Papillarylike Nuclear Features. JAMA Oncol. 2018 Aug 1;4(8):1125-1126.
40. Cho U, Mete O, Kim MH, Bae JS, Jung CK. Molecular correlates and rate of lymph node metastasis of non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features and invasive follicular variant papillary thyroid carcinoma: the impact of rigid criteria to distinguish non-invasive follicular thyroid neoplasmwith papillary-like nuclear features. Mod Pathol. 2017;30:810-25.
41. Parente DN, Kluijfhout WP, Bongers PJ, Verzijl R, Devon KM, Rotstein LE, et al. Clinical safety of renaming encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: is NIFTP truly benign? World J Surg. 2018;42(2):321-326.
42. Rivera M, Tuttle RM, Patel S, Shaha A, Shah JP, Ghossein RA. Encapsulated papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic study of 106 cases with emphasis on its morphologic subtypes (histologic growth pattern). Thyroid 2009; 19;119–127.

43. Hung YP, Barletta JA. A user's guide to non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP). Histopathology 2018;72:53-69.
44. Bizzarro T, Martini M, Capodimonti S, Straccia P, Lombardi CP, Pontecorvi A, et al. Young investigator challenge: the morphologic analysis of noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features on liquid-based cytology: some insights into their identification. Cancer 2016; 124; 699–710.
45. Brandler TC, Zhou F, Liu CZ, Cho M, Lau RP, Simsir A, et al. Can noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features be distinguished from classic papillary thyroid carcinoma and follicular adenomas by fine-needle aspiration? Cancer 2017; 125;378–388.
46. Howitt BE, Chang S, Eszlinger M, Paschke R, Drage MG, Krane JF, et al. Fine-needle aspiration diagnoses of noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Am. J. Clin. Pathol. 2015; 144; 850–857.
47. Ibrahim AA, Wu HH. Fine-needle aspiration cytology of noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma is cytomorphologically distinct from the invasive counterpart. Am. J. Clin. Pathol. 2016; 146; 373–377.
48. Maletta F, Massa F, Torregrossa L, Duregon E, Casadei GP, Basolo F, et al. Cytological features of 'noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features' and their correlation with tumor histology. Hum. Pathol. 2016; 54; 134–142.
49. Ng D, Can NT, Ma ZV, van Zante A, Ljung B, Khanafshar E. Cytomorphologic features of noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): a comparison with infiltrative follicular variant of papillary thyroid carcinoma. J. Basic Clin. Med. 2017; 6; 51–56.
50. Zhao L, Dias-Santagata D, Sadow PM, Faquin WC. Cytological, molecular, and clinical features of noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features versus invasive forms of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Cancer 2017; 125; 323–331.
51. Yang GCH, Fried KO, Scognamiglio T. Sonographic and cytologic differences of NIFTP from infiltrative or invasive encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a review of 179 cases. Diagn. Cytopathol. 2017; 45;533–541.
52. Canberk S, Gunes P, Onenerk M, Erkan M, Kilinc E, Kocak Gursan N, et al. New concept of the encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma and its impact on the bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a single-institute experience. Acta Cytol. 2016; 60; 198–204.
53. Faquin WC, Wong LQ, Afrogheh AH, Ali SZ, Bishop JA, Bongiovanni M, et al. Impact of reclassifying noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on the risk of malignancy in the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Cancer Cytopathol. 2016; 124; 181–187.
54. Strickland KC, Howitt BE, Marqusee E, Alexander EK, Cibas ES, Krane JF, et al. The impact of noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on rates of malignancy for fine-needle aspiration diagnostic categories. Thyroid 2015; 25; 987–992.

55. Rosario PW. Ultrasonography and cytology as predictors of noninvasive follicular thyroid (NIFTP) neoplasm with papillary- like nuclear features: importance of the differential diagnosis with the invasive encapsulated follicular variant of papillary thyroid cancer. Clin. Endocrinol. (Oxf) 2017.
56. Baloch ZW, Seethala RR, Faquin WC, Papotti MG, Basolo F, Fadda G, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP): a changing paradigm in thyroid surgical pathology and implications for thyroid cytopathology. Cancer Cytopathol. 2016;124:616-20.
57. Jiang XS, Harrison GP, DattoMB. Young investigator challenge: molecular testing in noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary like nuclear features. Cancer. 2016;124:893-900.
58. Basolo F, Macerola E, Ugolini C, Poller DN, Baloch Z. The molecular landscape of noninvasive follicular thyroid neoplasmwith papillary-like nuclear features (NIFTP): a literature review. Adv Anat Pathol. 2017;24:252-8.
59. Borrelli N, Denaro M, Ugolini C, Poma AM, Miccoli M, Vitti P, et al. miRNA expression profiling of 'noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features' compared with adenomas and infiltrative follicular variants of papillary thyroid carcinomas. Mod. Pathol. 2017; 30; 39–51.
60. Legesse T, Parker L, Heath J, Staats PN. Distinguishing non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) from classic and invasive follicular-variant papillary thyroid carcinomas based on cytologic features. J Am Soc Cytopathol. 2019 Jan-Feb;8(1):11-17.
61. Rossi ED, Papotti M, Faquin W, Larocca LM, Pantanowitz L. The Diagnosis of Hyalinizing Trabecular Tumor: A Difficult and Controversial Thyroid Entity. Head Neck Pathol. 2020 Sep;14(3):778-784.
62. Papotti M, Riella P, Montemurro F, Pietribiasi F, Bussolati G. Immunophenotypic heterogeneity of hyalinizing trabecular tumours of the thyroid. Histopathology. 1997;31(6):525–33. 41.
63. Papotti M, Volante M, Giuliano A, Fassina A, Fusco A, Bussolati G, Santoro M, Chiappetta G. RET/PTC activation in hyalinizing trabecular tumors of the thyroid. Am J Surg Pathol. 2000;24(12):1615–21. 42.
64. Salvatore G, Chiappetta G, Nikiforov YE, Decaussin-Petrucci M, Fusco A, Carney JA, Santoro M. Molecular profle of hyalinizing trabecular tumours of the thyroid: high prevalence of RET/PTC rearrangements and absence of B-RAF and N-RAS point mutations. Eur J Cancer. 2005;41(5):816–21. 43.
65. Sheu SY, Vogel E, Worm K, Grabellus F, Schwertheim S, Schmid KW. Hyalinizing trabecular tumour of the thyroid-diferential expression of distinct miRNAs compared with papillary thyroid carcinoma. Histopathology. 2010;56(5):632–40. 44.
66. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, et al. Highly accurate diagnosis of cancer in thyroid nodules with follicular neoplasm/ suspicious for a follicular neoplasm cytology by ThyroSeq v2 next-generation sequencing assay. Cancer. 2014;120:3627–34.
67. Nikiforova MN, Nikitski AV, Panebianco F, Kaya C, Yip L, Williams M, Chiosea SI, et al. GLIS rearrangement is a genomic hallmark of hyalinizing trabecular tumor of the thyroid gland. Thyroid. 2019;29:161–73.

68. Belge G, Roque L, Soares J, Bruckmann S, Thode B, Fonseca E, et al. Cytogenetic investigations of 340 thyroid hyperplasias and adenomas revealing correlations between cytogenetic findings and histology. Cancer Genet Cytogenet. 1998 Feb;101(1):42-8.
69. Teyssier JR, Liautaud-Roger F, Ferre D, Patey M, Dufer J. Chromosomal changes in thyroid tumors. Relation with DNA content, karyotypic features, and clinical data. Cancer Genet Cytogenet. 1990 Dec;50(2):249-63.
70. Fletcher CDM, ed. Diagnostic Histopathology of Tumours. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone Elsevier; 2007. Modified with permission. © Elsevier.
71. SEER Cancer Stat Facts. Thyroid cancer.Bethesda, MD: National Cancer Institute, https://seer.cancer.gov/statfacts/html/thyro.html
72. Szporn AH, Yuan S, Wu M, Burstein DE. Cellular swirls in fine needle aspirates of papillary thyroid carcinoma: a new diagnostic criterion. Mod Pathol.2006 Nov;19(11):1470-3.
73. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. Cell. 2014 Oct 23;159(3):676-90.
74. Strickland KC, Vivero M, Jo VY, Lowe AC, Hollowell M, Qian X, et al. Preoperative cytologic diagnosis of noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary- like nuclear features: a prospective analysis. Thyroid 2016; 26; 1466–1471
75. Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, Diorio D, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: Biological significance and diagnostic utility. J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93: 1600-8
76. Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. Head Neck Pathol. 2011; 5: 51-6.
77. Ravella L, Lopez J, Descotes F, Giai J, Lapras V, Denier ML, et al. Preoperative Role of RAS or BRAF K601E in the Guidance of Surgery for Indeterminate Thyroid Nodules. World J Surg. 2020 Jul;44(7):2264-2271.
78. Torregrossa L, Viola D, Sensi E, Giordano M, Piaggi P, Romei C et al. Papillary thyroid carcinoma with rare Exon 15 BRAF mutation has indolent behavior: a single-institution experience. J Clin Endocrinol Metab. 2016; 101(11):4413–4420
79. Afkhami M, Karunamurthy A, Chiosea S, Nikiforova MN, Seethala R, Nikiforov YE, et al. Histopathologic and clinical characterization of thyroid tumors carrying the BRAFK601E mutation. Thyroid. 2016; 26(2):242–247
80. Daniels GH. Follicular Thyroid Carcinoma: A Perspective. Thyroid. 2018; Oct;28(10):1229-1242.
81. Wreesmann VB, Nixon IJ, Rivera M, Katabi N, Palmer F, Ganly I, et al. Prognostic value of vascular invasion in well-differentiated papillary thyroid carcinoma. Thyroid. 2015; 25:503–508.
82. Ito Y, Hirokawa M, Masuoka H, Yabuta T, Fukushima M, Kihara M, et al. Distant metastasis at diagnosis and large tumor size are significant prognostic factors of widely invasive follicular thyroid carcinoma. Endocr J. 2013; 60:829–833.

83. Efanov AA, Brenner AV, Bogdanova TI, Kelly LM, Liu P, Little MP, et al. Investigation of the relationship between radiation dose and gene mutations and fusions in post-Chernobyl thyroid cancer. JNatl Cancer Inst. 2018; 110:371–378.
84. Nikiforov YE. Molecular diagnostics of thyroid tumors. Arch Pathol Lab Med. 2011; 135:569–577.
85. Yakushina VD, Lerner LV, Lavrov AV. Gene fusions in thyroid cancer. Thyroid. 2018; 28:158–167. Liu D, Yang C, Bojdani E, Murugan AK, Xing M. Identification of RASAL1 as a major tumor suppressorngene in thyroid cancer. J Natl Cancer Inst. 2013; 105:1617–1627.
86. Liu D, Yang C, Bojdani E, Murugan AK, Xing M. Identification of RASAL1 as a major tumor suppressor gene in thyroid cancer. J Natl Cancer Inst. 2013; 105:1617–1627.
87. Gasparre G, Porcelli AM, Bonora E, Pennisi LF, Toller M, Iommarini L, et al. Disruptive mitochondrial DNA mutations in complex I subunits are markers of oncocytic phenotype in thyroid tumors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 May 22;104(21):9001-6.
88. Corver WE, Ruano D, Weijers K, den Hartog WC, van Nieuwenhuizen MP, de Miranda N, et al. Genome haploidisation with chromosome 7 retention in oncocytic follicular thyroid carcinoma. PLoS One. 2012;7(6):e38287.
89. Ganly I, Ricarte Filho J, Eng S, Ghossein R, Morris LG, Liang Y, et al. Genomic dissection of Hürthle cell carcinoma reveals a unique class of thyroid malignancy. J Clin Endocrinol Metab. 2013; 98:E962–972.
90. Volante M, Bussolati G, Papotti M. The story of poorly differentiated thyroid carcinoma: From Langhans'description to the Turin proposal via Juan Rosai. SeminDiagn Pathol. 2016; 33:277–283.
91. Asioli S, Erickson LA, Righi A, Jin L, Volante M, Jenkins S, et al. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid: validation of the Turin proposal and analysis of IMP3 expression. Mod Pathol. 2010 Sep;23(9):1269-78.
92. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R, et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. Am J Surg Pathol. 2007; 31:1256–1264.
93. Ibrahimpasic T, Ghossein R, Shah JP, Ganly I. Poorly Differentiated Carcinoma of the Thyroid Gland: Current Status and Future Prospects. Thyroid. 2019 Mar;29(3):311-321.
94. Landa I, Ibrahimpasic T, Boucai L, Sinha R, Knauf JA, Shah RH, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers. J Clin Invest. 2016 126:1052–1066
95. Fagin JA, Wells SA Jr. Biologic and clinical perspectives on thyroid cancer. New Engl J Med. 2016; 375:1054– 1067.
96. Gerber TS, Schad A, Hartmann N, Springer E, Zechner U, Musholt TJ. Targeted next-generation sequencing of cancer genes in poorly differentiated thyroid cancer. Endocr Connect. 2018; 7:47–55.
97. Sykorova V, Dvorakova S, Vcelak J, Vaclavikova E, Halkova T, Kodetova D, et al. Search for new genetic biomarkers in poorly differentiated and anaplastic

thyroid carcinomas using next generation sequencing. Anticancer Res. 2015; 35:2029–2036.
98. Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, Durso MB, Nikiforov YE. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations in thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2013; 98:E1852–1860.
99. Lin B, Ma H, Ma M, Zhang Z, Sun Z, Hsieh IY, et al: The incidence and survival analysis for anaplastic thyroid cancer: A SEER database analysis. Am J Transl Res. 2019; 11:5888-5896.
100. Gilliland FD, Hunt WC, Morris DM, Key CR. et al: Prognostic factors for thyroid carcinoma. A population-based study of 15,698 cases from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) program 1973-1991. Cancer 79:564-573, 1997
101. Besic N, Hocevar M, Zgajnar J, Pogacnik A, Grazio-Frkovic S, Auersperg M. Prognostic factors in anaplastic carcinoma of the thyroid-a multivariate survival analysis of 188 patients. Langenbecks Arch Surg. 2005 Jun;390(3):203-8.
102. Baloch Z, LiVolsi VA. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytology (TBSRTC): From look-backs to look-ahead. Diagn Cytopathol. 2020 Oct;48(10):862-866.
103. Baloch ZW, LiVolsi VA, Asa SL, Rosai J, Merino MJ, Randolph G, et al. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. Diagn Cytopathol. 2008 Jun;36(6):425-37.
104. Lee MJ, Kim EK, Kwak JY, Kim MJ. Partially cystic thyroid nodules on ultrasound: probability of malignancy and sonographic differentiation. Thyroid. 2009 Apr;19(4):341-6.
105. García-Pascual L, Barahona MJ, Balsells M, del Pozo C, Anglada-Barceló J, Casalots-Casado J, et alJ. Complex thyroid nodules with nondiagnostic fine needle aspiration cytology: histopathologic outcomes and comparison of the cytologic variants (cystic vs. acellular). Endocrine. 2011 Feb;39(1):33-40.
106. Kiernan CM, Broome JT, Solórzano CC. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a single-center experience over 5 years. Ann Surg Oncol. 2014 Oct;21(11):3522-7.
107. Naïm C, Karam R, Eddé D. Ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: methods to decrease the rate of unsatisfactory biopsies in the absence of an on-site pathologist. Can Assoc Radiol J. 2013 Aug;64(3):220-5.
108. Chehade JM, Silverberg AB, Kim J, Case C, Mooradian AD. Role of repeated fine-needle aspiration of thyroid nodules with benign cytologic features. Endocr Pract. 2001 Jul-Aug;7(4):237-43.
109. Durante C, Costante G, Lucisano G, Bruno R, Meringolo D, Paciaroni A, et al. The natural history of benign thyroid nodules. JAMA. 2015 Mar 3;313(9):926-35.
110. Illouz F, Rodien P, Saint-André JP, Triau S, Laboureau-Soares S, Dubois S, et al. Usefulness of repeated fine-needle cytology in the follow-up of non-operated thyroid nodules. Eur J Endocrinol. 2007 Mar;156(3):303-8.

111. Oertel YC, Miyahara-Felipe L, Mendoza MG, Yu K. Value of repeated fine needle aspirations of the thyroid: an analysis of over ten thousand FNAs. Thyroid. 2007 Nov;17(11):1061-6.
112. Orlandi A, Puscar A, Capriata E, Fideleff H. Repeated fine-needle aspiration of the thyroid in benign nodular thyroid disease: critical evaluation of long-term follow-up. Thyroid. 2005 Mar;15(3):274-8.
113. Olson MT, Clark DP, Erozan YS, Ali SZ. Spectrum of risk of malignancy in subcategories of 'atypia of undetermined significance'. Acta Cytol. 2011;55(6):518-25.
114. Kim SK, Hwang TS, Yoo YB, Han HS, Kim DL, Song KH, et al. Surgical results of thyroid nodules according to a management guideline based on the BRAF(V600E) mutation status. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96:658–664.
115. Adeniran AJ, Hui P, Chhieng DC, Prasad ML, Schofield K, Theoharis C. BRAF mutation testing of thyroid fine-needle aspiration specimens enhances the predictabilit of malignancy in thyroid follicular lesions of undetermined significance. Acta Cytol. 2011; 55:570–575.
116. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, Carty SE, LeBeau SO, Ferris RL, et al. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96:3390–3397
117. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Klopper JP, Zhu Z, et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94:2092–2098.
118. Pusztaszeri M, Rossi ED, Auger M, Baloch Z, Bishop J, Bongiovanni M, et al. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: Proposed Modifications and Updates for the Second Edition from an International Panel. Acta Cytol 2016;60:399-405
119. Domingo RP, Ogden LL, Been LC, Kennedy GC, Traweek ST. Identification of parathyroid tissue in thyroid fine-needle aspiration: A combined approach using cytology, immunohistochemical, and molecular methods. Diagn Cytopathol. 2017 Jun;45(6):526-532.
120. Yang J, Schnadig V, Logrono R, Wasserman PG. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. Cancer. 2007 Oct 25;111(5):306-15.
121. Deveci MS, Deveci G, LiVolsi VA, Baloch ZW. Fine-needle aspiration of follicular lesions of the thyroid. Diagnosis and follow-Up. Cytojournal. 2006 Apr 7;3:9.
122. Schlinkert RT, van Heerden JA, Goellner JR, Gharib H, Smith SL, Rosales RF, et al. Factors that predict malignant thyroid lesions when fine-needle aspiration is "suspicious for follicular neoplasm". Mayo Clin Proc. 1997 Oct;72(10):913-6.
123. Elsheikh TM, Asa SL, Chan JK, DeLellis RA, Heffess CS, LiVolsi VA, et al. Interobserver and intraobserver variation among experts in the diagnosis of thyroid follicular lesions with borderline nuclear features of papillary carcinoma. Am J Clin Pathol. 2008 Nov;130(5):736-44.

124. Giorgadze T, Rossi ED, Fadda G, Gupta PK, Livolsi VA, Baloch Z. Does the fine-needle aspiration diagnosis of "Hürthle-cell neoplasm/follicular neoplasm with oncocytic features" denote increased risk of malignancy? Diagn Cytopathol. 2004 Nov;31(5):307-12.
125. Pu RT, Yang J, Wasserman PG, Bhuiya T, Griffith KA, Michael CW. Does Hurthle cell lesion/neoplasm predict malignancy more than follicular lesion/neoplasm on thyroid fine-needle aspiration? Diagn Cytopathol. 2006 May;34(5):330-4.
126. Renshaw AA. Accuracy of thyroid fine-needle aspiration using receiver operator characteristic curves. Am J Clin Pathol. 2001 Oct;116(4):477-82.
127. Amrikachi M, Ramzy I, Rubenfeld S, Wheeler TM. Accuracy of fine-needle aspiration of thyroid. Arch Pathol Lab Med. 2001 Apr;125(4):484-8.
128. Harvey AM, Mody DR, Amrikachi M. Thyroid fine-needle aspiration reporting rates and outcomes before and after Bethesda implementation within a combined academic and community hospital system. Arch Pathol Lab Med. 2013 Nov;137(11):1664-8.
129. Boonyaarunnate T, Olson MT, Ali SZ. 'Suspicious for a follicular neoplasm' before and after the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: impact of standardized terminology. Acta Cytol. 2013;57(5):455-63.
130. Krane JF, Vanderlaan PA, Faquin WC, Renshaw AA. The atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance:malignant ratio: a proposed performance measure for reporting in The Bethesda System for thyroid cytopathology. Cancer Cytopathol. 2012 Apr 25;120(2):111-6.
131. Bernet V, Hupart KH, Parangi S, Woeber KA. AACE/ACE disease state commentary: molecular diagnostic testing of thyroid nodules with indeterminate cytopathology. Endocr Pract. 2014; 20:360–363.
132. Ferris RL, Baloch Z, Bernet V, Chen A, Fahey TJ III, Ganly I, et al. American Thyroid Association Statement on Surgical Application of Molecular Profiling for Thyroid Nodules: Current Impact on Perioperative Decision Making. Thyroid. 2015; 25:760–768.
133. Xing M, Haugen BR, Schlumberger M. Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer. Lancet. 2013; 381:1058–1069.
134. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. Nat Rev Endocrinol. 2011; 7:569–580.
135. Ohori NP, Schoedel KE. Variability in the atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance diagnosis in the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: sources and recommendations. Acta Cytol. 2011; 55:492–498.
136. Cantara S, Capezzone M, Marchisotta S, Capuano S, Busonero G, Toti P, et al. Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves the diagnostic accuracy of cytology. J Clin Endocrinol Metab. 2010; 95:1365–1369.
137. Moses W, Weng J, Sansano I, Peng M, Khanafshar E, Ljung BM, et al. Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy. World J Surg. 2010; 34:2589–2594.

138. Beaudenon-Huibregtse S, Alexander EK, Guttler RB, Hershman JM, Babu V, Blevins TC, et al. Centralized molecular testing for oncogenic gene mutations complements the local cytopathologic diagnosis of thyroid nodules. Thyroid. 2014; 24:1479–1487.
139. Liu S, Gao A, Zhang B, Zhang Z, Zhao Y, Chen P, et al. Assessment of molecular testing in fine-needle aspiration biopsy samples: an experience in a Chinese population. Exp Mol Pathol. 2014; 97:292–297.
140. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, Cibas ES, Chudova D, Diggans J, et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. N Engl J Med. 2012; 367:705–715.
141. Alexander EK, Schorr M, Klopper J, Kim C, Sipos J, Nabhan F, et al. Multicenter clinical experience with the Afirma gene expression classifier. J Clin Endocrinol Metab. 2014; 99:119–125.
142. Chen YT, Kitabayashi N, Zhou XK, Fahey TJ III, Scognamiglio T. MicroRNA analysis as a potential diagnostic tool for papillary thyroid carcinoma. Mod Pathol. 2008. 21:1139–1146.
143. Mazeh H, Mizrahi I, Halle D, Ilyayev N, Stojadinovic A, Trink B, et al. Development of a microRNA-based molecular assay for the detection of papillary thyroid carcinoma in aspiration biopsy samples. Thyroid. 2011; 21:111–118.
144. Shen R, Liyanarachchi S, Li W, Wakely PE Jr, Saji M, Huang J, et al. MicroRNA signature in thyroid fine needle aspiration cytology applied to ‘‘atypia of undetermined significance’’ cases. Thyroid. 2012;22:9–16.
145. Keutgen XM, Filicori F, Crowley MJ, Wang Y, Scognamiglio T, Hoda R, et al. A panel of four miRNAs accurately differentiates malignant from benign indeterminate thyroid lesions on fine needle aspiration. Clin Cancer Res. 2012; 18:2032–2038.
146. Agretti P, Ferrarini E, Rago T, Candelieri A, De Marco G, Dimida A, et al. MicroRNA expression profile helps to distinguish benign nodules from papillary thyroid carcinomas starting from cells of fine-needle aspiration. Eur J Endocrinol. 2012; 167:393–400.
147. Aster. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2015.
148. https://www.creativebiolabs.net/ras-signaling-pathway.htm
149. Patel KN, Angell TE, Babiarz J, Barth NM, Blevins T, Duh QY, et al. Performance of a genomic sequencing classifier for the preoperative diagnosis of cytologically indeterminate thyroid nodules. JAMA Surg. 2018;153:817-824.
150. Geng Y, Aguilar-Jakthong JS, Moatamed NA. Comparison of Afirma Gene Expression Classifier with Gene Sequencing Classifier in indeterminate thyroid nodules: A single-institutional experience. Cytopathology. 2021 Mar;32(2):187-191.
151. Steward DL, Carty SE, Sippel RS, Yang SP, Sosa JA, Sipos JA, et al. Performance of a multigene genomic classifier in thyroid nodules with indeterminate cytology: a prospective blinded multicenter study. JAMA Oncol 2019;5:204-12.

152. Panebianco F, Kelly LM, Liu P, Zhong S, Dacic S, Wang X, et al. THADA fusion is a mechanism of IGF2BP3 activation and IGF1R signaling in thyroid cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017; 114:2307–2312.
153. Lindsay S. Carcinoma of the thyroid gland: a clinical and pathologic study of 293 patients at the University of California hospital. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1960.
154. Hahn SY, Shin JH, Oh YL, Kim TH, Lim Y, Choi JS. Role of ultrasound in predicting tumor invasiveness in follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Thyroid. 2017;27:1177–84
155. Brandler TC, Yee J, Zhou F, Cho M, Cangiarella J, Wei X-J, et al. Does noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear fea-tures have distinctive features on sonography? Diagn Cytopathol 2018;46:139–47.
156. Rosário PW. Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-likeNuclear Features (NIFTP): did we trade six for a half a dozen? World J Surg. 2018;42:2277–8
157. Vivero M, Kraft S, Barletta JA. Risk stratification of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Thyroid 2013; 23;273–279.
158. Ganly I, Wang L, Tuttle RM, Katabi N, Ceballos GA, Harach HR, et al. Invasion rather than nuclear features correlates with outcome in encapsulated follicular tumors: further evidence for the reclassification of the encapsulated papillary thyroid carcinoma follicular variant. Hum. Pathol. 2015; 46; 657–664.
159. Rosario PW. Long-term outcomes of patients with noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) >/=4 cm treated without radioactive iodine Endocr. Pathol. 2017. https://doi.org/10.1007/s12022-12017-19493-12024.
160. Thompson LD. Ninety-four cases of encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a name change to noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features would help prevent overtreatment. Mod. Pathol. 2016; 29; 698–707.
161. Hahn SY, Shin JH, Lim HK, Jung SL, Oh YL, Choi IH, et al. Preoperative differentiation between noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP) and non-NIFTP. Clin Endocrinol (Oxf). 2017;86: 444-50.
162. Xu B, Scognamiglio T, Cohen PR, Prasad ML, Hasanovic A, Tuttle RM, et al. Metastatic thyroid carcinoma without identifiable primary tumor within the thyroid gland: a retrospective study of a rare phenomenon. Hum. Pathol. 2017.
163. Xu B, Tuttle RM, Sabra MM, Ganly I, Ghossein R. Primary thyroid carcinoma with low-risk histology and distant metastases: clinicopathologic and molecular characteristics. Thyroid 2017; 27; 632–640.
164. Rosario PW, Penna GC, Calsolari MR. Noninvasive encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: is lobectomy sufficient for tumours_1 cm? Clin Endocrinol (Oxf). 2014;81 (4):630-632.
165. Baloch ZW, LiVolsi VA. Encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma with bone metastases. Mod Pathol. 2000;13(8):861-865.

166. Howitt BE, Paulson VA, Barletta JA. Absence of BRAF V600E in non-infiltrative, non-invasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Histopathology. 2015;67(4):579-582.
167. Liu Z, Zhou G, Nakamura M, Koike E, Li Y, Ozaki T, et al. Encapsulated follicular thyroid tumor with equivocal nuclear changes, so-called well-differentiated tumor of uncertain malignant potential: a morphological, immunohistochemical, and molecular appraisal. Cancer Sci. 2011;102(1):288-294.
168. Chung R, Guan H, Ponchiardi C, Cerda S, Marwaha N, Yilmaz OH, et al. Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features: Epidemiology and Long-Term Outcomes in a Strictly Defined Cohort. Thyroid. 2021 Jan;31(1):68-75.
169. Lee SE, Hwang TS, Choi YL, Kim WY, Han HS, Lim SD, et al. Molecular profiling of papillary thyroid carcinoma in Korea with a high prevalence of BRAFV600E mutation. Thyroid 2017; 27; 802–810.
170. Jara SM, Bhatnagar R, Guan H, Gocke CD, Ali SZ, Tufano RP. Utility of BRAF mutation detection in fine-needle aspiration biopsy samples read as "suspicious for papillary thyroid carcinoma". Head Neck. 2015 Dec;37(12):1788-93.
171. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, et al. Impact of the multigene ThyroSeq next-generation sequencing assay on cancer diagnosis in thyroid nodules with atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance cytology.Thyroid 2015; 25; 1217–1223.
172. Eszlinger M, Piana S, Moll A, Bösenberg E, Bisagni A, Ciarrocchi A, et al. Molecular testing of thyroid fine-needle aspirations improves presurgical diagnosis and supports the histologic identification of minimally invasive follicular thyroid carcinomas. Thyroid 2015; 25; 401–409.
173. Ohori NP, Seethala RR, Nikiforov YE. Young investigator challenge: molecular testing in noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features. Cancer 2017;125; 292–293.
174. Ohori NP, Singhal R, Nikiforova MN, Yip L, Schoedel KE, Coyne C, et al. BRAF mutation detection in indeterminate thyroid cytology specimens: underlying cytologic, molecular, and pathologic characteristics of papillary thyroid carcinoma. Cancer Cytopathol. 2013; 121; 197–205.
175. Paulson VA, Shivdasani P, Angell TE, Cibas ES, Krane JF, Lindeman NI, et al. Noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features accounts for more than half of ‘carcinomas’ harboring RAS mutations. Thyroid 2017; 27; 506–511.
176. Xu B, Ghossein R. Genomic landscape of poorly differentiated and anaplastic thyroid carcinoma. Endocr. Pathol. 2016; 27;205–212.
177. Fnais N, Soobiah C, Al-Qahtani K, Hamid JS, Perrier L, Straus SE, et al. Diagnostic value of fine needle aspiration BRAF(V600E) mutation analysis in papillary thyroid cancer: a systematic review and meta-analysis. Hum Pathol.2015;46:1443-1454

8.ÖZET

Papiller Benzeri Nükleer Özellikler Gösteren Noninvaziv Foliküler Tiroid Neoplamı, Klasik Varyant Papiller Tiroid Karsinomu ve Foliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinomunun Ayrımında Moleküler Testlerin Rolü

2017 yılında, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından güncellenen tiroid tümörleri sınıflamasında; 2004 DSÖ endokrin organ tümör sınıflamasındaki noninvaziv folliküler varyant papiller tiroid karsinomu (FVPTK), papiller benzeri nükleer özellikler gösteren noninvaziv folliküler tiroid neoplazmı (NIFTP) olarak isimlendirilmiştir. NIFTP tanısı alan hastalara tedavi olarak lobektomi yapılması, total tiroidektomi ve radyoaktif iyot tedavisi gibi aşırı tedavilerden kaçınılması amaçlanmıştır. *American Thyroid Association* (ATA), 2015'te yayımladığı kılavuzda BRAF, RAS, PAX8/PPARgama, RET/PTC genlerindeki mutasyonları gösteren panelin Bethesda raporlama sisteminde belirsiz kategorilere uygulanmasını önermektedir. Çalışmamızda NIFTP/FVPTK tanısı alan olguların mevcut sitoloji materyallerine ATA kılavuzunda önerilen panelde bulunan BRAF, KRAS ve NRAS testleri uygulanarak bu testlerin preoperatif ayrıcı tanıya katkısı araştırılmıştır.

2010-2020 yılları arasında eksizyon materyalinde FVPTK ve NIFTP tanısı alan 259 olgu sitoloji materyali ile birlikte değerlendirilmiştir. Sitoloji materyali yeterli olan 31 FVPTK, 64 NIFTP ve ayrıca 12 klasik varyant papiller tiroid karsinomunun (KVPTK) sitoloji materyallerinde Real-Time PCR yöntemiyle BRAF, KRAS, NRAS mutasyonu bakılmıştır. NIFTP'lerin %30'unda NRAS, 4 %7'sinde KRAS geninde mutasyon görülmüştür. BRAF mutasyonu

saptanmamıştır. FVPTK'lerin %15'inde BRAFV600E, %15'inde NRAS, %3'ünde KRAS mutasyonu görülmüştür. KVPTK'lerin %63'ünde BRAFV600E, %13'üde NRAS, %9'unda KRAS mutasyonu izlenmiştir. Tümör tipleri arasında BRAF mutasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. Buna karşın KRAS ve NRAS mutasyon durumu ve tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Rezeksiyon materyalinde NIFTP tanısı alan olguların sitoloji materyalinde BRAF mutasyonu saptanmaması ve AUS/FLUS ve malign tanısı alan olgular arasında BRAF mutasyon durumu açısından anlamlı fark saptanması, sitoloji materyaline BRAF mutasyon testinin uygulanmasının cerrahiyi yönlendirmede anlamlı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Tiroid sitolojisi, NIFTP, RAS, BRAF

9.SUMMARY

Role of Molecular Tests in the Cytologic Distinction of Noninvasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-like Nuclear Features, Classic Variant Papillary Thyroid Carcinoma and Follicular Variant Papillary Thyroid Carcinoma

In the World Health Organization classification of endocrine organs in 2017; Noninvasive follicular variant papillary thyroid carcinoma (FVPTC) was named as noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features (NIFTP). It is aimed to avoid overtreatments such as total thyroidectomy and radioactive iodine therapy. 2015 American Thyroid Association (ATA) guide recommends applying molecular tests to uncertain categories in the Bethesda reporting system. In our study, BRAF, KRAS and NRAS tests were applied to the cytology materials of NIFTP/FVPTC/classical variant papillary thyroid carcinoma (CVPTC), and the contribution of these tests to the preoperative differential diagnosis was investigated.

In current study 31 FVPTK, 64 NIFTP and 12 CVPTC, operated on between 2010 and 2020 and have sufficient cytology material, were evaluated. BRAF, KRAS, NRAS mutations were examined by Real-Time PCR method in cytology materials. NRAS mutation was observed 30% of NIFTPs, %15 of FVPTC, %13 of CVPTC. KRAS mutation was observed 7% of NIFTPs, %3 of FVPTC, %9 of CVPTC. BRAFV600E mutation was observed %15 of FVPTC, %63 of CVPTC but none of NIFTP showed BRAF mutation. There is a statistically significant difference between tumor types and BRAF mutation.

However there were no statistically significant difference between KRAS and NRAS mutation status and tumor types.

BRAF mutation testing of thyroid fine needle aspirations could improve preoperative diagnosis of nodules, thereby reducing unnecessary surgery.

Keywords: Thyroid cytology, NIFTP, RAS, BRAF