



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**FOLİKÜLER PATERNLİ İNDETERMİNE TİROİD
NODÜLLERİNİN PREOPERATİF DOĞRU TANISINDA,
HÜCRE BLOĞU İMMÜNSİTOKİMYASI BİR ÇÖZÜM
OLABİLİR Mİ? GALEKTİN 3, HBME1, CK19 VE CD56
ANTİKORLARININ KOMBİNE KULLANIMI**

Dr. Merve TURAL

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Koray CEYHAN**

**ANKARA
2021**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**FOLİKÜLER PATERNLİ İNDETERMİNE TİROİD
NODÜLLERİNİN PREOPERATİF DOĞRU TANISINDA,
HÜCRE BLOĞU İMMÜNSİTOKİMYASI BİR ÇÖZÜM
OLABİLİR Mİ? GALEKTİN 3, HBME1, CK19 VE CD56
ANTİKORLARININ KOMBİNE KULLANIMI**

Dr. Merve TURAL

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman
Prof.Dr. Koray CEYHAN

ANKARA
2021

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Foliküler Paternli İndetermine Tiroid Nodüllerinin Preoperatif Doğru Tanısında, Hücre Bloğu İmmüsitokimyası Bir Çözüm Olabilir Mi? Galektin-3, HBME1, CK19 VE CD56 Antikorlarının Kombine Kullanımı” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversite Tıp Fakültesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından, 14 Ocak 2021 tarihinde, İ1-35-21 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Merve TURAL

Tarih: 12/04/2021

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme konu: 12-Nis-2021 11:39 +03

NUMARA: 1556949515

Kelime Sayısı: 37661

Gönderildi: 1

Foliküler Paternli İndetermine
Tiroid Nodülle... Merve Tural
tarafından

Kaynağa göre Benzerlik	
Benzerlik Endeksi	
%3	
Internet Sources:	%3
Yayınlar:	%2
Öğrenci Ödevleri:	%1

KABUL VE ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: Dr. Merve TURAL	Sınav tarihi: 27 /04 / 2021
Anabilim/Bilim Dalı: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Koray CEYHAN	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: foliküler paternli indetermine tiroid nodüllerinin preoperatif doğru tanısında, hücre bloğu immünsitokimyası bir çözüm olabilir mi?: Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 antikorlarının kombine kullanımı	
Tezin Niteliği: ☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi	
Kaçıncı tez sınavı olduğu: ☒ 1 ☐ 2 ☐ 3	

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR

Prof. Dr. Aylin Okçu Heper
Jüri Başkanı
Anabilim/Bilim Dalı

Prof. Dr. Koray CEYHAN
Jüri Üyesi
Anabilim/Bilim Dalı

Prof. Dr. Sevgen Çelik ÖNDER
Jüri Üyesi
Anabilim/Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan ve her aşamasında desteğini, bilgisini ve yardımını esirgemeyen, birlikte tez yapmaktan büyük mutluluk duyduğum ve hep örnek alacağım değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Koray Ceyhan'a; bulunabildiğim için çok şanslı olduğum, her zaman destek veren ve uzmanlık eğitimim süresince benimle bilgi ve tecrübelerini paylaşan A.Ü.T.F Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında görevli tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım için kendimi şanslı hissettiğim, her zaman yanımda olan, desteklerini her daim hissettiğim, uzman ve arkadaşlarım, A.Faruk Arman, Aslıhan Yavaş, Elif Öcal, Fadime Gül Salman, Dilek Koyuncu Yamak, Dilara Akbulut, Nuray Aksoy, Elif Özgür, Zarifakhanım Gahramanlı, Selim Sevim, Eda Nur Kozan, Ezgi Dicle Kuz, Inga Adanır, Nesrin Reisli, Elif Kardelen Koltuk, Hanife Nur Yağmur, Nermin Aras, Elif Tuncel, Havva Berber'e teşekkür ederim. Problemlerime ortak olan, bana çözümler sunan, her başım sıkıştığında yanlarına koştüğüm, dünyanın en iyi uzmanları Cevriye Cansız Ersöz, Seher Yüksel, Hilal Özakıncı ve Hale Karadağ'a teşekkür ederim.

Ayrıca tüm asistanlığım boyunca yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı sekreteri Özlem Soyalp ve sorumlu hemşiremiz Tevhide Çoban'a; arşiv materyallerine ulaşmamda yardımlarını esirgemeyen ve her zaman destek olan, Ahmet Koçer, Alahattin Alptekin ve Yusuf Aslan'a; rapor sekreterliği, kayıt birimi, patoloji, immünohistokimya, moleküler ve sitoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Asistanlığım zamanında beklenmedik bir anda hayatıma dahil olan, yüzümü güldüren, içimdeki pozitif insanı ortaya çıkaran, güzel anlarımı paylaşan, zor anlarımda desteğini eksik etmeyen, hayata olan bakışımı değiştiren Okan Şen'e çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatımın her anında ve asistanlığım boyunca beni destekleyen, her zaman arkamda olan ve beni bugünlere getiren, başarı hırsını aldığım sevgili babam Osman Tural'a, anlayışını aldığım sevgili annem Solmaz Tural'a, karakterimin şekillenmesinde emeği olan ve kardeşlik bağının en güçlü bağ olduğunu öğreten sevgili ablalarım Betül Tural Tirkeş ve Gevher Nesibe Tural Tok ile kız kardeşim Mine Tural'a, çok sevdiğim ve neşe kaynağım olan yeğenlerim Mert ve Yiğit Tirkeş'e çok teşekkür ederim.

Merve Tural - Nisan 2021

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	ii
ÖZGÜNLÜK RAPORU	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	8
4.1. Tiroid Anatomisi ve Histolojisi	8
4.2. Tiroid Tümörleri	10
4.2.1. Papiller Tiroid Karsinomu (PTK)	10
4.2.2. Foliküler Karsinoma (FK).....	16
4.2.3. Malignite Potansiyeli Belirsiz Tümörler (Tumours of uncertain malignant potential-UMPT)	19
4.2.4. Papiller Benzeri Nükleer Özellikler Gösteren Non-İnvaziv Foliküler Neoplazi (Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features-NIFTP)	20
4.2.5. Az Diferansiye Karsinoma	21
4.2.6. Anaplastik Tiroid Karsinomu.....	24
4.2.7. Medüller Karsinoma.....	25
4.2.8. Hürthle (Onkositik) Hücreli Tümörler	26
4.2.9. Foliküler Adenoma (FA).....	28
4.2.10. Diğer tümörler	29
4.3. Tiroid Sitopatolojisi Bethesda Raporlama Sistemi (TSBRS).....	29
4.3.1. Tanısal Terminoloji ve Raporlama.....	29
4.3.2. Non-Diagnostik/Yetersiz.....	31
4.3.3. Benign	32

4.3.4.	Önemli Belirsiz Atipi/ Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon (AUS/FLUS)	33
4.3.5.	Foliküler Neoplazi/Foliküler Neoplazi Kuşkusu (FN/FNK).....	35
4.3.6.	Malignite Yönünden Kuşkulu (MYK)	36
4.3.7.	Malign	38
4.4.	İndetermine Tiroid Nodüllerine Yaklaşım.....	40
4.5.	Yerinde Sitolojik Değerlendirme (Rapid On-Site Cytological Evaluation-ROSE) ve Hücre Bloğu	44
4.6.	Tiroid Tümörlerinin Tanısında Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler.....	46
4.6.1.	Galektin 3	46
4.6.2.	HBME1	47
4.6.3.	Sitokeratin 19 (CK19)	47
4.6.4.	CD56	48
4.6.5.	Diğer belirteçler	48
4.7.	Tiroid Tümörlerinin Tanısında Kullanılan Moleküler Testler.....	49
4.7.1.	mRNA İfadesi	49
4.7.2.	MikroRNA(miRNA) İfadesi	50
4.7.3.	Genetik mutasyonlar/yeniden düzenlenmeler	50
5.	GEREÇ VE YÖNTEM	52
5.1.	Olgu Seçimi	52
5.2.	Hücre Bloğu Elde Edilmesi	52
5.3.	İmmünohistokimyasal Boyanma, Değerlendirme ve Skorlama	54
5.4.	İstatistiksel Değerlendirme	55
6.	BULGULAR	56
6.1.	Klinikopatolojik Bulgular	56
6.2.	İmmünohistokimyasal Bulgular.....	58
6.2.1.	Galektin-3.....	58
6.2.2.	HBME1	59
6.2.3.	CK19	60
6.2.4.	CD56	61
6.2.5.	Kombine İmmünohistokimya Skoru	62
6.3.	Test Sonuçları ve Test Performansı	67
6.3.1.	Galektin-3.....	71
6.3.2.	HBME1	71

6.3.3.	CK19	72
6.3.4.	CD56	72
6.3.5.	İHK belirteçlerin kombine kullanım sonuçları	77
6.3.6.	Skorlama sonuçları.....	78
6.3.7.	Diğer sonuçlar	79
7.	TARTIŞMA.....	84
7.1.	Klinikopatolojik Özellikler	85
7.2.	İmmünohistokimyasal Özellikler, Test Sonuçları ve Test Performansı	85
7.2.1.	Galektin-3.....	86
7.2.2.	HBME1	90
7.2.3.	CK19	90
7.2.4.	CD56	91
7.2.5.	İHK Belirteçlerin Kombine Kullanım Sonuçları	92
7.2.6.	Skorlama sonuçları.....	94
7.2.7.	Diğer sonuçlar	95
8.	SONUÇ VE ÖNERİLER	113
9.	KAYNAKÇA.....	121

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADTK	: Az diferansiye tiroid karsinomu
ATA	: Amerika Tiroid Birliği-American Thyroid Association
ATK	: Anaplastik tiroid karsinomu
AUS/FLUS	: Önemli belirsiz atipi/ Önemli belirsiz foliküler lezyon (Atypia of Undetermined Significance/Follicular Lesion of Undetermined Significance)
BBA	: Büyük büyütme alanı
CEA	: Karsinoembriyogenik antijen
CK	: Sitokeratin
FA	: Foliküler adenoma
FAP	: Ailesel adenomatöz polipozis
FFPE	: Formalin-fixed, parafin-embedded
FK	: Foliküler Karsinoma
FN	: Yalancı negatif (False negative)
FN/FNK	: Foliküler neoplazi/ Foliküler neoplazi kuşkusu
FP	: Yalancı pozitif (False positive)
FT-UMP	: Malignite potansiyeli belirsiz foliküler tümör (Follicular Tumour of Uncertain Malignant Potential)
FV PTK	: Foliküler varyant papiller tiroid karsinomu
HHA	: Hürthle hücreli adenoma/ onkositik foliküler adenom
İHK	: İmmünohistokimya
İİAB	: İnce iğne aspirasyon biyopsisi
İSK	: İmmünohistokimya
KLT	: Kronik lenfositik tiroiditis
MEN	: Multipl endokrin neoplazisi
µm	: Mikrometre-mikron
MYK	: Malignite yönünden kuşkulu
NG	: Nodüler guatr
NGS	: Yeni nesil sekanslama (New-generation Sequencing)
NIFTP	: Papiller Benzeri Nükleer Özellikler Gösteren Non-İnvaziv Foliküler Neoplazi (Non-invasive Follicular Thyroid Neoplasm with Papillary-Like Nuclear Features)
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)

PTK	: Papiller tiroid karsinomu
TCGA	: Kanser Genom Atlas Araştırması (The Cancer Genome Atlas)
TN	: Doğru negatif (True negative)
TP	: Doğru pozitif (True positive)
TSBRS	: Tiroid Sitopatolojisi Bethesda Raporlama Sistemi
UMPT	: Malignite potansiyeli belirsiz tümörler (Tumours of uncertain malignant potential)
USG	: Ultrason görüntüleme
WDT-UMP	: Malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör (Well-differentiated tumour of uncertain malignant potential)
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller Dizini

Şekil 4.1. Turin konsensus kriterlerine göre az diferansiye karsinoma tanı algoritması	23
Şekil 4.2. İndetermine tiroid nodüllerine yaklaşım şeması	41
Şekil 4.3. İndetermine tiroid sitolojisinde, test performansı, ‘Rule-in’ ve ‘Rule-out’ testlerin özelliklerini özetleyen şema.	44
Şekil 6.1. Olgu seçimi ve dağılımı	56
Şekil 6.2. Histopatolojik tanılara göre Galektin-3 ile boyanma gösteren vakaların dağılımı ..	59
Şekil 6.3. Histopatolojik tanılara göre HBME1 ile boyanma gösteren vakaların dağılımı	60
Şekil 6.4. Histopatolojik tanılara göre CK19 ile boyanma gösteren vakaların dağılımı	61
Şekil 6.5. Histopatolojik tanılara göre CD56 ile ifade kaybı gösteren vakaların dağılımı	62
Şekil 6.6. Histopatolojik tanılara göre vakaların aldığı skor dağılımı	67
Şekil 6.7. UMPT’nin dahil olmadığı, NIFTP’nin malign kabul edildiği B grubunda, tüm vakalar için, belirteçlere, en iyi performans gösteren belirteç kombinasyonlarına ve skorlamaya ait test sonuçları	79
Şekil 7.1. Bethesda III kategoride yer alan vakaların histolojik tanıları ile test skoru sonuçlarının kıyaslanması ve doğru/yanlış sınıflanma oranları	96
Şekil 7.2. Bethesda IV kategoride yer alan vakaların histolojik tanıları ile test skoru sonuçlarının kıyaslanması ve doğru/yanlış sınıflanma oranları	97
Şekil 7.3. Çalışmamız ve başlıca moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki verilerine göre NPD-Prevalans eğrisi	106
Şekil 7.4. Çalışmamız ve başlıca moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki verilerine göre PPD-Prevalans eğrisi	107
Şekil 7.5. Çalışmamızda tüm vakalarda NIFTP’nin malign kabul edildiği durumda skorlama sistemine göre NPD-Prevalans ve PPD-Prevalans eğrileri. Turuncu ile işaretli çizgi o kategori için saptanan prevalansı temsil etmektedir.	108
Şekil 7.6. Çalışmamızda Bethesda III kategorisinde NIFTP’nin malign kabul edildiği durumda skorlamaya göre NPD-Prevalans ve PPD-Prevalans eğrileri. Turuncu ile işaretli çizgi o kategori için saptanan prevalansı temsil etmektedir.	109
Şekil 7.7. Çalışmamızda Bethesda IV kategorisinde NIFTP’nin malign kabul edildiği durumda skorlamaya göre NPD-Prevalans ve PPD-Prevalans eğrileri. Turuncu ile işaretli çizgiler o kategori için saptanan prevalansı temsil etmektedir.	109
Şekil 8.1. İndetermine tiroid nodüller için önerilen tanı algoritması	120

Resimler Dizini

Resim 4.1. PTK'ya ait histopatolojik resimler. İlk resim papiller organizasyon ve kalsifikasyon, ikinci resim tipik nükleus özellikleri, intranükleer inklüzyon okla işaretli	11
Resim 4.2. Foliküler karsinomada kapsüler ve vasküler invazyon[47]	17
Resim 5.1. USG eşliğinde Menghini tipi yarı otomatik 21-gauge aspirasyon biyopsi iğnesi ile İİAB, yayma ve hücre bloğu eldesi	53
Resim 6.1. Galektin-3 ile sırasıyla pozitif ve negatif vaka örneği (x400)	58
Resim 6.2. HBME1 ile sırasıyla pozitif ve negatif vaka örneği (x400).....	59
Resim 6.3. CK19 ile sırasıyla pozitif ve negatif vaka örneği (x400).....	60
Resim 6.4. CD56 ile sırasıyla ifade kaybı bulunduran ve bulundurmayan vaka örneği (x400)	61
Resim 6.5. Vaka 1, Bethesda III, Skor:4, Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 için 1 puan, (x400)	63
Resim 6.6. Vaka 2, Bethesda III, Skor:3, HBME1, CK19 ve CD56 için 1 puan, Galektin3 için 0 puan (x400).....	64
Resim 6.7. Vaka 3, Bethesda IV, Skor:2, Galektin-3 ve CD56 için 1 puan, CK19 ve HBME1 için 0 puan (x400).....	65
Resim 6.8. Vaka 4, Bethesda IV, Skor:0, Hiçbir belirteçten puan alınamamıştır. (x400).....	66

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. PTK’da en sık görülen genetik değişikliklerin literatürde izlenen prevalansını gösteren tablo.....	15
Tablo 4.2. Enkapsüle foliküler paternli tümörlerin nükleer özellikleri ve invazyon durumuna göre 2017 WHO klasifikasyonu önerilen sınıflaması	21
Tablo 4.3. Başlıca tiroid tümörlerinde görülen moleküler değişiklikler.....	24
Tablo 4.4. Tiroid sitopatolojisi Bethesda raporlama sistemi, tanısal kategoriler	30
Tablo 4.5. Tiroid sitopatolojisi Bethesda raporlama sistemi kategorilerine göre malignite riskleri ve önerilen klinik yaklaşımlar	31
Tablo 4.6. Kullandıkları yöntemlere göre moleküler testler	49
Tablo 5.1. Kullanılan antikorlara ait bilgiler ve boyama teknikleri.....	54
Tablo 5.2. Test olasılık tablosu 2x2	55
Tablo 6.1. Bethesda kategorilerine göre tanıların dağılımı.....	57
Tablo 6.2. Bütün vakalarda belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları	68
Tablo 6.3. Bethesda III vakalarında belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları.....	69
Tablo 6.4. Bethesda IV vakalarında belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları.....	70
Tablo 6.5. UMPT’nin dahil edilmediği, NIFTP’nin ise malign olarak değerlendirildiği B grubunun belirteçlere ait ayrıntılı sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları	73
Tablo 6.6. UMPT’nin dahil edilmediği, NIFTP’nin ise benign olarak değerlendirildiği C grubunun belirteçlere ait ayrıntılı sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları	75
Tablo 6.7. Uyumsuz vakaların boyanma özellikleri ve skorları	80
Tablo 6.8. NIFTP vakalarının boyanma özellikleri ve skorları	81
Tablo 6.9. UMPT vakalarının boyanma özellikleri ve skorları	81
Tablo 6.10. NIFTP ve UMPT için farklı senaryolara göre skorlama sisteminin tarama testi sonuçları	83
Tablo 7.1. Literatürde histopatoloji materyallerinde inceleme yapan çalışmalardaki Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 belirteçlerinin sensitivite ve spesifite değerleri.....	88
Tablo 7.2. Hücre bloğu veya tru-cut biyopsi materyali ile inceleme yapan çalışmalardaki Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 belirteçlerinin tarama testi sonuçları	89

Tablo 7.3. Moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki test performansları.....	102
Tablo 7.4. İndetermine tiroid nodüllerinde moleküler testlerin prediktif değerleri.....	104



1. ÖZET

Foliküler Paternli İndetermine Tiroid Nodüllerinin Preoperatif Doğru Tanısında, Hücre Bloğu İmmünsitokimyası Bir Çözüm Olabilir Mi? Galektin-3, HBME1, CK19 VE CD56 Antikorlarının Kombine Kullanımı

AMAÇ: Tiroid nodülleri, sık görülen ve genellikle benign lezyonlardır. İnce iğne aspirasyon biyopsisi(İİAB) altın standart tanı testidir. Amacı opere olması gereken malign lezyonlarla konservatif tedavi gereken benign vakaları birbirinden ayırmaktır. İİAB sonucunda nodüllerin %20-30'unda benign-malign ayrımı yapılamamakta, indetermine nodül (Bethesda III-IV) denen bu vakalar, cerrahi sonrasında %70 benign tanı almaktadır. Son yıllarda, test performansı oldukça başarılı, ancak çoğu merkezde uygulanamayan, ticari ve pahalı moleküler testler, bunların doğru tanısında öne çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar, bu testlerin performanslarının bahsedilen kadar yüksek olmadığını göstermektedir. İmmünhistokimyasal belirteçlerin hücre bloğu(HB) materyallerinde kullanılması, tiroid sitolojisinde önemli bir tanı potansiyeli oluşturmaktadır. Bu çalışmada Bethesda III-IV kategorilerinde geniş bir olgu serisinde, HB materyellerinde Galektin-3, HBME-1, CK19 ve CD56'dan oluşan panelin tanısal değeri ölçülmüştür. Bu çalışma alanında ilktir. Hücre bloğu immünsitokimyasının pahalı moleküler yöntemlere alternatif olup olamayacağı sorusuna yanıt aramaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM: 2010-2019 yıllarında, hem AÜTF Sitopatoloji BD'nda İİAB hem de AÜTF Patoloji ABD'nda tiroidektomi materyali bulunan, HB kesitlerde immünsitokimyasal olarak Galektin-3, HBME-1, CD56, CK19 çalışılan, Bethesda III(107) ve Bethesda IV(92) tanısı almış 199 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Belirteçler için 0-4 arası skor verilmiş, skor $\leq$ 1 negatif, skor $\geq$ 2 pozitif kabul edilmiş, sonuçlar histopatolojik tanımlarla karşılaştırılmış, skorlamanın maligniteleri saptamasındaki test performansı değerlendirilmiş, sensitivite, spesifite, PPD, NPD ve doğruluk oranı hesaplanmıştır. Verilerin analizi "SPSS for Windows 11,5" paket programında yapılmış, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR: Galektin-3, HBME-1, CD56, CK19 belirteçlerinde malign ile benign vakalar arasında anlamlı fark saptanmıştır.(p=0.001) NIFTP'nin malign kabul edildiği durumda, sensitivitesi ve NPD'si en yüksek olan belirteç CK19(%72.2, %78,5), spesifitesi ve PPD'si en yüksek olan ise Galektin-3'tür.(%99, %95) En iyi sonuçlara sensitivitesi %78.9, spesifitesi %94.1, doğruluk oranı % 86.9, PPD'si %92.2, NPD'si %83.4 olan skorlamayla ulaşılmıştır. Skorlamayı, HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle pozitif olan

kombinasyon(sensitivitesi %80.72, spesifitesi %84.16, doğruluk oranı %82.61, PPD %80.65 ve NPD %84.22) izlemektedir. Skorlama sistemiyle vakaların %89'unu doğru sınıflandırılmıştır.

SONUÇ: Skorlama, belirteçler ve kombinasyonlarla kıyaslandığında, en iyi test performansına sahiptir. Yüksek NPD ve PPD'ye sahip moleküler testlerin post-validasyon çalışmalarındaki performansının, validasyon çalışmalarındaki değerlere ulaşamadığı görülmüş olup bunun en önemli nedeni performansın test edilen malignitenin prevalansından etkilenmesidir. Çalışmamızdaki malignite oranı, TSBRS'de beklenenden fazladır. Bu nedenle, moleküler testlerle kıyaslandığında, skorlamada daha düşük NPD ve daha yüksek PPD elde edilmiştir. Sonuçlarımıza göre çizilen prevalans-NPV eğrisi, moleküler testlere ait eğrilere paraleldir ve İHK skorlama sisteminin moleküler testlere benzer performans gösterdiğini işaret etmektedir. Skorlama sistemi, >%10 prevalanslarda, iyi bir 'Rule in' test (PPD>%40), Bethesda III'te %5-40 prevalansta, tüm vakalarda %5-30 prevalansta, iyi bir 'Rule out' testtir.(Sırasıyla NPD: %93-99, %91-98) Moleküler testler, gerekli altyapının sınırlı merkezde bulunması, panellerin tamamının ticari olması, materyallerin yurtdışına gönderilmesinin gerekmesi nedeniyle ülkemizde yapılamamaktadır. İHK ile karşılaştırıldığında, çok pahalı olan moleküler testlerin fayda/maliyet oranı düşüktür. Bütün patoloji laboratuvarlarında kolayca uygulanabilmesi, değerlendirmenin bütün patologlar tarafından yapılabilmesi, maliyetinin moleküler testlerle kıyaslandığında çok düşük olması İHK'nın en önemli avantajlarıdır. Klinik ve radyolojik veriler eşliğinde, indetermine lezyonlarda, Bethesda III'te daha belirgin olmakla üzere, İHK ve uygulanan skorlama sistemi hasta yönetiminde oldukça güçlü bir araçtır ve belirli durumlar moleküler testlere alternatif, belirli durumlarda ise moleküler testlerle kombine olarak kullanılabilir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Tiroid İİAB, indetermine nodül, AUS/FLUS, FN, HB, İSK

2. ABSTRACT

Can Cell Block Immunocytochemistry Be a Solution in the Preoperative Correct Diagnosis of Follicular Pattern Indetermined Thyroid Nodules? Combined Use of Galectin-3, HBME1, CK19 and CD56 Antibodies

AIM: Thyroid nodules are common and generally benign lesions. Fine needle aspiration biopsy(FNAB) is the gold standard diagnostic test. Its aim is to distinguish between malignant lesions that need surgery and benign cases that require conservative treatment. With FNAB, 20-30% of the nodules cannot be reliably distinguished from benign and malignant, are named indeterminate nodules. 70% of these cases are diagnosed as benign postoperatively. In recent years, successful but fully commercial and expensive molecular tests have come to the fore. Studies show that the performances of these tests are not as high as mentioned. The use of immunohistochemical markers in cell block(CB) materials enables an important diagnostic potential for thyroid cytology. In this study, the diagnostic value of a panel consisting of Galectin-3, HBME-1, CK19 and CD56 in CB materials was evaluated in a large series of cases in Bethesda III-IV categories. This study is the first in this field and seeks an answer to the question of whether CB immunocytochemistry can be an alternative to expensive molecular methods.

MATERIALS AND METHODS: Between 2010-2019, patients, who were diagnosed with Bethesda III(107) and Bethesda IV(92), had thyroidectomy material in Ankara University Department of Pathology and FNAB material in Ankara University Department of Cytopathology, were included in the study. Immunocytochemically Galectin-3, HBME-1, CD56, CK19 antibodies were studied in CB sections for 199 patients. The markers were scored between 0 and 4. Scoring 1 or less were considered as negative, and those scoring 2 and above were considered as positive. Results were compared with histopathological diagnoses. Test performance of scoring system was evaluated and sensitivity, specificity, PPV, NPV and accuracy rate were calculated. The analysis of the data was made through the "SPSS for Windows 11.5" package program, $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS: All markers were significantly different between malignant and benign cases.($p=0.001$) When NIFTP considered malignant, CK19 has the highest sensitivity and NPV(72.2% and 78%); Galectin-3 has the highest specificity and PPV(99% and 95%). The best results were achieved by scoring system(sensitivity:78.9%, specificity:94.1%, accuracy rate:86.9%, PPV:92.2% and NPV:83.4%). The combination of HBME1 and CK19 has the second best performance(sensitivity:80.72%, specificity:84.16%, accuracy rate:82.61%,

PPV:80.65%, NPV:84.22%). With the scoring system, 89% of the cases were correctly classified.

CONCLUSIONS: Scoring has the best test performance compared to markers and their combinations. It was observed that since the test is affected by the prevalence of malignancy, the performance of molecular tests with high NPV and PPV in post-validation studies could not reach the values in validation studies. The malignancy rate in our study is higher than expected in TSBRS. Therefore, lower NPV and higher PPV were obtained in scoring compared to molecular tests. The prevalence-NPV curve drawn according to our results is parallel to the curves of molecular tests and indicates that the IHC scoring system performs similar to molecular tests. The scoring system is a good 'Rule in' test with prevalence >10%(PPV>40%), and it is a good 'Rule out' test with a prevalence of 5-20% in all cases(NPV:95-98%). Molecular tests cannot be performed in our country due to limitations of centers with necessary infrastructure, the panels are all commercial, and the materials must be sent abroad. Very expensive molecular tests have a low cost/benefit ratio compared to IHC. The most important advantages of IHC are that it can be easily applied in all pathology laboratories, IHC evaluation can be made by any pathologist, and it is considerably less expensive compared to molecular tests. Accompanied by clinical and radiological data, in indeterminate lesions, in particularly Bethesda III, combined IHC scoring system is very powerful tool in patient management and can be used as an alternative to molecular tests, and its combination with molecular tests has potential for improve test performance in selected cases.

KEY WORDS: Thyroid FNAB, indeterminate nodules, AUS/FLUS, FN, CB, ICC

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Son zamanlarda görüntüleme yöntemlerinin gelişmesi ve insanların bu yöntemlere daha kolay ulaşması sonucunda, tiroid nodüllerinin toplumda rastlanma sıklığının giderek arttığı dikkati çekmektedir. Popülasyonun %60-70'inde tiroid nodülleri izlenmektedir. Saptanan bu nodüllerin, büyük kısmını benign nodüller oluşturmakla birlikte, yaklaşık %5-10 kadarı malign, %3-4 kadarı ise ölümcül olabilmektedir.[1] Tiroid malignitelerinin %95'ini foliküler kökenli tümörleri oluşturmaktadır.[2, 3] Tiroid nodüllerinin tanısında, lezyonun boyutu, soliter olup olmaması, sınırları, kanlanması, lezyona kalsifikasyonun eşlik edip etmemesi gibi radyolojik özellikleri ile, serum tiroid hormon düzeyleri, serumda otoimmün tiroiditler ile ilişkili antikorların durumu gibi laboratuvar özellikler ve hastanın semptomları gibi klinik özellikler yol gösterici olmaktadır.[4] Ancak ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) tiroid nodüllerin preoperatif değerlendirilmesinde halen en yaygın ve etkinliği kanıtlanmış tanı testidir. Bu testin amacı hastalara doğru tanı koyarak, cerrahi girişim gerektirecek nodülleri saptamak ve konservatif yaklaşımla takip edilecek benign lezyonların gereksiz cerrahiye gitmesine engel olmaktadır.[4, 5]

İİAB sonucunda tiroid lezyonlarının %70-80 kadarında benign-malign ayırımı doğru olarak yapılabilmektedir. Ancak %20-30 civarındaki olguya kesin tanı verilememekte, bu olgular indetermine lezyon/ara kategori olarak değerlendirilmektedir.[5] Tiroid Sitopatolojisi Bethesda Raporlama Sistemi'nde, bu olgular önemi belirsiz atipi/önemi belirsiz foliküler lezyon (AUS/FLUS-Bethesda kategori III) ve foliküler neoplazi/foliküler neoplazi kuşkusu (FN/FNK-Bethesda kategori IV) kategorileri içerisinde yer almaktadır.[5] Benign olgular genellikle klinik olarak takip edilirken, malign olgular cerrahi tedavi ve gerekli durumlarda ek tedaviler görmektedir. Ancak AUS/FLUS ve FN/FNK kategorilerinde yer alan hastalara, biyopsi sonrası yaklaşım farklılık gösterebilmektedir. Bu hastalarda %10-40 oranında malignite riski bulunmakla birlikte, olguların büyük çoğunluğu benignidir. Malignitesi bulunan hastalar için cerrahi girişim planlanması, benign olguların ise klinik olarak takip edilmesi ve bu hastaların doğru şekilde birbirinden ayrılması gerekmektedir.[4, 5]

Tiroid sitolojisi Bethesda sınıflaması en sık kullanılan ve kabul görmüş sistemlerden biridir. Bu sınıflama AUS/FLUS ve FN/FNK gibi kesin tanı verilemeyen heterojen kategoriler içermektedir. [5] Sıklıkla tanı zorluğu bulunan, kriterleri tam karşılamayan antiteleri, benign mi malign mi olduğu hala tartışmalı neoplaziler ile asıl tanısı eksizyon materyalinin tamamının incelenmesiyle konulması mümkün tümörleri içermektedir. [5] Bu durum, hem tanıyı hem de tedavi yaklaşımını belirlemede daha da kafa karıştırıcı olmaktadır.

İndetermine kategoriler içerisinde yer alan lezyonların doğru tanısında, morfolojik özelliklerin değerli olduğunu belirten literatürler bulunmaktadır. Sitolojik atipisi bulunan olguların, yapısal atipi içeren olgulara kıyasla malignite oranının yüksek olduğu bildirilmiştir. [6-12] Bir başka yaklaşım, immünsitokimyasal (İSK) belirteçlerin benign-malign ayrımında kullanılmasıdır.[13-17] Histopatoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan bu yöntemin, sitoloji materyallerinde özellikle yayma preparatlarda kullanım alanı oldukça sınırlıdır. Sitolojik yaymaların belirli sayıda olması ve yöntemin sitolojik materyele uygulama zorlukları, çoklu antikor panellerinin yapılmasını veya geniş vaka serilerinin oluşumunu önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Ancak hücre bloğu elde edilebilen aspirasyon biyopsileri immünsitokimyasal çalışma için önemli bir tanı potansiyeli oluşturmaktadır.[14] Tiroid karsinomlarının %90'ını oluşturan papiller tiroid karsinomu (PTK) tanısında Galektin-3, HBME1, CK19, CD56, CD57, CITED1, Fibronektin 1 gibi belirteçler kullanılmaktadır.[2] Ancak bu belirteçlerden hiçbirisi tek başına doğru tanı için yeterli değildir. Çeşitli çalışmalarda çelişen sonuçlar bildirilmekte ve doğru tanı için panel halinde kullanılması gerekmektedir.[2, 18-20] Son zamanlarda literatürde sıvı bazlı sitolojik materyallerde veya hücre bloklarında çoklu antikor panellerinin tanıl değerini ölçen çok az sayıda çalışma bildirilmektedir. Bu çalışmaların hemen hemen tamamında antikorların tüm Bethesda kategorilerine ait olgularda tanıl değeri araştırılmış, çok az sayıdaki çalışmada indetermine gruplarla ilgili değerlendirme yapılmıştır.[13, 15-17]

Bir diğer yöntem ise son yıllarda popüleritesi artış gösteren moleküler yöntemlerdir. Afirm, Thyroseq, ThygeNEXT gibi tiroid tümörleri için özel geliştirilmiş, birçok farklı gen mutasyonunu, RNA ve protein ekspresyonunu ayırt edebilen ticari moleküler paneller bulunmaktadır.[21-27] Yüksek sensitivite ve spesifite gösteren bu moleküler testler ile malign ve benign ayrımının büyük ölçüde yapılabildiği iddia edilmektedir. Ancak farklı merkezlerde yapılan bazı çalışmalar, bu testlerin performansının bahsedilenden daha düşük olduğunu bildirmekte ve hala araştırma ve geliştirme aşamasında olduğunu ortaya koymaktadır.[28-33] Bu kompleks ve pahalı valide moleküler testlerin tamamı ticaridir, bu testler kurumlarda yapılamamaktadır. Bu çalışmaları kurumlarda gerçekleştirmek mümkün değildir. Tanı için özel solüsyonlar içerisindeki tiroid aspirasyon materyallerinin veya yayma preparatların yurtdışına gönderilmesi gerekmektedir. Ayrıca 2000-4800\$ gibi oldukça pahalı maliyete sahip moleküler yöntemler, tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, maliyet etkinliği düşük yöntemlerdir.[34, 35] Bu sorunun aşılmasında immünsitokimyasal yöntemler, daha yaygın kullanım imkanına sahip olması ve benzer test performansını daha düşük maliyetle sağlaması ile moleküler çalışmalara alternatif olabilir.

Çalışmamızda, tanı sorunu bulunan Bethesda III ve IV kategorileri içerisinde yer alan geniş bir olgu serisinde, hücre bloğu materyallerinde, Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56

antikorlarından oluşan bir immünsitokimya panelinin, indetermine tiroid sitolojisinde tanısal değeri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma alanında ilktir ve hücre bloğu immünsitokimyasının pahalı moleküler yöntemlere alternatif olup olamayacağı sorusuna bir yanıt aramaktadır.



4. GENEL BİLGİLER

4.1. Tiroid Anatomisi ve Histolojisi

Yetişkin tiroid bezi, boynun orta hattında, trakea ve larinksin hemen önünde yerleşir ve iki ana lobdan oluşur. Bu loblar larinksin ön ve yan kısmını sararken, tiroid kıkırdağının alt yarısını ve trakeanın 2-4. halkalarını kaplar. Paratiroid bezleri genellikle 4 tanedir ve tiroid bezinin arka yüzünde yerleşim gösterirler. Normal tiroid dokusu iki lateral lob bulunduran ve bu lobları birbirine bağlayan ince bir istmustan meydana gelir ve tipik olarak bir kelebeği andırır. Her lob 2-2.5 cm genişliğe, 5-6 cm uzunluğa ve 2 cm derinliğe sahiptir. Lobların üst kutupları daha sivri sonlanırken, alt kutupları daha künt olarak izlenir. Tiroglossal kanal kalıntısı olan piramidal lob, istmustan yukarı doğru uzanan ve tiroid kartilajı üzerinde bulunan dar bir doku parçasıdır ve tiroidlerin %40 kadarında görülmektedir.[36]

Normal yetişkine ait bir tiroid bezinin ağırlığı 15 ila 25 gram arasında değişmektedir. Ancak cinsiyet, yaş, vücut ağırlığı, hormonal durum, bezin fonksiyon durumu ve iyot alımına bağlı olarak ağırlığı farklılık göstermektedir. Örneğin tiroid bezinin ağırlığı ve hacmi, kadınlarda erkeklere kıyasla daha fazladır. Ayrıca gebelik durumunda ve menstrual siklusun sekretuar fazında ağırlığında daha belirgin bir artış olur.[36]

Tiroid bezi ince fibröz kapsül yapısı ile örtülüdür ve bu kapsül yapısından parankim içerisine doğru uzanan ince fibröz septa yapıları tiroid bezini lobüllere ayırır. Tiroidin normal rengi kırmızımsı-kahverengimsidir. Endokrinolojik olarak normal bireylerin yaklaşık %10 kadarında makroskopik olarak saptanabilen nodüler görünüm olabilir ve bu oran yaş ilerledikçe artar.[36]

Subklavyen arterin tiroservikal trunkusundan çıkan inferior tiroidal arter ile karotis eksternadan kaynaklanan superior tiroidal arter tiroidin kanlanmasıyla sorumludur. Süperior ve medial tiroidal ven ile internal jugular vene, inferior tiroidal ven ile brakiosefalik vene drene olur. Foliküller çevresinden başlayan lenfatik damarlar subkapsüler kanallara bağlanır ardından venleri takip ederek bölgesel lenf nodüllerine boşalır. Ardından sırasıyla, perikapsüler lenf nodülleri, internal jugular zincir lenf nodülleri, pretrakeal (Ayrıca Delfian lenf nodülü olarak da bilinir.), paratrakeal ve prelaringeal lenf nodülleri, retrofaringeal ve retroözofageal lenf nodüllerine drene olur. Süperior ve orta servikal sempatik gangliondan çıkan sinirler, damarlar üzerinden etki göstererek, tiroid bezinin sekretuar fonksiyonlarını kontrol eder.[36]

Tiroidin temel yapıtaşı, oval şekilli, santralinde kolloid içeren, çevresinde bazal membrana oturmuş tek sıralı genellikle küboidal epitel hücrelerinden meydana gelen folikül yapısıdır. Foliküller yaklaşık 200 µm büyüklüğünde olup, birbirlerinden ince ve gevşek bağ dokusu ile ayrılır. Kolloid, tiroisitler tarafından salgılanan, tiroglobulin ve benzeri proteinlerden

oluşan, kıvamlı proteinöz bir materyaldir ve salgı yapan foliküllerde soluk eozinofilik renkli iken, aktif olmayan foliküllerde koyu eozinofilik renklidir. Aktif salgı yapan foliküllerde, kolloidin tiroositlere bakan yüzünde reabsorbsiyon vakuelleri bulunur. Fonksiyonel durumuna göre foliküllerin boyutları birbirinden farklılık gösterebilir. Tiroositler fonksiyonel durumlarına göre basıklaşmış (endoteloid), küboidal veya kolumnar özellikte ve farklı büyüklükte olabilir ancak polarizasyonunu her koşulda korur. Dinlenme fazındaki bir folikülde, eksantrik yerleşimli tek nükleol bulunduran, hücrenin santralinde yerleşimli yuvarlak-oval nükleus içeren tiroositler izlenirken, aktif sekresyon yapan bir folikülde nükleuslar büyük ve bazale doğru yer değiştirir. Sitoplazma genelde zayıf eozinofilik özelliktedir. Eğer parlak eozinofilik ve granüler bir özellik kazanırsa ‘Hürthle’ hücresi olarak adlandırılır.[36]

Parafoliküler C hücreleri, tiroid dokusunun %0.1 kadarlık kısmını oluşturan, foliküller arasına genellikle tek tek hücreler şeklinde dağılmış veya küçük gruplar halinde, poligonal şekilli, granüler soluk eozinofilik sitoplazmalı, santralde yerleşimli nükleol içeren, yuvarlak nükleuslu, tiroositlerden daha büyük ve soluk görünümlü, peptid hormon kalsitonin salgılayan hücrelerdir.[36]

Tiroglobulin antikoru normal tiroositleri ve tiroositlerden köken alan tümörleri boyayan en spesifik antikordur. Sitoplazmik ve kolloidal boyanma izlenir. Onkositler daha az oranda boyanır. Ancak tiroglobulin antikorumun, tiroglobulin proteininin tiroisit dışı diğer hücrelere sızmasıyla (stromal dokular, metastatik tümörler gibi) yalancı boyanmalara neden olabileceği akılda tutulmalıdır. Tiroid transkripsiyon faktörü 1 (TTF1), önce tiroositlerde, ardından akciğerdeki pnömositlerde bulunan önemli bir nükleer transkripsiyon faktörüdür. Tiroositlerde ve medüller tümörler de dahil olmak üzere tiroid kökenli tümörlerde TTF1 ile nükleer boyanma izlenir. Anaplastik tiroid karsinomalarında boyanma her zaman izlenmemektedir. Tiroid foliküler epitelde çeşitli sitokeratin (cytokeratin-CK) ifadeleri izlenir. CK7 ve CK18 ile kuvvetli boyanma görülürken, CK8 ve CK19 ile soluk boyanma dikkati çeker. Diğer sitokeratinler genelde negatiftir. Parafoliküler C hücreleri başta kalsitonin antikoru olmak üzere, TTF1, düşük moleküler ağırlıklı sitokeratin, kromogranin A, sinaptofizin, karsinoembriyjenik antijen (CEA), kalsitonin geni ilişkili peptid, somatostatin ile immünreaksiyon gösterir.[36]

4.2.Tiroid Tümörleri

4.2.1. Papiller Tiroid Karsinomu (PTK)

Papiller tiroid karsinomu (PTK), foliküler hücre diferansiasyonu gösteren ve özel bir takım nükleer özellikler bulunduran tiroidin malign epitelyal bir tümörüdür.

Hem yetişkinlerde hem de çocuklarda görülen en sık tiroid kanseridir. Primer tiroid kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Kadınlardaki prevalansı erkeklerin 3 katıdır. Ortalama hasta yaşı 50 olup, hastaların %91'i 20-74 yaş aralığında yer almaktadır. Amerika 'National Cancer Institute' 2020 verilerine göre tüm kanserlerin %2.9'unu tiroid kanserleri oluşturmakta ve her yıl yaklaşık 12.9/100.000 yeni vaka saptanmaktadır. [1] Türkiye'de ise 2016 verilerine göre erkeklerde 6.2/100.000, kadınlarda 22.9/100.000 vaka görülmektedir.[37] Son yıllarda özellikle görüntüleme yöntemlerinin gelişmesiyle insidansında artış dikkati çekmektedir.

Bilinen en önemli risk faktörü iyonize radyasyona maruz kalmaktır. Diğer risk faktörleri ise obezite, diyabet, sigara ve alkol kullanımı, diyetle alınan nitratlar ve iyotlar ile genetik yatkınlıktır.

PTK genellikle asemptomatik, ağrısız tiroid nodülü şeklinde prezente olur. Büyümüş servikal lenf nodülleri eşlik edebilir. Ses kısıklığı ve disfaji %20 olguda görülür ve rekürren laringeal sinir tutulumunu veya trakeal basıyı işaret ediyor olabilir. %27 olguda ipsilateral taraf lateral servikal lenf nodüllerinde tutulum tanı anında mevcuttur. [2]

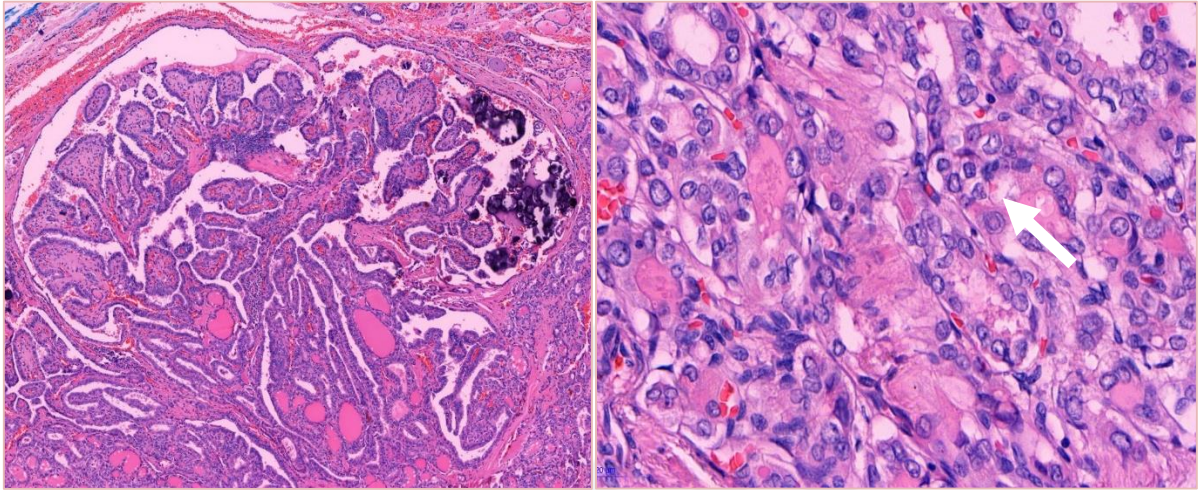
¹²³I tiroid incelemesinde PTK genellikle soğuk (iyot tutulumu göstermeyen) nodül şeklinde izlenir. Tiroid USG incelemesinde, düzensiz sınırlı, mikrokalsifikasyon gösteren, boyu eninden daha büyük, disorganize vaskülarizasyona sahip, hipoekoik ya da izoekoik solid nodüller şeklinde izlenir. Bu sonografik bulgular, PTK açısından kuvvetle şüpheli olmakla birlikte preoperatif tanı ancak İİAB ile konmaktadır.

Olguların bir kısmında tümör multipl odakla halinde izlenmektedir. Lenfatik damarlar ile yayılım yapmakta ve genellikle lateral ve orta servikal lenf nodülü metastazları izlenmektedir. Hematojen yayılım oldukça nadirdir. Makroskopik olarak, düzensiz ve infiltratif sınırlı, krem beyaz renkli kesit yüzüne sahip, zaman zaman kalsifikasyon gösteren, sert lezyonlar şeklindedir. Mikroskopik olarak klasik (konvansiyonel) PTK'nın iki kardinal bulgusu bulunmaktadır. Bunlar papiller yapılar ve tipik nükleer özelliklerdir.[2] (Resim 4.1)

Papiller yapılar, üzerinde neoplastik epitelyal hücre sırası bulunduran santralinde fibrovasküler kor içeren yapılardır. Bu papillalar kısa veya uzun, birbirine paralel ya da dallanma gösterir şekilde, sıkı paketlenmiş veya gevşek görünümde olabilir.

Nükleus özellikleri üç kategoride gruplanabilir. Bunlar;

- 1) Nükleus şekil ve boyutunda değişiklik: Nükleer büyüme, üst üste binme (overlapping), kalabalıklaşma ve uzama
- 2) Nükleus membran düzensizlikleri: İrrgüler kontür, yarıklanmalar, intranükleer psödoinklüzyonlar
- 3) Kromatin özellikleri: Nükleus kromatininde şeffaflanma, nükleus membranında belirginleşme ve kalınlaşma



Resim 4.1. PTK'ya ait histopatolojik resimler. İlk resim papiller organizasyon ve kalsifikasyon, ikinci resim tipik nükleus özellikleri, intranükleer inklüzyon okla işaretli

Mitoz oldukça nadir izlenir. Papiller ve foliküler paternlerin yanı sıra solid veya trabeküler organizasyon izlenebilir. Az diferansiye tiroid tümörü gibi diğer tümör tipleriyle karıştırılmamalıdır. Psammom cisimleri, stroma ya da lenfatik damarlar içerisinde yerleşen, konsantrik lameller görünümde kalsiyum birikimleridir ve vakaların %50'sinde bulunur, sıklıkla papiller büyüme paterni gösteren tümörlere eşlik eder. Skuamöz metaplazi ve non-neoplastik dağınık multinükleer histiyositik dev hücreler izlenebilir.

İmmünohistokimyasal olarak PTK tiroglobulin, TTF1, PAX-8 ve çeşitli sitokeratinleri (pansitokeratin, CK7, CAM5.2, AE1/AE3) ekspres eder.[38] CK20, kalsitonin ve nöroendokrin belirteçler negatiftir. Galektin-3, HBME1, CK19 ve CITED1 PTK'yı benign lezyonlardan ayırmakta yardımcıdır ancak mikroskopik özelliklerle birlikte yorumlanmalıdır. [2, 39, 40]

Sitolojik incelemede, yaymalar selüler görünümde olup, zeminde sulu, daha sıklıkla ipsi kolloid ve sakızsız kolloid denilen kolloidal materyal dikkati çekmektedir. Yaymalarda tek sıralı ya da 3 boyutlu papiller yapılar ile nükleer veya kalsifik debriler, makrofajlar, stromal fragmanlar, multinükleer dev hücreler izlenir. Tümör hücreleri büyümüş, uzamış veya oval şekilli ve eozinofilik sitoplazmalıdır. Nükleuslarda ise uzama, nükleus membran

belirginleşmesi, kromatinde şeffaflaşma, yarıklanma ve psödoinklüzionlar görülür. Nükleol genellikle küçük ve eksantrik yerleşimlidir. PTK'da çeşitli histolojik tipler ve varyantları izlenmektedir. [2]

- Papiller mikrokarsinoma; tümör boyutunun 1 cm'nin altında olduğu tipidir. Otopsi serilerinde %5.6-35.6 oranında saptanmıştır. Küçük boyutlu olmaları nedeniyle makroskopik incelemede gözden kaçabilmektedir. Mikroskopik olarak irregüler sınırlı skar benzeri görünümü tipiktir. Bazen kalsifikasyona uğramış kalın kapsül yapısı dikkati çekmektedir. PTK'nın bütün klasik özelliklerini taşımaktadır. Özellikle küçük boyulu olmaları ve çok iyi prognoz göstermeleri nedeniyle mikrotümör olarak adlandırılması önerilmiştir.[41] Özellikle BRAF mutasyonu gösteren formlarında nadiren agresif seyir izlenebilmektedir.
- Enkapsüle varyant; klasik PTK özellikleri yanı sıra tümörü çepeçevre saran intakt ya da invazyona uğramış kapsül yapısı bulundurmaktadır. PTK'ların yaklaşık %10 kadarını oluşturmaktadır. Prognozu oldukça iyidir. Bölgesel lenf nodüllerine metastaz izlenebilir.
- Foliküler varyant (FV PTK); tamamen veya büyük oranda foliküler paternin izlendiği varyantıdır. İnfiltratif subtipi en sık izlenen formudur ve folikülleri döşeyen hücreler klasik PTK'ya çok benzer. Lümendeki kolloid homojen ve yoğun eozinofilik görünümündedir. Seyrek olarak kistik dilate formları bulunmaktadır. Diğer subtipi ise invaziv enkapsüle tipidir. Bu tümörün PTK ailesine ait olduğunu düşünen dört özelliği bulunmaktadır. Bunlar; (1) Odaklardan bazıları klasik PTK görünümünde, multisentrik odaklar halinde izlenmesi, (2) servikal lenf nodülü metastazı gibi PTK'ya benzer klinik seyre sahip olması, (3) metastatik nodüllerde papiller konfigürasyonun izlenmesi, (4) FK'dansa PTK'ya daha çok benzeyen keratin ifadesidir.
- Diffüz sklerozan varyant; bu nadir varyant genellikle kadınlarda ve 2-3. dekatta izlenir. Tiroid bezinde diffüz büyüme ile prezente olur. Yüksek serum anti-tiroglobulin ve anti-mikrozomal antikorları nedeniyle klinik olarak Hashimoto tiroiditini ya da tahta sertliğindeki tiroid bezi ile Riedel tiroiditini taklit edebilir. Bir lobu ya da bütün tiroidi diffüz olarak tutar. Dens skleroz, bol miktarda psammom cisimleri ve zeminde kronik lenfositik tiroidit benzeri değişiklikler dikkati çeker. Skuamöz metaplazi izlenir. Sitolojik olarak tümör hücre yuvaları, psammom cisimleri ve kaba kalsifikasyonlar dikkati çeker. Tümör hücreleri etrafında hafif lenfositik infiltrasyon izlenebilir. Klasik PTK ile kıyaslandığında, daha sık olarak ektratiroidal yumuşak dokuya yayılım, hem unilateral hem de bilateral servikal lenf

nodülü metastazı ve başta akciğer olmak üzere uzak organ metastazı görülür. Bu tümörlerde RET/PTK rearanjmanı sıklıkla izlenirken, BRAF mutasyonlarına çok nadir olarak rastlanır. Mortalite oranları klasik PTK ile benzer olup, hastalıksız sağ kalım süresi daha kısadır.

- ‘Tall cell’ varyantı; tümörün %30’undan fazlasını kapsamak üzere, boyu eninin 2-3 katı uzunlukta, belirgin eozinofilik (onkosit benzeri) sitoplazma içeren hücrelerden meydana gelmektedir. Özellikle intranükleer psödoinklüzyonlar olmak üzere klasik PTK’nın nükleer özellikleri belirgin olarak izlenir. Sitolojik olarak hücre şekli uzamış, sitoplazmik sınırları belirgin, granüler eozinofilik sitoplazmalı, çeşitli büyüklüklerde nükleusa sahip tümör hücreleri izlenmektedir. Genellikle ileri yaş hastalarda izlenir ve agresif seyir gösterir. PTK’ya kıyasla daha sık ekstrasitoid yayılım ve metastatik hastalık izlenmektedir. Sıklıkla BRAF mutasyonu taşımaktadır. Ayrıca diğer agresif seyirli varyantlar ile benzer şekilde TERT promotör mutasyonları daha sık izlenmektedir.
- Kolumnar hücreli varyantı; nadir bir varyant olup, papilla ve gland benzeri organizasyon ve psödostratifikasyon gösteren kolumnar hücrelerden meydana gelmektedir. Ancak diğer varyantların aksine, PTK’nın tipik nükleer özelliklerini belirgin olarak sergilemez. Zaman zaman endometriod karsinoma veya müsinöz karsinomaı andıran subnükleer vakuoller ya da şeffaf sitoplazma izlenebilir. İntestinal diferansiasyonu gösterdiği varsayılan CDX2 pozitifliği ile TTF1 boyanması dikkat çekicidir. Sitolojik olarak kohezyon gösteren, belirgin papiller yapılar oluşturan, kolumnar şekilli, hücrenin bir ucuna doğru daralan, soluk sitoplazmalı hücre kümeleri izlenir. Nükleer palizatlanma ve stratifikasyon papiller fragmanın periferinde belirgindir. İtranükleer inklüzyonlar, nükleer yarıklanmalar, psammom cisimleri ve multinükleer tümör dev hücreleri nadirdir. Prognoz tümörün enkapsüle ya da infiltratif olmasına göre değişkenlik gösterir.
- Kribriform-morüller varyantı; özel bir tip olup, sporadik ya da ailesel adenomatöz polipozis (FAP) sendromunda izlenebilir. Hemen tamamı kadın hastalarda izlenmektedir. Genellikle enkapsüle özellikte, kribriform, foliküler, papiller, trabeküler ve solid büyüme paternlerinin karışımı şeklinde izlenen tümöre, morül adı verilen skuamöz yapılar eşlik eder. TTF1 ile yamasal, tiroglobulin ile fokal ve zayıf boyanma izlenir. Nükleer beta-katenin boyanması bu varyant için tipiktir.
- Hobnail varyantı; tümörün %30’undan fazlasında, kompleks papiller ve mikropapiller organizasyon gösteren, belirgin nükeollü, nükleusu apikale doğru yer değiştirmiş, nükleus/sitoplazma oranı artmış, eozinofilik sitoplazmalı, hücresel

tutunması azalmış hücrelerden meydana gelen oldukça nadir bir varyanttır. Nekroz, mitoz, anjiolenfatik invazyon, ekstratiroidal yayılım, rekürrens ve metastaz sıklıkla izlenir. İmmünohistokimyasal özellikleri klasik PTK ile benzer olup, tümör hücrelerinin %25'inden fazlasında nükleer P53 pozitifliği dikkat çekicidir. BRAF V600E mutasyonu en sık izlenen genetik değişiklik olup, bunu P53 mutasyonu izlemektedir.

- Fibromatozis/ Fasiit benzeri stroma bulunduran PTK; çok nadir bir varyant olup, stromada fibromatosizi ve fasiiti andıran yoğun ve selüler fibrozis dikkat çekicidir.
- Solid/tabeküler varyant; nadir bir varyanttır ve diğer varyantların dışlanmasıyla tanı konulur. Sıklıkla pediatrik yaş grubunda saptanır ve iyonize radyasyon maruziyeti ile ilişkilidir. Diğer varyantlarla kıyaslandığında, daha sık olarak akciğer metastazı ve daha yüksek mortalite izlenir. RET/PTK3 füzyonu görülür. Az diferansiye tiroid karsinomu ayırıcı tanıda mutlaka akılda tutulmalıdır.
- Onkositik varyant; çok nadir olarak izlenir. Papiller organizasyon gösteren onkositik hücrelerden oluşur ve 'Tall cell' varyanttan mutlaka ayrılmalıdır.
- İğsi hücreli varyant; PTK'da iğsi hücreli metaplazi sonucunda izlenir. Bu hücreler epitelyal kökenlidir ve TTF1 ve sitokeratin ekspresyonuyla bu durum kanıtlanabilir. Bu hücreler İİAB sonucunda görmeyi beklediğimiz kanama ve hemosiderin birikimi alanlarıyla ilişkisizdir. Nekroz ve mitozun izlenmemesi anaplastik tiroid karsinomundan ayrımında önemlidir.
- Şeffaf hücreli varyant; genellikle onkositik hücrelerle birlikte görülen şeffaf hücrelerle karakterli, görmeye alışkın olmadığımız, çok nadir bir varyanttır. Şeffaf hücreli medüller karsinoma ve renal hücreli karsinoma metastazı ayırıcı tanıda akılda tutulmalı, immünohistokimyasal belirteçler yardımıyla ayırım yapılmalıdır.
- Warthin benzeri varyant; genellikle düzgün sınırlı, tükrük bezinin Warthin tümör ile benzer şekilde, korlarında yoğun lenfoplazmositer infiltrasyon bulunduran, yüzeyi büyük eozinofilik sitoplazmalı hücreler ile karakterli papillalardan oluşmaktadır. Zeminde kronik lenfositik tiroidit olabilir.

PTK'da izlenen genetik değişiklikler Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Bunlar genellikle MAPK yolağında aktivasyona neden olan mutasyonlardır.[42, 43] Mutasyonların yaklaşık %75 kadarını *BRAF V600E* ve *NRAS* gibi genlerde izlenen nokta mutasyonları oluştururken, %15 kadarında gen füzyonunun ve %7 kadarında ise kopya sayısı değişikliklerinin rol oynadığı görülmektedir. Diğer organ tümörlerine kıyasla PTK daha stabil bir genoma sahiptir ve düşük sayıda mutasyon içerir. [2]

Tablo 4.1. PTK’da en sık görülen genetik değişikliklerin literatürde izlenen prevalansını gösteren tablo [2]

	<i>BRAF</i>	<i>RET</i>	<i>RAS</i>	<i>TERT promotör</i>	<i>ALK</i>
Bütün tipler	%30-90	%5-35	%0-35	%5-25	%0-5
Konvansiyonel PTK	%45-80	%5-25	%0-15	%5-15	-
Foliküler varyant PTK	%5-25	%5-25	%15-35	%5-15	-
‘Tall cell’ varyant PTK	%60-90	%35	%0	%5-30	-

BRAF V600E mutasyonu, başta konvansiyonel tip ve ‘Tall cell’ varyantta olmak üzere, PTK’da en sık görülen driver mutasyondur.[44, 45] *BRAF K601E* nokta mutasyonu, *AKAP9-BRAF* rearanjmanı ve 600. kodona ait delesyon veya insersiyonlar ise daha az oranda görülen diğer genetik değişikliklerdir. *RAS* geninde (*KRAS*, *NRAS*, *HRAS*) mutasyonlar da özellikle foliküler varyantta olmak üzere sık görülen diğer bir mutasyon çeşididir. Birçok *RAS* benzeri tümör papiller benzeri nükleer özellikler gösteren non-invaziv foliküler neoplazi (NIFTP) veya malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör başlığında yeniden sınıflandırılmıştır. *EIF1AX* mutasyonu da FV PTK’da izlenen muhtemel driver mutasyonlardan biridir. *RET/PTK* rearanjmanı PTK’da en sık izlenen kromozomal rearanjmandır. Diğerleri ise *NTRK3*, *NTRK1*, *ALK* gibi genleri ilgilendiren füzyonlardır.[46] Rearanjmanlar genellikle radyasyon ilişkili PTK’da ve pediatrik yaş grubunda izlenmektedir. Ayrıca *P53*, *PIK3CA*, *AKT1* genlerinde görülen mutasyon birikimleri de kanser gelişiminde rol oynamaktadır. *TERT* mutasyonu daha ileri evre hastalık, artmış rekürrens, uzak metastaz riski ve hastalığa bağlı mortalite ile ilişkilidir.

Yıllar içerisinde PTK’da izlenen mutasyonların sıklığı değişmiştir. *BRAF V600E* mutasyonlarının prevalansı sabit kalmış veya hafif artmışken, *RAS* mutasyonlarında belirgin artış saptanmış, *RET/PTK* rearanjmanı sıklığında azalma tespit edilmiştir. Kanser Genom Atlas Araştırmasına (TCGA) [46] göre PTK moleküler olarak iki sınıfa ayrılmıştır.

- 1) *BRAF V600E* benzeri imza taşıyan tümörler, genellikle konvansiyonel PTK morfolojisinde, *BRAF V600E* mutasyon prevalansı yüksek olan, MAPK yolağında

sinyalizasyonu artmış, tiroid diferansiasyon skoru düşük, rölatif olarak daha heterojen moleküler profil sergileyen tümörlerdir.

- 2) RAS benzeri imza taşıyan tümörler, yaklaşık %80 oranında enkapsüle özellikte ve foliküler büyüme paterni gösteren, RAS mutasyon prevalansı yüksek olan, MAPK yolağında sinyalizasyonu azalmış, tiroid diferansiasyon skoru yüksek, rölatif olarak daha homojen moleküler profil sergileyen tümörlerdir.

Anoploidi ‘Tall cell’ varyant, yüksek dereceli özellikler ve agresif seyirle ilişkilendirilmiştir. İzlenen mikroRNA ekspresyon paterni PTK açısından ayırıcı özellikler göstermektedir. miR-146b, miR-221, miR-222 ifadelerinde artış prognostik bilgi sağlaması açısından faydalıdır. ‘Tall cell’ varyantta miR-21 ifadesinin epigenetik olarak yeniden düzenlendiği aşırı eksprese olduğu saptanmış, bunun agresif seyre katkı sağlıyor olabileceği düşünülmüştür.[2]

PTK olguların yaklaşık olarak %5 kadarında, otozomal dominant geçişli APC gen mutasyonu ile karakterli FAP sendromu izlenmektedir. FAP’lı hastaların yaklaşık %1-2’sinde özellikle kribriform morüler varyant olmak üzere PTK gelişmektedir. Carney kompleksi ve Verner sendromu PTK gelişimi ile karakterli diğer sendromik hastalıklardır. Non-sendromik ailesel tiroid kanseri (ailesel medüller olmayan tiroid kanseri), belirli bir kalıtsal sendrom ile ilişkilendirilemeyen ve ailesinde tiroid kanseri öyküsü bulunan bireylerde görülen, genellikle multifokal ve benign lezyonlarla ilişkili olarak izlenen kanser türüdür.[2]

PTK genel olarak yavaş seyirli ve çok iyi prognozludur. Genel mortalite oranı % 1-6.5 arasında değişmektedir. Prognozu en çok etkileyen faktör klinik evredir. Bağımsız kötü risk faktörleri hasta yaşı (>45), tümör boyutu (>3-4 cm), ekstratiroidal yayılım ve uzak metastazdır. Bağımsız olmayan kötü risk faktörleri ise erkek cinsiyet, lenf nodülü metastazı, komplet olmayan cerrahi eksizyon, tümör hücre tipi/büyüme paternidir. TERT promotör mutasyonları ile multipl eşzamanlı mutasyonların bulunması moleküler olarak kötü prognostik özellikler arasında yer almaktadır. PTK’da prognozu belirlemede çeşitli prognostik skorlama sistemleri (AMES, AGES, MACIS gibi) bulunmaktadır. [2]

4.2.2. Foliküler Karsinoma (FK)

Foliküler karsinoma, PTK’nın nükleer özelliklerini içermeyen, genellikle invaziv ve enkapsüle görünümde, foliküler hücrelerden meydana gelen bir tiroid tümörüdür.

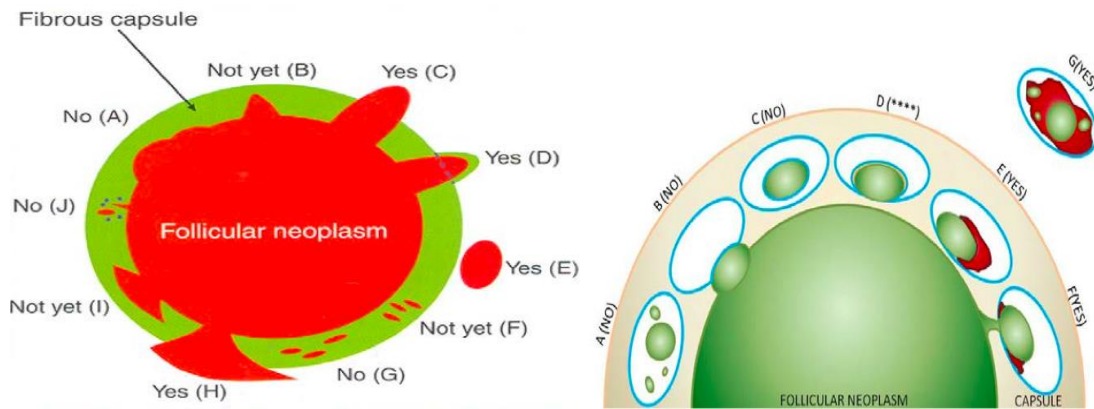
Tüm tiroid kanserlerinin %6-10 kadarının oluşturmaktadır. En sık 7. dekatta izlenir. Diyetle yetersiz iyot alımı, FK ve nodüler guatr için en sık görülen risk faktörüdür. İyonize radyasyon maruziyeti PTK’da olduğu gibi bir diğer risk faktörüdür. Ancak risk PTK’da olduğundan çok daha düşüktür.

Ağrısız boyun kitlesi şeklinde prezante olur. Bölgesel lenf nodüllerinde büyüme PTK'yla kıyaslandığında çok nadir bir bulgudur. Bazı vakalarda akciğer veya kemikte metastatik lezyonların saptanmasıyla tanı konur.

Makroskopik olarak kalın kapsüllü, zaman zaman kalsifikasyon içeren, solid görümlü nodül şekilde izlenir ve bu görünüm foliküler adenomu andırır. Ancak bazı olgularda kapsül invazyon alanı da seçilebilir. Yaygın invaziv formlarında ekstratiroidal dokuya yayılım görülebilir.

FK tanısının yapılabilmesi için kapsüller ve/veya vasküler invazyonun gösterilmesi gerekmektedir. (1) Minimal invaziv (sadece kapsül invazyonu), (2) enkapsüle anjioinvaziv ve (3) yaygın invaziv olmak üzere 3 altipi bulunmaktadır.

Mikroskopik olarak, foliküler adenoma benzer şekilde, trabeküler, solid veya foliküler (mikro-, makro-, normo-) organizasyon gösteren, PTK'nın nükleer özelliklerini kesinlikle taşımayan hücrelerden oluşmaktadır. Tümör genellikle kalın ve düzensiz fibröz kapsülle çevrilidir ve kapsülde kalsifikasyon izlenebilir. Kapsül invazyonu denebilmesi için, tümör hücrelerinin kapsülün tüm kalınlığı boyunca ilerleyip kapsül dışı tiroid dokusuna çıkması gerekmektedir. Kapsülün iç kısmında düzensizlik, tümörün kapsülü itmesi ve kapsül içinde solid tümör adalarının görülmesi kapsül invazyonu olarak değerlendirilmemelidir. Ayrıca invazyon sonucunda tümör hücrelerinin tiroid parankimine temas ettiği alanlarda stromal reaksiyon sıklıkla gelişir ve bu bağ dokusu kapsülle karıştırılmamalıdır. İnvazyon alanları genellikle kapsülden mantar benzeri çıkışlar şeklinde olur.[2, 47] (Resim 4.2)



Resim 4.2. Foliküler karsinomada kapsüler ve vasküler invazyon[47]

Vasküler invazyon genellikle boyutundan bağımsız olarak venöz damarlara olur. Vasküler invazyon diyebilmek için, intravasküler tümör hücrelerinin ya üzerinin endotelle kaplanarak ya da fibrin veya trombus kitlesi ile damar duvarına tutunmuş olması gerekmektedir.[2, 47] (Resim 4.2) Vasküler invazyon prognostik açıdan önemlidir ve sınırlı sayıda damar tutulumu, yaygın damar tutulumuna kıyasla daha iyi prognoz göstergesidir.

Lenfotik invazyon beklenen bir bulgu olmayıp, izlendiği durumda tanının FV PTK açısından gözden geçirilmesi faydalıdır.

Yaygın invaziv FK, genellikle büyük boyutlu ve kötü prognozlu bir tümör olup, belirgin tiroid parankim ve ekstratiroidal doku invazyonu bulundurmaktadır. Yaygın vasküler invazyon çok sık eşlik etmekle birlikte, tek başına yaygın invaziv FK tanısı için yeterli değildir.

Foliküler paternli lezyonların benign-malign ayrımı maalesef İİAB incelemesi ile yapılamaz çünkü FK tanısı kapsüller ve/veya vasküler invazyonun gösterilmesiyle konulmaktadır. Bu lezyonlar genelde Bethesda IV- FN/FNK kategorisi içinde yer almaktadır.

TTF1, tiroglobulin ve PAX8 antikoru ile pozitiflik izlenir. İmmünohistokimyasal olarak kullanılan belirteçlerin, benign-malign ayrımında değeri oldukça sınırlı ve şüphelidir. CK19, Galektin-3 ve HBME1 gibi çeşitli antikorularının kombine kullanımının ayırıcı tanıda kullanılabileceğini öne süren otörler bulunmakla birlikte[48], bu konuda fikir birliği ve kesin kanıtlar henüz bulunmamaktadır.

Şeffaf hücreli varyant; tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında şeffaf hücre değişikliğiyle karakterli, tiroid tümörlerinden %1'inden azını oluşturan bir FK varyantıdır. Şeffaf hücre değişikliği en sık onkositik lezyonlarda olmak üzere, çeşitli benign (papiller hiperplazi) ve malign (PTK, medüller tiroid karsinomu, vb.) lezyonlarda görülebilir. Tanı için metastatik şeffaf hücreli renal karsinoma, medüller tiroid karsinomu ve paratiroid tümörleri ekarte edilmelidir. Konvansiyonel tümörlere göre daha kötü prognozlu olduğunu düşünülmektedir.

Taşlı yüzük hücreli varyant, glomerüloid varyant, iğsi hücreli varyant ise diğer varyantlarıdır ve oldukça nadir izlenir.

FK'da, PTK'ya kıyasla, çok daha yüksek oranda sayısal kromozal anomaliler ve belli kromozom bölgelerinde kayıp ya da kazanımlar dikkati çekmektedir. FK'nın %65'inde sitogenetik değişiklikler saptanmaktadır. En sık RAS nokta mutasyonları izlenir ve tümörlerin %30-50 kadarında bulunmaktadır. [49-51] Ardından tümörlerin %20-30 kadarında bulunan, *PAX8-PPARG* ve *CREB3L2-PPARG* gen füzyonları gelmekte olup, *PAX8-PPARG* füzyonu saptanan hastalar, daha genç yaşadadır ve daha sık vasküler invazyonla prezante olur. [50] RAS mutasyonları ve *PPARG* füzyonu foliküler adenomlarda da saptanır ve bu durum bu iki tümörün birbiriyle ilişkili olduğunu desteklemektedir. *TERT* promotör mutasyonları %20 kadar olguda izlenir ve daha agresif klinik seyir ile ilişkilidir. Son bilgiler *TERT* mutasyonlarının foliküler tümörlerde izlenen en erken mutasyonlardan biri olduğunu ve invazyon öncesinde de tespit edilebildiğini işaret etmektedir. *PIK3CA* mutasyonları ve inaktive edici *PTEN* mutasyonları FK'da izlenen diğer mutasyonlardır. [52] *PTEN* mutasyonu ile karakterli, otozomal dominant kalıtılan ve tiroidin yanı sıra gastrointestinal sistem, genital sistem, meme

ve deri tümörleriyle seyreden kalıtsal bir kanser sendromu olan Cowden sendromu FK ve FV PTK ile ilişkili bulunmuştur. *WRN* geninden mutasyon gösteren, otozomal resesif kalıtılan Werner sendromu da FK ile ilişkili diğer bir hastalıktır.[2]

Yalnızca kapsüler invazyon gösteren ve vasküler invazyon bulundurmayan hastalarda prognoz çok iyidir. Vasküler invazyon kötü prognostik bir faktördür ve genellikle hematojen yayılım yoluyla uzak metastazla ilişkilidir. Ne kadar çok damar tutulumu varsa prognoz o kadar kötüleşir. Kemik, akciğer, santral sinir sistemi ve karaciğer başlıca metastaz bölgeleridir.

Kuşkulu PTK nükleer özellikleri gösteren, belirgin kapsüler ve/veya vasküler invazyon bulunduran, ancak PTK, FK kriterlerini tam karşılamayan, az diferansiye karsinoma veya anaplastik karsinomanın özelliklerini taşımayan, seyir olarak PTK ve FK arasında seyreden, foliküler paternli malign tümörler iyi diferansiye tiroid karsinomu, NOS olarak isimlendirilmektedir.

4.2.3. Malignite Potansiyeli Belirsiz Tümörler (Tumours of uncertain malignant potential-UMPT)

Malignite potansiyeli belirsiz tümörler (Tumours of uncertain malignant potential-UMPT), kapsüler ve/veya vasküler invazyon şüphesi bulunduran, enkapsüle veya düzgün sınırlı foliküler paternli tiroid tümörleridir. PTK benzeri nükleer özelliklerin olup olmasına göre iki gruba ayrılır.

- 1) Malignite potansiyeli belirsiz foliküler tümör (Follicular tumour of uncertain malignant potential, FT-UMP), PTK benzeri nükleer özellikleri göstermez. FA ve FK arasında indetermine bir tümördür.
- 2) Malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör (Well-differentiated tumour of uncertain malignant potential, WDT-UMP), tamamen veya kısmen PTK benzeri nükleer özellikler gösteren grubudur.

Prevalansı ülkeden ülkeye değişmekle birlikte %0.5 ila %7.6 arasındadır.[2] Genellikle tek nodül şeklinde prezante olur. Makroskopik olarak kesit yüzü homojen, gri-beyaz renki, solid görünümlü, kapsüllü, yuvarlak-oval tek nodül şeklinde olup, FA ya da hiperplastik nodüllere benzerdir. Mikroskopik olarak tam ve ayrıntılı bir örnekleme sonrasında sadece foliküler patern gösteren, şüpheli kapsül ve/veya vasküler invazyon bulunduran tümörlerdir. İmmünohistokimyasal özellikleri FA, hiperplastik nodül ve minimal invaziv FK ile benzerdir. Sitokeratinler(CK), tiroglobulin, TTF1 ve PAX antikorları pozitifdir. Kalsitonin, CEA ve nöroendokrin belirteçleri ile reaksiyon beklenmez. Galektin-3, HBME1 ve CITED1 antikorları çok nadiren pozitifdir. WDT-UMP HBME-1, Galektin-3 ve CK19 ile pozitif olabilir.

Sitolojik olarak WDT-UMP büyümüş nükleuslar ve seyrek yarıklanma gösterir. Ancak genellikle psödoinklüzyon içermez ve genellikle sitolojik olarak indetermine tanısal kategoriye girer (Bethesda III-AUS/FLUS, Bethesda IV-FN, Bethesda V-MYK). FT-UMP ise foliküler neoplaziler ile benzer görünüme sahiptir ve B IV-FN/FNK kategorisinde yer alır.

RAS gen ailesinde mutasyonlar görülmesi ve *BRAF V600E* mutasyonlarının bulunmamasıyla foliküler neoplazilere benzer genetik profil taşımaktadır.[53, 54] Uzun dönem takip sonuçları sınırlı olmakla birlikte, genellikle iyi seyirli tümörlerdir. Çok nadiren metastaz ya da rekürrens yapar.

4.2.4. Papiller Benzeri Nükleer Özellikler Gösteren Non-İnvaziv Foliküler Neoplazi (Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features-NIFTP)

Papiller benzeri nükleer özellikler gösteren non-invaziv foliküler neoplazi (Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear features-NIFTP), oldukça düşük malignite potansiyeline sahip, kısmen ya da tamamen papiller benzeri nükleer özellikler taşıyan, damar ya da kapsül invazyonu göstermeyen foliküler paternli tümörlerdir. Non-invaziv enkapsüle foliküler varyant PTK ve malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör kaategorisinde yer alan tümörlerin bazıları artık NIFTP olarak adlandırılmaktadır.[55] Kadın hastalarda ve 4-6. dekatta daha sık görülmektedir. Genellikle ağrısız, asemptomatik, mobil nodüller şeklinde prezente olur. Makroskopik olarak solid görünümlü, düzgün sınırlı, ince ya da orta kalınlıkta kapsül içeren, homojen, hafif beyaz-kahverengi kesit yüzüne sahip tek nodül görünümündedir. Tanısı için 4 histolojik özellik gereklidir:

- 1) Normal tiroid parankiminden kesin sınırlarla ayrılma ya da komplet kapsül yapısı
- 2) İnvazyon olmaması
- 3) Foliküler büyüme paterni
- 4) PTK nükleer özellikleri (fokal ya da diffüz)

Tümör çevre doku ilişkisi ve varsa kapsül yapısı total olarak incelenmelidir. Tümörde fibrovasküler kora sahip gerçek papilla yapıları kesinlikle olmamalıdır. Ayrıca tümör nekrozunun olması, tümörün %30'undan daha fazla oranda trabeküler veya insüler patern içermesi, tümörde 10 büyük büyütme alanında (BBA) 3'ten fazla mitoz bulunması, NIFTP açısından dışlama kriterlerini oluşturmaktadır. [2]

Sitolojik yaymalar genellikle selülerdir ve üç boyutlu folikül grupları ile değişken oranda kolloid içerir. PTK benzeri nükleer özellikler saptanır. NIFTP lezyonların çoğu B IV-FN/FNK kategorisinde yer alır. Diğerleri ise ya Bethesda kategori V-MYK ya da Bethesda kategori III-AUS/FLUS grubunda bulunur.

Moleküler olarak genellikle foliküler paternli tümörler ile benzer olarak sıklıkla *RAS* ve daha az oranda *PPARG* ve *THADA* genlerinde mutasyonlar izlenir. *BRAF K601E* mutasyonu bildirilmekte olup, *BRAF V600E* mutasyonu saptanmamıştır. [55]

Total eksizyon sonrasında rekürrens veya diğer uzun dönem komplikasyonları neredeyse olmamaktadır. Lobektomi tedavi için yeterlidir.

Tablo 4.2. Enkapsüle foliküler paternli tümörlerin nükleer özellikleri ve invazyon durumuna göre 2017 WHO klasifikasyonu önerilen sınıflaması

		KAPSÜLER VEYA VASKÜLER İNVAZYON		
		VAR	KUŞKULU	YOK
PAPİLLER TİROİD KARSİNOMU NÜKLEER ÖZELLİKLERİ	VAR	İnvaziv Enkapsüle Foliküler Varyant Papiller Tiroid Karsinomu	Malignite Potansiyeli Belirsiz İyi Diferansiye Tümör	Papiller Benzeri Nükleer Özellikler Gösteren Non- İnvaziv Foliküler Neoplazi
	KUŞKULU	İyi Diferansiye Karsinoma, NOS		
	YOK	Foliküler Karsinoma	Malignite Potansiyeli Belirsiz Foliküler Tümör	Foliküler Adenom

4.2.5. Az Diferansiye Karsinoma

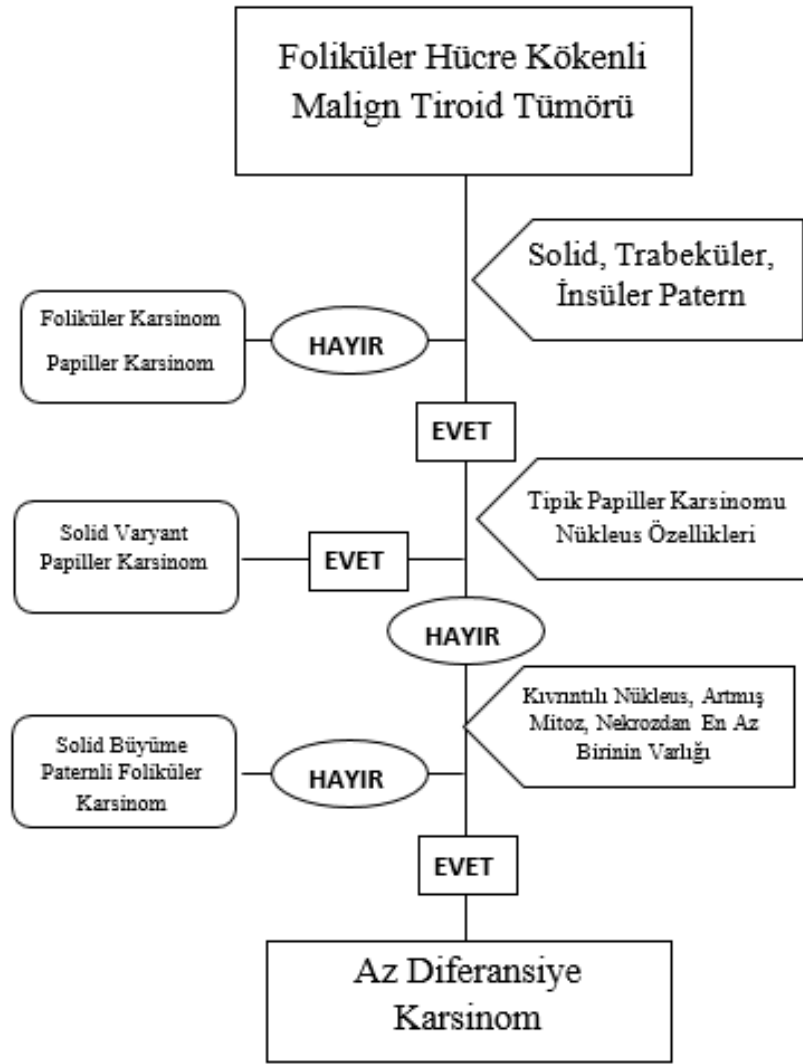
Az diferansiye karsinoma, sınırlı foliküler hücre diferansiasyonu bulunduran, morfolojik ve klinik davranış açısından diferansiye karsinomalar (PTK, FK) ile anaplastik karsinoma arasında seyir gösteren, folikül hücresi kökenli tümörlerdir.

Tüm tiroid kanserlerinin %0.3 ile %6.7 kadarını oluşturmakta olup, hafif kadın baskınlığı izlenir. Genellikle 5 ve 6. dekatta görülür. Uzun süreli guatr hastalarında daha sık görülmekte olup, iyot eksikliği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bazıları PTK veya FK gibi iyi diferansiye tümör zemininde dediferansiasyonla gelişebilmektedir. Genellikle tek büyük tiroid kitlesi şeklinde prezente olur. Uzak organ metastazı tanı anında %15 olguda saptanır. Ultrasonografik olarak homojen olmayan hipoekoik nodül özelliğindedir. Sintigrafik olarak soğuk nodül özelliğinde olup, FDG-PET incelemesinde sıklıkla bu tümörde tutulum izlenir. Tümörler %60-70 oranında peritiroidal yumuşak dokulara kadar uzanım gösteren

yaygın doku invazyonu, %60-90 oranında ise vasküler invazyon bulundurulur. Bölgesel lenf nodülü metastazı ve başta akciğer olmak üzere uzak organ metastazı da sıklıkla izlenir. [2]

Makroskopik olarak büyük, solid, kesit yüzü açık kahverengi renkte, nekroz alanları seçilebilen, kısmen kapsüllü ve itici sınırlara sahip, etrafında satellit nodülleri izlenebilen tümörlerdir. Genellikle tiroid kapsülünü aşmış ve cerrahi sınırlarla devamlılık halinde izlenir.

Mikroskopik olarak insüler paternde bir araya gelen, belirgin sınırlı solid adalar oluşturan, PTK kriterlerini tam olarak karşılamayan, yuvarlak, hiperkromatik veya kıvrıntılı nükleusa sahip, küçük, uniform görünümlü hücrelerden oluşur. Mitoz ve nekroz dikkat çekicidir. Solid ve/veya trabeküler patern gösteren formlarında ise mitoz ve nekroza ek olarak daha büyük ve pleomorfik hücreler izlenir. Kolloid yapısı neredeyse hiç görülmez. Belirgin nükleer pleomorfizm ve anaplazi, anaplastik karsinoma dönüşüme işaret eder. Bu tümör için, 2006 yılında İtalya'nın Turin şehrinde konsensus toplantısı yapılmış ve tanı kriteri olarak belirlenen Turin önerisi Şekil 4.1.'de görülmektedir. Ayrıca bu kriterler, Hürthle hücreli karsinomanın az diferansiye varyantı için de geçerlidir.



Şekil 4.1. Turin konsensus kriterlerine göre az diferansiye karsinoma tanı algoritması [56]

Tanı için 10 BBA'da 3'ten fazla mitoz görülmesi gerekmektedir. Turin kriterinde yer alan değişiklikler eğer tümörün tamamında değil de bir kısmında izleniyor ise mutlaka oranıyla birlikte belirtilmelidir. Az bir kısmında bile az diferansiye komponent bulunduran tümörlerin, iyi diferansiye tümörlere kıyasla daha agresif seyir gösterdiği bilinmektedir. Mitoz ve nekroz kriterlerini karşılayan PTK ve FK'yı az diferansiye karsinoma tanı kategorisine koymamak gerekir. Ancak bu tümörlerin prognozu az diferansiye tümörler ile benzer olduğundan, raporda bu değişiklikler mutlaka belirtilmelidir. Az diferansiye tümörler, iyi diferansiye karsinomalar ile anaplastik karsinoma arasında bir immünohistokimyasal profil göstermektedir.

Sitolojik olarak kalabalık tabakalar, solid hücre kümeleri, trabeküller ve insüler patern gösteren, nükleus/sitoplazmik oranı artmış hücreler izlenir.

Az diferansiye tümörler, genetik olarak da iyi diferansiye karsinomalar ile anaplastik karsinoma arasındadır. Tiroid karsinogenezinin erken aşamalarında izlenen *RAS*[57] ve

BRAF[58] mutasyonları ile *ALK* rearanjmanları yanı sıra geç aşamalarında görmeyi beklediğimiz *P53*, *TERT*, *CTNNB1* ve *AKT1* mutasyonları gibi genetik değişiklikleri içermektedir.[2] (Tablo 4.3)

Tablo 4.3. Başlıca tiroid tümörlerinde görülen moleküler değişiklikler [2]

Tümör tipi	<i>P53</i>	<i>TERT</i>	<i>RAS</i>	<i>BRAF V600E</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>PTEN</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>EIF1AX</i>	<i>ALK</i>
ATK	%40-80	%30-75	%10-50	%10-50	%5-25	%10-15	%0-5	%5-15	%0-10
ADTK	%10-35	%20-50	%20-50	%5-15	%0-15	%5-20	%0-5	%5-15	%0-10
FK	%0	%0-35	%60-50	%0	%0-10	%0-10	%0	%0	%0
PTK	%0	%5-15	%0-5	%40-80	%0-5	%0-5	%0	%0-5	%0-5

ATK; Anaplastik tiroid karsinomu, ADTK; Az diferansiye tiroid karsinomu, FK; Foliküler karsinoma, PTK: Papiller tiroid karsinomu

4.2.6. Anaplastik Tiroid Karsinomu

Anaplastik tiroid karsinomu, andiferansiye foliküler tiroid hücrelerinden oluşan, oldukça agresif seyirli malign bir tümördür.

Primer tiroid tümörleri arasında en kötü seyirli olup, genelde ileri yaşlı hastalarda ve ileri evrede görülür. Kadınlarda erkeklerden iki kat daha sıktır. Herhangi bir risk faktörü bilinmemekle birlikte, genellikle iyi diferansiye tiroid tümörlerinin dediferansiasyonu sonucunda gelişmektedir. Hastalar genellikle çok hızlı büyüyen, sert, hareketsiz belirgin infiltratif kitle şeklinde prezante olur. Ağrı, ses kısıklığı, solunum ve yutma güçlüğü en sık izlenen semptomlardır. Hastaların %30-40 kadarında tanı anında başta akciğer olmak üzere uzak organ metastazı saptanır.[2]

Makroskopik olarak genellikle çevre dokulara infiltre, düzensiz sınırlı, açık ten rengi kesit yüzüne sahip, nekroz içeren, büyük kitleler özelliğindedir.

Mikroskopik olarak (1) sarkomatoid, (2) dev hücreli ve (3) epitelyal olmak üzere, üç patern halinde izlenir. Bu paternler tek tek görülebildikleri gibi, karışık olarak da saptanabilir. Sarkomatoid paternde yüksek dereceli pleomorfik sarkomu andıran malign iğsi hücreler görülür. Dev hücreli patern, bazıları multinükleer özellikte belirgin pleomorfik tümör dev hücrelerinden oluşmaktadır. Epitelyal varyant ise yer yer keratinizasyonun eşlik ettiği, belirgin eozinofilik sitoplazmalı, skuamöz veya skuamoid hücre adalarından meydana gelir. Her üç varyantta da nekroz, yüksek mitotik indeks, infiltratif büyüme paterni ve vasküler invazyon

izlenir. Akut inflamasyon ve tümörü infiltrate eden histiyositler anaplastik karsinomada görülen ikincil özelliklerdir. ‘Pauciceluler’ varyant, belirgin fibrozis ve seyrek atipik iğsi hücreler içeren bir alttippedir ve Riedel tiroiditiyle karışabilir.

Tipik tiroid kökenini gösteren TTF1 ve tiroglobulin antikorları genellikle negatifken, PAX8 ifadesi olguların yarısında korunmuştur.[59, 60] Sitokeratin ifadesi olduğu durumlarda tanıyı destekler ancak olmaması tanıyı ekarte ettirmez. İmmünohistokimyasal belirteçler daha çok ayırıcı tanıda bulunan diğer tümörlerin ekartasyonunda yardımcıdır.

Sitolojik olarak nükleer pleomorfizm ve diğer malign hücresel özelliklerin saptanmasıyla, kolayca yüksek dereceli malignite tanısı konulur. Genellikle hem epitelyal hem de iğsi hücreli komponent izlenir. Tümör hücre kümeleri nötrofiller tarafından infiltrate edilmiştir. Bazen PTK veya FK gibi iyi diferansiye tümör alanına ait hücreler de izlenebilir.

Anaplastik tiroid karsinomunda izlenen moleküler değişiklikler Tablo 2.3’te özetlenmiştir. En sık görülen mutasyon *TP53* mutasyonudur.[61, 62] Ardından *BRAF V600E*, *RAS*, *PIK3CA*, *PTEN* ve *ALK* mutasyonları gelmektedir.[63] Cowden sendromu, Wermer sendromu, Carney kompleksi ve FAP gibi iyi diferansiye karsinomalarla ilişkisi bulunan kalıtsal sendromlarda, bu tümörler zemininde anaplastik karsinoma gelişebilir.

Anaplastik tiroid karsinomunun prognozu çok kötüdür ve mortalitesi %90’nın üzerindedir. İleri hasta yaşı, akut seyir ve tanı anında çok büyük kitleye sahip olmak kötü klinik seyir göstergesidir. *EGFR* ve *ALK* moleküler değişiklikleri bulunan hastalar hedefe yönelik tedavi için aday olabilirler.

4.2.7. Medüller Karsinoma

Medüller karsinoma, C hücre diferansiasyonu gösteren hücrelerin oluşturduğu malign tiroid tümörüdür.

Tüm malign tiroid tümörlerinin %2-3 kadarını oluşturmaktadır. Vakaların %70 kadarı sporadik olup, hafif kadın baskınlığı bulunmakta ve sıklıkla 5 ve 6. dekatlarda görülmektedir. Olguların %30 kadarı kalıtsaldır ve sporadik olanlara kıyasla daha genç yaşta izlenir. Kalıtsal olgularda otozomal dominant geçişli, *RET* protoonkogeninde fonksiyon kazanımına neden olan germline mutasyon izlenir. Multipl endokrin neoplazisi (MEN) tip 2A ve tip 2B ile ailesel medüller medüller tiroid karsinomu sendromlarında karşımıza çıkar.[2]

Bilinen bir etyolojik neden bulunmamaktadır. Tümörler genellikle parafoliküler C hücrelerinin yoğunlaştığı alanlar olan, tiroid lobunun üst ve orta kısmından gelişir. Sintigrafik incelenmede soğuk nodül olarak tariflenen, ağrısız tiroid kitlesi şeklinde prezente olur. Tanı anında %70 kadar hastada bölgesel lenf nodülü metastazı, %10 kadarında uzak organ metastazı bulunmaktadır. Serum kalsitonin miktarı tümör yüküyle doğru orantılı olarak yüksek saptanır.

Tümörden salgılanan çeşitli maddeler nedeniyle ishal, yüzde kızarma gibi farklı semptomlar veya Cushing sendromu görülebilir. CEA, kalsitonin ile birlikte, özellikle kalsitonin düzeyi düşük hastaların takibinde kullanılan en önemli belirteçtir.[2]

Sporadik olanları makroskopik olarak genellikle belirgin sınırlı ancak enkapsüle olmayan, gri-sarı kesit yüzüne sahip, 2-3 cm boyutlarında tek nodül özelliğindedir. Ancak kalıtsal olanları genellikle bilateral ve çok sayıdadır. 1 cm'nin altındaki tümörlere medüller tiroid mikrokarsinomu denir.

Medüller karsinoma, tiroidin diğer maligniteleri ile örtüşen çok çeşitli mikroskopik görünümlere sahiptir. Solid, lobüler, trabeküler ve insüler büyüme paterni gösteren, nükleol bulunduran, kaba kromatinli, yuvarlak nükleusa sahip, eozinofilik veya amfofilik özellikte granüler sitoplazmalı, çeşitli büyüklüklerde, genellikle yuvarlak, poligonal, plazmositoid veya iğsi görünümde hücrelerden oluşmaktadır. Hafif ve orta derecede pleomorfizm izlenir. Seyrek nükleer psödoinklüzyon görülebilir. Mitoz çok nadirdir. %90 kadar olguda stromal amiloidoz birikimi görülür. Kalıtsal olgularda sıklıkla C hücre hiperplazisi tümöre eşlik eder. Papiller, foliküler, iğsi hücreli, dev hücreli gibi çeşitli varyantları bulunmaktadır.

Tümör genellikle kalsitonin, CEA ve kalsitonin gen ilişkili peptid antikoru ile pozitifdir. Nöroendokrin belirteçler olan kromogranin A ve sinaptofizin ile TTF1 antikoruyla da boyanma gösterir. Ayrıca salgıladıkları diğer proteinleri gösteren belirteçler ile pozitif boyanabilir. Tiroglobulin negatiftir. [2]

Sitolojik olarak, tek tek veya gevşek gruplar halinde, yuvarlak, ovoid veya iğsi şekilli, tuz-biber görünümünde kromatine sahip, eksantrik yerleşimli nükleuslu, geniş eozinofilik granüler sitoplazmalı, plazmositoid morfolojide tümör hücrelerinin görülmesiyle tanı konulur. Hücreler zaman zaman binükleasyon gösterebilir. Zeminde amiloid ile uyumlu materyal görülür.

Kalıtsal olgularda otozomal dominant geçişli, *RET* protoonkogeninde fonksiyon kazanımına neden olan germline mutasyon izlenirken somatik *RET* mutasyonları sporadik olgularda görülür.[64, 65] *M918T* mutasyonu hem ailesel hem de sporadik vakalarda sık izlenen diğer bir mutasyondur. *RET* mutasyonu bulunmayan olgularda ise *RAS* (*KRAS* ve *HRAS*) mutasyonları dikkat çekicidir. [66]

Hastalık evresi en önemli prognostik faktörü oluşturmaktadır. Ayrıca ekstrasitroidal yayılım kötü prognoz göstergesidir.

4.2.8. Hürthle (Onkositik) Hücreli Tümörler

Hürthle (onkositik) hücreli tümörler, genellikle enkapsüle görünümde, onkositik hücrelerin oluşturduğu, non-invaziv formları Hürthle hücreli adenom, kapsüler ve/veya

vasküler invazyon bulunduran formları ise Hürthle hücreli karsinoma olarak isimlendirilen neoplazilerdir. Tümörün %75'inden fazlasında onkositik hücrelerin görülmesiyle tanı verilir. Bazı yazarlar lezyonun bir kısmında dahi onkositik hücrelerin bulunmasını yeterli kabul etmektedir. Ancak genel görüş, bu lezyonlara onkositik hücre özellikleri taşıyan tiroid neoplazisi terminolojisinin kullanmasının daha uygun olduğu yönündedir. [2]

Hürthle hücreli tümörlerin insidansı tam olarak bilinmemektedir. Hürthle hücreli karsinomalar, erkeklerde ve ileri yaş grubunda daha sık olarak izlenmektedir. Bilinen bir risk faktörü bulunmamaktadır. Genellikle ağrısız kitle şeklinde prezente olur ve sıklıkla 2 cm'nin üzerindedir. Bazı olgularda spontan veya İİAB'sine sekonder olarak enfarkt gelişimi görülebilir ve bu durumda ağrı izlenebilir.

Makroskopik olarak genellikle kıvrımsı kahverengi renkte kesit yüzüne sahip, çeşitli kalınlıkta kapsül yapısı seçilebilen, minör travmaya sekonder, kısmen veya tamamen nekroz gösteren nodüllerdir. Hürthle hücreleri geniş granüler eozinofilik sitoplazmalı, belirgin nükleolu, santral yerleşimli nükleusa sahip büyük hücrelerdir. Bu granüler görünüm sitoplazmada izlenen anormal büyük mitokondrilere bağlı olarak oluşmakta ve bu durum hücrelerde polarite kaybına yol açmaktadır.

Hürthle hücreli adenomlar, genellikle invazyon göstermeyen, enkapsüle, daha sıklıkla foliküler ve daha az sıklıkla trabeküler organizasyon bulunduran, tipik nükleer özellikler gösteren onkositik hücrelerin oluşturduğu tümörlerdir.

Hürthle hücreli karsinomada ise genellikle fibröz bantlarla ayrılan, solid hücre yuvaları ve grupları şeklinde izlenmektedir. Ayrıca trabeküler, foliküler ve hatta nadir olarak psödopapiller organizasyon da bulunabilmektedir. Hürthle hücreli karsinomada, FK'ya benzer şekilde hematojen yayılım ile özellikle kemik dokuya olmak üzere uzak organ metastazları izlenirken, FK'dan farklı olarak bölgesel lenf nodüllerine de metastazlar görülebilmektedir.[2]

Son dönemde, büyük tümör boyutuna sahip (>4 cm), tümör nekrozu, belirgin mitoz ve küçük hücre komponenti bulunduran onkositik tümörler az diferansiye Hürthle hücreli karsinoma olarak altıplendirilmekte ve diğer Hürthle hücreli karsinomalara kıyasla daha kötü prognoz göstermektedir.[67, 68]

Hürthle hücreli tümörler TTF1 antikoru ile nükleer, tiroglobulin antikoru ile paranükleer noktasal boyanır.

Sitolojik olarak geniş granüler sitoplazmalı, belirgin tek nükleol bulunduran, santral yerleşimli nükleuslu, monoton görümlü hücreler izlenir. Tabakalar ve gruplar halinde izlenmeleri durumunda neoplastik oldukları düşünülebilir. Foliküler lezyonlar gibi Hürthle hücreli lezyonlarda da benign-malign ayrımını İİAB ile yapmak mümkün değildir. Ancak

multinükleasyon, nükleolar boyut artışı ve şekil düzensizlikleri maligniteyi telkin ediyor olabilir.

Hürthle hücreli tümörlerde, diğerleriyle kıyasla daha sık olarak çeşitli mitokondrial DNA mutasyonları izlenmektedir.[69, 70] *NOUFA13 (GRIM19)* mutasyonu, Hürthle hücreli tümörlere spesifik olarak saptanabilen tek nükleer DNA mutasyonudur ve mitokondrial DNA mutasyonları gibi oksidatif fosforilasyon fonksiyonunun düzenlenmesinde görev alır.[71] Hürthle hücreli tümörler, foliküler tümörlere kıyasla daha az oranda *RAS* mutasyonu ve *PAX8/PPARG* rearanjmanı bulundurmaktadır. *TP53* ve *PTEN* genlerinde de mutasyonlar bildirilmiştir. Anoploidi sıklıkla izlenen kromozomal değişikliktir. Cowden sendromlu hastalarda, Hürthle hücreli tümörler görülebilmektedir.

Hürthle hücreli adenomalar benign tümörlerdir ve rekürrens beklenmez. Hürthle hücreli karsinomada ise vasküler invazyon yaygınlığı prognozu belirleyen temel faktördür. Tümör eksizyonu sonrasında, çok sık olmamakla birlikte, uzak organ metastazları ile rekürrens görülebilir. Az bir olguda anaplastik karsinoma dönüşüm söz konusudur.

4.2.9. Foliküler Adenoma (FA)

Foliküler adenom (FA), kapsüllü, foliküler hücre farklılaşması gösteren, non-invaziv, papiller tiroid karsinomunun nükleer özelliklerini taşımayan benign bir neoplazidir. FA'ları hiperplastik nodüllerden ayırmak ve FA'ların epidemiyolojisini araştırmak tekrarlanabilirliği yüksek histopatolojik kriterler olmaması nedeniyle oldukça güçtür. Yetişkinler arasında insidansının %3-5 olduğu ancak iyot eksikliğinin endemik olduğu bölgelerde bundan daha sık görüldüğü düşünülmektedir. Kadınlarda ve 5-6. dekat yaş grubunda daha sık rastlanmaktadır. Genellikle sporadik olup, iyot eksikliği ve radyasyon maruziyeti bilinen risk faktörleridir. Palpasyonda ya da tiroid görüntülemesi sırasında farkedilen, ağrısız ve genellikle asemptomatik tiroid nodülleri şeklinde prezante olur. [2]

Makroskopik olarak kesit yüzü homojen, gri-beyaz renki, solid görünümlü, kapsüllü, yuvarlak-oval tek nodül şeklinde izlenir. Mikroskopik olarak vasküler veya kapsüler invazyon göstermeyen, kapsülü seçilebilen, çevre tiroid parankiminden farklı, genellikle foliküler organizasyon gösteren (mikro-, normo-, makro-), ancak solid ya da trabeküler paternler içerebilen kuboidal veya poligonal folikül hücrelerinden oluşmaktadır. Mitoz nadirdir.

FA'da sitokeratinler, tiroglobulin, TTF1 ve PAX antikorları pozitif boyanır, ancak kalsitonin, CEA ve nöroendokrin belirteçler negatiftir. Ki67 proliferasyon indeksi %5'in altındadır. Galektin-3, HBME1 ve CITED1 antikorları çok nadiren pozitifdir. [72]

Sitolojik olarak FA aspirasyon yaymaları selüler özelliktedir. Çok sayıda folikül hücrelerine çok seyrek kolloid eşlik eder. Folikül hücreleri genellikle 6-12 hücrelik mikrofoliküller oluşturur.

FA'ların yarısında klonal sitogenetik aberasyonlar saptanır. Trizomi 7 en sık olmakla birlikte, 12 ve 5. kromozomlarda kazanımlarla karakterli kromozomal değişiklikler izlenir. RAS mutasyonu en sık saptanan somatik mutasyondur (%30). [49] *PAXB/PPARG* rearanjmanı [73], *BRAF K601E* mutasyonu [74] bildirilen diğer mutasyonlardır. Cowden sendromlu ve Carney kompleksine sahip hastalarda FA gelişimi bildirilmiştir. Tedavi olarak lezyonun cerrahi olarak komplet eksize edilmesi yeterlidir.

4.2.10. Diğer tümörler

Hiyalinize trabeküler tümör, skuamöz hücreli karsinoma, mukoepidemoid karsinoma, müsinöz karsinoma, timus benzeri diferansiasyon gösteren içsi epitelyal tümör, ektopik timoma, intratiroidal timik karsinoma, paraganglioma ve mezenşimal/stromal tümörler, hematolenfoid ve germ hücreli tümörler tiroidde izlenen diğer tümör tipleridir.

4.3. Tiroid Sitopatolojisi Bethesda Raporlama Sistemi (TSBRS)

4.3.1. Tanısal Terminoloji ve Raporlama

Tiroid sitopatolojisi Bethesda raporlama sistemi (TSBRS), tiroid İİAB sonuçlarını raporlamada, benzer, kısa ve öz, açık, klinik olarak kullanışlı terminolojinin kullanılması ile klinisyenlerle sitopatologlar arasında uyumu sağlamak amaçlanarak geliştirilmiştir.

Öncelikle genel bir tanı kategorisi seçilmelidir. TSBRS kategorileri Tablo 4.4.'te gösterilmiştir. Altı kategoriden üçünde sinonim isimler yer almaktadır. Ancak her merkez bu kategoriler için sadece birini seçmeli ve devamlı olarak bunu kullanmalıdır.

Tablo 4.4. Tiroid sitopatolojisi Bethesda raporlama sistemi, tanısal kategoriler[5]

I. Non-Diagnostik/ Yetersiz Kist sıvısı Aselüler materyal Diğer (Kandan ibaret materyal, kuruma artefaktı vb.)
II. Benign Benign foliküler nodül ile uyumlu bulgular Kronik lenfositik (Hashimoto) tiroiditis ile uyumlu bulgular (klinik uygunluk halinde) Granülatöz tiroiditis ile uyumlu bulgular Diğer
III. Önemi belirsiz atipi/ Önemi belirsiz foliküler lezyon (AUS/FLUS)
IV. Foliküler neoplazi/ Foliküler neoplazi kuşkusu (FN/FNK) Onkositik (Hürthle hücreli) tip
V. Malignite yönünden kuşkulu (MYK) Papiller tiroid karsinomu yönünden kuşkulu Medüller tiroid karsinomu yönünden kuşkulu Metastatik karsinoma yönünden kuşkulu Lenfoma yönünden kuşkulu
VI. Malign Papiller tiroid karsinomu Az diferansiye karsinoma Medüller tiroid karsinomu Anaplastik tiroid karsinomu Skvamöz hücreli karsinoma Mikst özellikler gösteren karsinoma Metastatik malignite Lenfoma Diğer

Kategorilere göre beklenen malignite riskleri ve izlenmesi önerilen klinik yaklaşımlar Tablo 4.5'te özetlenmiştir. TSBRS'nin ilk baskısında kategorilerin malignite oranları, o zamanki 'review' özelliğindeki yayınlardan elde edilen bilgilere göre belirlenmiş, ikinci baskıda özellikle indetermine kategorilerde yer alan lezyonlar ile ilgili yeni veriler elde edilmesiyle malignite oranları güncellenmiştir.[75-77] Geleneksel olarak malignite oranı, eksizyon materyalinde tümörü olan vakaların, opere olan tüm vakalara bölünmesiyle hesaplanmaktadır. Bu hesaplama sadece tiroid eksizyonu yapılmış ve histopatolojik tanı almış vakalar dahil edilmekte, cerrahi olarak tedavi edilmeyen vakalar dahil edilmemektedir. Ancak bu durumda, operasyona gidecek vakaların seçilmesi sırasında bias yapıldığı göz önüne alındığında, özellikle non-diagnostik/yetersiz, benign, AUS/FLUS kategorisinde yer alan vakalar için malignite oranı gerçekten daha yüksek hesaplanacaktır. Diğer taraftan, hesaplama İİAB yapılan bütün vakalar dahil edildiğinde, eksizyon materyali bulunmayan

tüm nodüller benign kabul edildiğinde, malignite riski olduğundan düşük hesaplanacaktır. Gerçek değer, bu iki hesaplama sonuçlarının arasında yer aldığı düşünülmektedir.[5]

Tablo 4.5. Tiroid sitopatolojisi Bethesda raporlama sistemi kategorilerine göre malignite riskleri ve önerilen klinik yaklaşımlar[5]

Tanı kategorisi	Malignite riski (%)	NIFTP dahil edildiğinde malignite riski (%)	Genel yaklaşım
Non-Diagnostik/ Yetersiz	5-10	5-10	USG eşliğinde İİAB tekrarı
Benign	0-3	0-3	Klinik ve sonografik takip
Önemi belirsiz atipi/ Önemi belirsiz foliküler lezyon	10-30	6-18	İİAB tekrarı, moleküler inceleme veya lobektomi
Foliküler neoplazi/ Foliküler neoplazi kuşkusu	25-40	10-40	Moleküler inceleme, lobektomi
Malignite yönünden kuşkulu	50-75	45-60	Totale yakın veya total tiroidektomi
Malign	97-99	94-96	Totale yakın veya total tiroidektomi

Doğru ve başarılı bir tanısal yaklaşım için İİAB sırasında örneklenen lezyonun doğru şekilde temsil edilmiş olması gerekmektedir. Ayrıca biyopsi işlemi yanı sıra yaymaların hazırlanması, işlenmesi ve boyanması işlemleri de kusursuz olarak gerçekleştirilmelidir.

4.3.2. Non-Diagnostik/Yetersiz

Tercihen tek bir yaymada, en az on folikül hücresinin bir araya gelmesiyle oluşan hücre kümelerinden en az altı kadarının görülmesi, materyalin yeterli kabul edilebilmesi için gereklidir. Bunu karşılamayan olgular bu kategoride yer almaktadır. Ancak bazı istisnai durumlar, bu kriteri karşılamasa da non-diagnostik/yetersiz kategorisine girmez. Bunlar;

- a) Sitolojik atipi gösteren solid nodüller: Belirgin sitolojik atipi hiçbir zaman non-diagnostik/ yetersiz kategorisine girmez.

- b) İnflamasyon bulunduran solid nodüller: Sadece inflamatuvar hücrelerin görülmesi genellikle tiroditlerde görülen bir bulgudur ve benign kategoride yer almalıdır.
- c) Kolloid nodüller: Zeminde bol miktarda kolloid içeren spesmenler benign kategoride yer almalıdır.

Ayrıca kötü hazırlanmış, boyanmış veya hücresel detayı kesinlikle seçilemeyen olgular, kist sıvısı içeriği ve en az on hücreden oluşan altıdan daha az grup görülen materayaller non-diagnostik/yetersiz kategoride yer almalıdır.

Non-diagnostik/yetersiz tanısı alan olgularda USG eşliğinde biyopsi tekrarı önerilir. Bu kategoride yer alan olguların malignite oranı, vakaların çoğunun opere olmaması nedeniyle kesin olarak bilinmemektedir. Opere olan olgularda malignite oranı %9-32 olarak bildirilmektedir.[75] Opere olan vakalar, genellikle tekrarlayan non-diagnostik/yetersiz kategoride İİAB sonuçlarına ya da klinik/sonografik olarak endişe verici bulgulara ya da her ikisine de sahip olan olgulardır. Bu durum göz önüne alındığında malignite oranı yaklaşık olarak %5-10'dur.[5]

4.3.3. Benign

İİAB tiroid nodüllerinde tanı için altın standarttır. İİAB yapılan olguların yaklaşık %60-70 kadarı benign kategoride yer alır ve en sık kullanılan kategoriye oluşturur.

- a) Benign foliküler nodül: Yeterli nitelikte, kolloid ve çeşitli miktarda benign görünümlü tiroisitlerin izlendiği sitolojik örnekler için kullanılır. Selüler özellikte, zeminde açık, yoğun, ince ya da dens kolloid bulunduran, düzgün yerleşimli tek sıralı tabakalar halinde veya bal peteği benzeri dizelenim gösteren, bazen üç boyutlu küreler şeklinde organizasyon bulunduran, eritrosit ile aynı büyüklükte, eşit dağılmış kromatine sahip, düzgün yuvarlak-oval nükleuslu tiroisit kümeleri izlenir. Hürthle hücreleri izlenebilir. Çok az miktarda mikrofoliküler patern görülebilir. Tiroisit sitoplazmalarında lipofuskin veya hemosiderin pigmenti ile uyumu yeşil-siyah pigment görülebilir. Makrofajlar ve fokal reperatif değişiklikler izlenebilir.
- b) Graves hastalığı: Genellikle orta yaşlı kadınlarda görülen, hipertiroidizm ile seyreden, otoimmün diffüz hiperplastik tiroid hastalığıdır. Tiroid bezinde diffüz büyümeyle karakterlidir. Ancak bazen nodüler gelişim gösterebilir. Sitolojik bulguları tipik değildir ve klinik korelasyon gerektirir. Genellikle benign foliküler nodülde görmeyi beklediğimiz sitolojik bulgular izlenir. Benign foliküler nodülden farklı olarak, tiroisit nükleusları daha büyük, veziküler görünümde ve nükleol içermektedir. Sitoplazmanın kenarında yerleşen, kırmızı/pembe vakuoller

bulunduran ‘alev hücreleri’ önemlidir. Nadiren nükleer kalabalıklaşma, mikrofoliküler patern ve hafif nükleer yarıklanma görülebilir.

- c) Lenfositik tiroiditis: Hashimoto tiroiditi sıklıkla orta yaşlı kadın hastalarda izlenen, ancak adolosan ve çocuklarda da görülebilen, tiroide diffüz büyümeye yol açan bir hastalık tablosudur. Eğer nodülerite gelişirse İİAB yapılıır. Kanda anti-triglobulin ve anti-tiroid peroksidaz antikörleri bulunur. Genellikle hiperselüler özellikteki materyalde, benign foliküler ve onkositik hücelere polimorfik görünümlü lenfoid hücrelerin eşlik etmesiyle karakterlidir. Hafif nükleer atipi bulguları izlenebilir.
- d) De Quervain (Granülomatöz) tiroiditis: Viral enfeksiyonların tetiklediği, genellikle kendini sınırlayan inflamatuvar bir durumdur. Hastalığın evresine göre selülarite ve izlenen hücresel popölasyon değişkendir. Multinükleer dev hücrelerin eşlik ettiği epiteloid histiyosit topluluklarından oluşan granülomlar tipiktir. Çeşitli inflamatuvar hücreler izlenebilir.
- e) Akut tiroiditis: Nadir görölen, genellikle immün yetmezlikli hastalarda izlenen enfeksiyöz durumdur. Nötrofiller, makrofajlar, nekroz, kan ve fibrin izlenir. Reaktif foliköl hücreleri ve az miktarda kolloid görölür.
- f) Riedel tiroiditisi: Çok nadir görölen, ilerleyici ve çevre dokulara uzanan fibrozis ile karakterli tiroiditis çeşididir. Yayma preparatlar genellikle aselülerdir. Nadiren iğsi hücreler ve fibröz doku fragmanları görölabilir. İnflamatuvar hücreler, tirositler ve kolloid genelde izlenmez. Klinik korelasyon önemlidir.

Benign kategorinin gerçek malignite oranını belirlemek, vakaların sadece %10 kadarının opere olması nedeniyle oldukça zordur. Çeşitli yayınlarda benign grubun yalancı negatiflik oranının çok düşük (%0-3) olduğu belirtilmektedir. Bu kategori için malignite riski çok düşük olduğundan, sonografik özelliklerine göre takip edilecek vakaların kararlaştırılması önerilmektedir. [4]

4.3.4. Önemli Belirsiz Atipi/ Önemli Belirsiz Foliküler Lezyon (AUS/FLUS)

TSBRS göre indetermine grupta yer alan üç kategorilerden biridir. Genel olarak yapısal ve sitolojik atipi taşıyan, ancak malignite, malignite şüphesi veya foliküler neoplazi şüphesi kategorisi için yeterli düzeyde değişiklikler bulundurmayan olguları içerir. AUS/FLUS terminolojisinden biri tercih edilmeli ve sadece bu terim kullanılmalıdır. Bu kategoride yer alan vakaların az bir kısmının opere olması nedeniyle, daha önce bahsedilen non-diagnostik/yetersiz kategorisine benzer şekilde, malignite oranını değerlendirmek zordur. Ancak sitolojik atipi

bulunduran olguların malignite riskinin, yapısal atipi bulunduran olguların iki katı olduğu düşünülmektedir.[8] Tanı kriterleri şunlardır:

- a) Sitolojik atipi: Soluk kromatinli, büyümüş nükleusa sahip, nükleer düzensizlik gösteren, ancak nükleer psödoinklüzyon, belirgin nükleer yarıklanma gibi tipik PTK nükleus özelliklerini tam olarak taşımayan sitolojik atipi izlenir. Bu değişiklikler fokal olarak izlendiğinde veya yaygın ancak hafif olduğunda, kisti döşeyen hücrelerde atipi saptandığında ve histiyositoid hücrelerin görülmesi durumunda AUS/FLUS kategorisi kullanılmalıdır. Histiyositoid hücreler, genellikle PTK'da izlenen, genellikle izole hücreler halinde izlenen, histiyositlerden daha büyük, nükleus/sitoplazma oranı artmış, daha yuvarlak nükleusa sahip, sitoplazmasında histiyositlerde tipik olarak izlenen hemosiderin veya mikrovakuol bulundurmayan, makrovakuollerin izlenebildiği daha yoğun sitoplazmalı hücrelerdir.
- b) Yapısal atipi: Hiposelüler yaymalarda, zeminde çok az miktarda kolloidin seçilebildiği, seyrek mikrofoliküler gruplar ya da kalabalık üç boyutlu tabakaların bulunması ile minimal nükleer atipi içeren az sayıda ancak belirgin mikropapillalar bulunması AUS/FLUS kategorisi için yapısal atipi anlamını taşımaktadır.
- c) Sitolojik ve yapısal atipi: Tariflenen değişikliklerin birlikte olması durumunda, bu tanı kategorisi kullanılmalı, özellikle NIFTP olasılığı akla gelmelidir.
- d) Hürthle hücreleri: Minimal kolloidal materyal ve hemen tamamı Hürthle hücrelerinden oluşan hiposelüler yaymalar ile klinik olarak benign lezyonu düşündürdüren, hemen tamamı Hürthle hücrelerinden oluşan orta ya da ileri derecede selüler yaymalar bu tanı kategorisinde yer almaktadır.
- e) Belirtilmemiş atipi (Not otherwise specified-NOS): Belirgin nükleollü, büyümüş nükleusa sahip foliküler hücreler, PTK'nin nükleer özellikleri olmadan psammomatöz kalsifikasyon izlenmesi, başka hiçbir kategoriye uymayan atipik değişiklikleri kapsamaktadır.
- f) Atipik lenfoid hücreler: Lenfoid hücrelerden malignite şüphesi kategorisini karşılamayacak düzeyde atipi izlenmesidir.

AUS/FLUS tanısı alan hastalara yeniden İİAB veya moleküler testler önerilmektedir. Yeniden İİAB yapılan olgulardan %10-30'u tekrar AUS/FLUS tanısı alırken, diğerleri daha belirleyici sonuçlar alabilmektedir. Moleküler olarak sadece *BRAF V600E* mutasyonunun araştırılmasının sensitivitesi oldukça düşük bulunmuştur. *RAS* mutasyonlarını içeren çoklu gen panellerin sensitivitesi yükselirken, spesifitesi düşmektedir. AUS/FLUS tanısı ardından takip

veya cerrahi kararı, klinik, radyolojik, sitolojik, moleküler veriler ve hastanın tercihine göre yapılmaktadır. Malignite oran izlenen atipinin çeşidine göre değişmektedir. Sitolojik atipi bulunduran AUS/FLUS hastalarının malignite oranı %47 iken, Hürthle hücreli atipi bulunduranların ise %5 kadardır.[5]

4.3.5. Foliküler Neoplazi/Foliküler Neoplazi Kuşkusu (FN/FNK)

Bu kategorinin amacı, nodüler guatr gibi benign olguları dışlayıp, bütün foliküler karsinomaları dahil edip, hastaların takipte kalmasını veya lobektomiye gitmesini sağlamaktır.[4] Foliküler paternli lezyonların büyük kısmının ayırıcı tanısı İİAB ile yapılamaz. Örneğin foliküler karsinoma ile foliküler adenom ayrımı sadece eksizyon materyalinde kapsüller ve/veya vasküler invazyon varlığına göre yapılabilir. Bu kategorinin sınırlamaları da göz önünde bulundurulmalı ve bu tanı kategorisi için sitopatolog-klinisyen işbirliği ön planda tutulmalıdır. FN/FNK terminolojisinden biri tercih edilmeli ve sadece bu terim kullanılmalıdır.

Selüler özellikteki yaymalarda, kalabalık ve üst üste binen gruplar oluşturan veya mikrofoliküler organizasyon gösteren, folikül hücrelerinin izlenmesi bu kategori için tipiktir. 15 hücreden daha az folikül hücresinin bir araya gelerek halka şeklini almasına mikrofolikül denir. Genellikle mikrofoliküller benzer boyutlardadır. Folikül hücrelerinin boyutu normal veya hafif artmış olabilir. Nükleuslar genellikle yuvarlak ve hiperkromatiktir. Bu yapısal özellikleri taşıyan ancak hiposelüler olan yaymalar AUS/FLUS kategorisinde yer almalıdır. Nükleer boyutunda artma, nükleer kontür düzensizliği, kromatinde şeffaflaşma gibi hafif nükleer değişiklikler bulunduran foliküler paternli lezyonlar FN/FNK kategorisine girmektedir. Ancak intranükleer psödoinklüzyonlar ve gerçek papilla yapısı gibi tipik PTK özellikleri görülmez. Zeminde kolloid genellikle yoktur.[5]

Paratiroid adenomlarına ait İİAB genellikle FN/FNK ile örtüşen özellikler taşımaktadır. Bu durum bu lezyonların yanlışlıkla bu kategoride tanı almasına neden olabilir. Yaymalarda kolloidin olmaması, foliküler paternden ziyade trabeküler paternin izlenmesi ve klinik şüphe halinde, paratiroid lezyonları akla gelmeli, raporda bu şüphe mutlaka belirtilmelidir.

FN/FNK tanısı alan olguların büyük çoğunluğu opere olmaktadır. Bu hastalarda izlenen nodüllerin %65-85 kadarının neoplastik olduğu, ancak %25-40 kadarının malign olduğu görülmektedir. Malign vakaların küçük bir kısmı foliküler karsinoma tanısı alırken, büyük bir kısmı papiller tiroid karsinomu tanısı almaktadır. Bu durum özellikle FV PTK ve NIFTP'de nükleer özelliklerin nodülün tamamında belirgin olmamasına ve örnekleme sırasında bu alanların yeterince temsil edilememiş olmasına bağlanabilir. Bir diğer neden de FV PTK ile FK ayrımında, tekrarlanabilirliği ideal olmayan histolojik tanısal yaklaşım olabilir.[5]

Hürthle Hücreli (Onkositik) Tip: FN/FNK kategorisinin bir alttipidir. Hürthle hücreleri; belirgin tek nükleol içeren, büyümüş yuvarlak nükleuslu, sitoplazmasında patolojik olarak yüksek sayıda mitokondri bulunması nedeniyle tipik geniş ince granüler eozinofilik sitoplazmaya sahip hücrelerdir. Hashimoto tiroiditisi veya multinodüler guatr gibi reaktif ve hiperplastik olaylara eşlik edebilir. Ayrıca Hürthle hücreli adenom veya karsinoma gibi neoplastik lezyonlarda izlenir. Hürthle hücreli tümörler görece nadir olup, adenom-karsinoma ayrımı foliküler tümörlerdekine benzer şekilde eksizyon materyallerinde kapsüler ve/veya vasküler invazyon varlığına göre yapılabilmektedir. Sitolojik olarak ayırım mümkün değildir. Bu kategorideki lezyonların malignite oranı %10-40'tır. Tanı kriteri olarak selüler özellikteki yaymalarda; (a) hücrelerin hemen tamamının tipik Hürthle hücrelerinden oluşması, (b) küçük hücre displazi denilen nükleus/sitoplazma oranı yüksek dar sitoplazmalı küçük hücrelerin veya (c) büyük hücre displazi denilen nükleuslarda iki kattan fazla boyut farkının bulunması sayılabilir. Genellikle kalabalık sinsityal benzeri organizasyon gösterir. Binükleasyon sıktır.. 'Transgressing vessels' denilen Hürthle hücre tabakaları içinde veya tabakayı boydan boya kateden vasküler endotelial yapılar izlenmesi tanıda değerlidir. İzlenmesi neoplazi açısından önemli bir işaret olarak kabul edilir. Kolloid hemen hiç görülmez. Lenfositler ve plazma hücreleri eşlik etmez. PTK nükleus özelliklerinin görülmesi veya Hürthle hücrelerinin fokal olarak izlenmesi durumunda bu tanı kategorisi kullanılmamalıdır.[5]

FN/FNK tanısı alan hastalarda genel olarak lobektomi uygulanması tavsiye edilmektedir. Cerrahi yerine seçilmiş vakalara moleküler testler uygulanabilir ve test sonuçlarına göre klinik takip veya cerrahi kararı verilir. [4, 78, 79]

4.3.6. Malignite Yönünden Kuşku (MYK)

FK ve Hürthle hücreli karsinoma dışında, diğer tiroid tümörleri tipik sitolojik özellikleri ile İİAB sayesinde kolaylıkla tanı alır. Ancak bu özelliklerin nitel veya nicel olarak yetersiz izlenmesi durumunda tanı zorluğuyla karşı karşıya kalınabilir. Örneklemenin veya hücrelerin prezervasyonunun suboptimal olması, nadir görülen tümör tipleri, farklı lezyonların nükleer özelliklerinin bir arada bulunması gibi kafa karıştırıcı senaryolar karşımıza çıkabilir. Sitomorfolojik özelliklerin kuvvetle malignite şüphesi doğurduğu, ancak kesin bir tanı için yeterli verinin bulunmadığı durumlarda bu tanı kategorisi kullanılmalıdır. Tüm İİAB'lerinin %1-6.3'ü MYK tanısı almaktadır.[75] Doğası gereği MYK kategorisi heterojen bir gruptur. Öncelikle PTK olmak üzere medüller tiroid karsinomu, lenfoma ve paratiroid tümörleri gibi çeşitli tümörler bu gruba girmektedir. Ancak FK ve Hürthle hücreli tümör şüphesi taşıyan olgular bu kategoride yer almamaktadır.

‘Malign’ ve ‘malignite yönünden kuşkulu’ kategorileri arasında ayırım yapmanın amacı, İİAB’nin sensitivitesini düşürmeden, malign kategorinin pozitif prediktif değerini en yüksekte tutmaktır. Bu grubun malignite oranı %76 civarındadır. Ancak NIFTP tanısı malign kategoriden çıkarıldığından %50 civarına inmektedir. [55]

- a) PTK şüphesi: Selüler nitelikteki yaymalarda, normal tiroositlerle karışık, yamasal ve dağınık nükleer büyüme, şeffaflaşma, nükleus membran düzensizliği, yarıklanma içeren hücrelerin görüldüğü, seyrek intranükleer inklüzyonun izlendiği ancak gerçek papilla yapısının ve psammomatöz kalsifikasyonun izlenmediği durumlarda; selüler nitelikteki yaymalarda yaygın olarak hafif-orta nükleer değişikliklerin izlendiği (nükleer büyüme, şeffaflanma, yarıklanma), intranükleer inklüzyonların, gerçek papilla yapısının ve psammomatöz kalsifikasyonun izlenmediği durumlarda; hiposelüler yaymalarda PTK’nin tipik özelliklerini gösteren hücrelerin izlenmesi durumunda ve kistik dejenerasyonu düşündüren bulguların eşlik ettiği, seyrek atipik nükleer büyüme, şeffaflanma ve yarıklanma bulunduran hücreler ile seyrek histiyositoid hücrelerin izlendiği ancak intranükleer inklüzyonların, gerçek papilla yapısının ve psammomatöz kalsifikasyonun izlenmediği durumlarda saptanır.
- b) Medüller karsinoma şüphesi: Hafif-orta derecede selüler yaymalarda, zeminde az miktarda amiloid ile uyumlu olabilecek amorf materyal bulunduran monomorfik görünümde, genellikle dağınık olarak izlenen ve kohezyon göstermeyen, ince granüler kromatine sahip, eksantrik nükleuslu, nükleus/sitoplazma oranı yüksek, küçük-orta büyüklükte hücrelerin izlendiği durumda saptanır.
- c) Lenfoma şüphesi: Selüler yaymalarda monomorfik görünümde küçük-orta büyüklükte lenfoid hücreler izlenmesiyle veya seyrek hücre içeren yaymalarda atipik lenfoid hücrelerin görülmesiyle saptanır.
- d) Belirtilmemiş (Not-otherwise specified-NOS): Diğer primer tiroid tümörleri ile metastazdan şüphe edildiği ancak selülaritenin yetersiz olması gibi kesin tanının konulamadığı durumlarda akla gelmelidir.

Bu kategoride yer alan hastalara, malignite oranının çok yüksek olması nedeniyle, klinik ve cerrahi uygunluk durumunda ilk tedavi seçeneği olarak total tiroidektomi önerilmektedir. Ancak bu kararı verirken MYK tanısına neden olabilecek durumların (radyasyon tedavisi, kistik lezyonlar, kronik lenfositik tiroiditis) araştırılması, sitopatolog ve klinisyenin bu durumlardan haberdar edilmesi gerekmektedir. Ayrıca düşük riskli malignite olarak tanımlanabilen, boyutu 4 cm’nin altında, ekstratiroidal veya bölgesel lenf nodülü tutulumu yapmadığı düşünülen lezyonlar için lobektomi seçeneği de değerlendirilmelidir. Lenf nodüllerinin durumu cerrahi operasyonun şeklini belirlemede ve radyoaktif iyot tedavisi gibi ek tedavilere yön vermesi

açısından oldukça önemlidir. Seçili olgularda moleküler testler tanı ve tedaviye yardımcı olabilir. [5]

4.3.7. Malign

Tüm İİAB'lerinin %2-16'sı malign tanısı almaktadır ve bunların büyük çoğunluğunu papiller tiroid karsinomu oluşturmaktadır. Papiller tiroid karsinomu tiroidin en sık tümörüdür ve tüm tiroid tümörlerinin %85-90 kadarını oluşturmaktadır. Bir hasta İİAB ile PTK tanısı aldığında eksizyon materyalinde %94-96 oranında PTK izlenmektedir.[4, 75] Tiroid tümörlerinin %2 kadarını medüller tiroid karsinomu, %0.3-6.7 kadarını az diferansiye karsinoma oluşturmaktadır. Malign tanısı alan vakalar opere olmakta ve tümör tipine göre ek tedaviler almaktadır.

- a) Klasik PTK: Papiller organizasyon ve karakteristik nükleer özellikler gösteren tiroid folikül epitelinden köken alan malign tümörlerdir. Sitolojik tanı kriterleri; papilla ve/veya tek katlı tabakalar şeklinde organizasyon, soğan zarı benzeri hücresel girdaplar, üst üste binen kalabalık nükleuslar, nükleuslar arasında fasetleşme (molding), oval veya düzensiz şekilli büyümüş nükleuslar, uzun eksenine paralel nükleer yarıklar, nükleer şeffaflaşma, kalın ve kalemle çizilmiş gibi nükleus membranları, intranükleer sitoplazmik psödoinklüzyonlar, nükleusun kenarına yakın yerleşmiş tek ya da multipl mikronükleol, psammom cisimleri, mutinükleer dev hücreler, ipsi, sakızlı özellikte çeşitli miktarda kolloid, 'hobnail' veya 'histiyositoid' hücreler, onkositik veya skuamöz metaplazidir. Bunların çoğunun bir arada izlenmesi tanısaldır. Yeterli kriter taşımayan olgular, MYK veya AUS/FLUS kategorisinde yer alır. İİAB ile PTK varyantlarının tiplendirilmesi gerekli değildir ve bazen mümkün olmayabilir. Ancak FV PTK ve NIFTP'nin klasik PTK'dan ayrımı cerrahi tedavinin şeklini değiştirebileceği için değerlidir.
- b) FV PTK ve NIFTP: FV PTK, hemen tamamen foliküler organizasyon gösteren, PTK nükleus özelliklerini büyük ölçüde taşıyan, küçük-orta büyüklükte tirositlerden meydana gelen invaziv PTK varyantıdır. NIFTP ise büyük ölçüde PTK nükleus özelliklerini taşıyan, foliküler organizasyon gösteren, enkapsüle veya düzgün sınırlı, kapsüler ve/veya vasküler invazyon bulundurmayan, daha önceden non-invaziv FV PTK olarak sınıflandırılan, indolen seyirli tiroid neoplazisidir. Bu iki antitenin ayrımı İİAB ile yapılamamaktadır. Ancak FV PTK ve NIFTP'nin, klasik PTK'dan ayrımı cerrahi tedavinin şeklini değiştirebileceği için değerlidir. Hiperselüler özellikteki yaymalarda, sinsityal gruplar veya mikrofoliküller oluşturan, özellikle neoplastik foliküller içerisinde sıkışmış dens kolloidin izlenebildiği, PTK nükleus

özelliklerinin bulunduğu ama belirgin olmadığı, papilla yapıları, intranükleer psödoinklüzyonlar, multinükleer dev hücrelerin seçilemediği olgularda bu tanı düşünülmelidir. Nükleer özelliklerin yaygınlığı ve şiddetine göre hastalar malign-FV PTK/NIFTP (%25-35), FN/FNK (%25-30) veya AUS/FLUS (%10-20) olmak üzere üç tanı kategorisinden birisine girebilir. Moleküler testler belli ölçüde yol gösterici olabilir. Bu lezyonlarda klasik PTK'nın aksine *BRAF* mutasyonlarına çok nadir rastlanırken *RAS* mutasyonları daha sık izlenir.

- c) Medüller tiroid karsinomu: Ailesel veya sporadik olarak karşımıza çıkabilen, parafoliküler C hücrelerinden köken alan, nöronendokrin malign bir tiroid tümörüdür. Selüler nitelikteki yaymalarda, izole veya sinsitya benzeri topluluklar oluşturan, plazmositoid, poligonal veya iğsi şekilli, orta derecede pleomorfizm gösteren, yuvarlak, oval veya elonge şekilli eksantrik yerleşimli, tuz-biber kromatine sahip nükleus bulunduran, granüler sitoplazmalı hücrelerin izlenmesiyle tanı konulur. Binükleasyon sıklıkla izlenir. İntranükleer inklüzyonlar ve dev hücreler izlenebilir. Nükleer çentikler izlenmez. Kolloidle karışabilen, dens amorf amiloid materyali izlenir. Hücreler kalsitonin, CEA, nöroendokrin belirteçler ve TTF1 antikorları ile pozitif boyanır.
- d) Az diferansiye karsinoma: İnsüler, tarabeküler veya solid büyüme paterni gösteren, foliküler hücre kökenli malign bir tiroid tümörüdür. Tanısı için Turin kriterleri belirlenmiştir. Selüler nitelikteki yaymalarda, insüler, tarabeküler veya solid organizasyon bulunduran, mitoz, apoptoz, nekrozun sıklıkla izlendiği, nükleus/sitoplazma oranı yüksek, nükleer atipinin eşlik ettiği, uniform görünümlü dar sitoplazmalı tirositler izlenmektedir. PTK'nın nükleer özellikleri ve kolloid izlenmez. Onkositik özellikler izlenebilir. PTK veya FK gibi iyi diferansiye komponent eşlik edebilir. Az diferansiye karsinomalar, özellikle büyüme paternleri nedeniyle FN/FNK kategorisinde yer alabilir.
- e) Anaplastik karsinoma ve skuamöz hücreli karsinoma: Anaplastik karsinoma, yüksek dereceli, pleomorfik, epitelooid ve/veya iğsi morfolojiye sahip epitelyal kökenli, nadir görülen ancak çok agresif davranış sergileyen malign bir tiroid tümörüdür. Selüler nitelikteki yaymalarda, izole hücreler veya gruplar halinde, belirgin nükleollü, düzensiz, büyük ve pleomorfik nükleus içeren, değişik boyutlarda poligonal epitelooid veya iğsi hücreler dikkati çeker. Plazmositoid veya rabdoid hücreler ile intranükleer inklüzyonlar ve multinükleasyon izlenebilir. Nekroz, belirgin inflamasyon ve fibrozis eşlik eder. Nötrofiller tümör hücrelerinin sitoplazmalarını infiltre edebilir. Sık ve atipik mitozlar dikkat çekicidir. Osteoklast

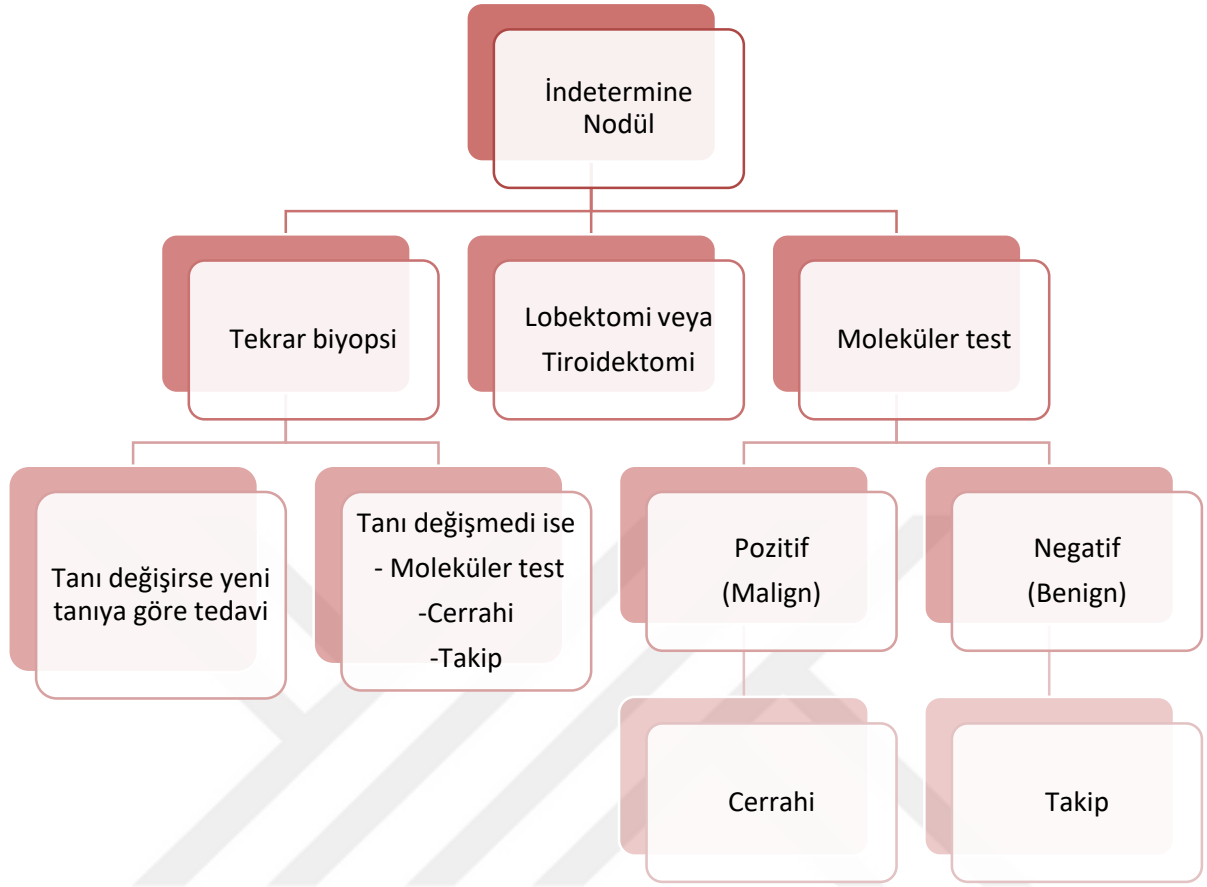
benzeri dev hücreler görülebilir. Pan-CK, vimentin ve PAX8 antikorları ile fokal boyanma görülürken, TTF1 ve tiroglobulin antikorları genellikle negatiftir. *TP53*, *CTNNB1* (B-catenin), *RAS* ve *BRAF V600E* mutasyonları sıklık sırasına göre izlenir. Skuamöz hücreli karsinoma, tamamen skuamöz diferansiasyon gösteren, çok nadir primer bir tiroid tümörüdür. Selüler nitelikteki yaymalarda, keratinizasyon gösteren, poligonal şekilli geniş sitoplazmalı pleomorfik hücreler izlenir. Nekroz sıklıkla eşlike eder. Metastaz olasılığı akla getirilmelidir. Ancak primer-sekonder ayrımında yardımcı olabilecek bir belirteç bulunmamaktadır.

- f) Diğer: Metastatik tümörler, lenfomalar ve tiroidin nadir görülen diğer tümörleri, bu kategorilerden hiçbirine uymayan olgularda akla gelmelidir.

4.4. İndetermine Tiroid Nodüllerine Yaklaşım

TSBRS'e göre İİAB yapılan tiroid nodüllerinin %60-70 kadarı benign, %7-10 kadarı AUS/FLUS, %15-20 kadarı FN/FNK, %1-6.5 kadarı MYK, %2-16 kadarı ise malign tanısı almaktadır.[5] Bu grupların malignite oranları sırasıyla artmaktadır. (Bakınız Tablo 4.5) Bunların %20-30 kadarı indetermine lezyonlar/nodüller olarak değerlendirilmekte ve AUS/FLUS (Bethesda kategori III) ile FN/FNK (Bethesda kategori IV) kategorileri bu grupta yer almaktadır. İndetermine grupta yer alan nodüllerin doğru tanı alması, gereksiz cerrahilerin önüne geçilmesi ve doğru hastalarda zaman kaybedilmeden cerrahi tedavinin yapılabilmesi açısından oldukça önem kazanmaktadır. [5]

Özellikle TSBRS ve American Thyroid Association (ATA) klavuzuna göre, indetermine nodüllere yaklaşımda, klinik özellikler ve hasta tercihi de göz önüne alınarak kabaca 3 farklı senaryo ile karşı karşıya kalınmaktadır.[4, 5, 80] İlk olarak hastalara yeniden İİAB yapılmakta ve tanısının değişmesi durumunda hastalar o tanıya göre tedavi edilmekte veya hastalara klinik takip önerilmektedir. Ancak olguların yaklaşık %30 kadarında indetermine tanılar değişmemektedir. [4, 5, 80] İkinci olarak hasta tercihine bağlı olmakla birlikte, hastalar lobektomi/tiroidektomi olmaktadır. Cerrahi operasyona giden vakaların %70 kadarını benign lezyonlar oluşturmakta ve sonuç olarak bu olguların büyük bir kısmına gereksiz cerrahi işlem uygulanmaktadır. [4, 5, 80] Üçüncü olarak ise hastalara moleküler ek testler uygulanmaktadır. Bunun sonucunda göre test sonucu malign olanlar opere olurken, benign olanlar genellikle takip edilmekte, nadiren nodüler guatra bağlı bası veya ses kısıklığı gibi semptomlar ya da kronik lenfositik tiroiditie bağlı semptomlar varlığında opere olabilmektedir. [4, 5, 80]



Şekil 4.2. İndetermine tiroid nodüllerine yaklaşım şeması

Tiroid sitolojisinde indetermine lezyonlara yaklaşımda son yıllarda oldukça pahalı moleküler testler ön plana çıkmaktadır.[21-23, 25, 26] Ancak çoğu merkezde bu yöntemler için gerekli altyapı bulunmamaktadır. Kompleks ve pahalı valide moleküler testlerin tamamı ticaridir ve bu çalışmaları kurumlarda gerçekleştirmek mümkün olmayıp, tanı için özel solüsyonlar içerisindeki tiroid aspirasyon materyallerinin veya yayma preparatların yurtdışına gönderilmesi gerekmektedir. Ayrıca son zamanlarda yapılan bazı post-validasyon çalışmalar, performansları oldukça yüksek kabul edilen bu testlerin test performanslarının, aslında bahsedilen kadar yüksek olmadığını ortaya koymaktadır.[28, 30-33] Yaklaşık 2000-4000 \$ değerinde olan moleküler testler, tüm bu bahsedilen nedenlerden dolayı, özellikle ülkemiz için maliyet/etkinliği düşük yöntemlerdir.[34, 35] Bu sorunun aşılmasında immünsitokimyasal yöntemler, özellikle daha yaygın kullanım imkanı ve daha düşük maliyetle benzer test performansı sağlayarak moleküler çalışmalara alternatif olabilir.

Rutin histopatolojide foliküler paternli tiroid lezyonlarının ayırıcı tanısında immünohistokimya yaygın olarak kullanılmaktadır. Galektin-3, HBME-1, CK19, CD56 bu kapsamda en sık kullanılan antikorlardır. Tanısal doğruluğa ulaşmada bu antikorların tek başına değil ancak bir panel halinde kullanımı genel kabul görmektedir.[2, 18-20, 81] İmmünohistokimyasal incelemeler tiroid sitolojisinde az da olsa kullanılabilir. [13, 15-17] Sitolojik yaymaların sınırlı sayıda olması ve yöntemin sitolojik materyele uygulama zorlukları, çoklu antikor panellerinin yapılmasını veya geniş vaka serilerinin oluşumunu önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Ancak hücre bloğu elde edilebilen aspirasyon biyopsileri immünohistokimyasal çalışma için önemli bir tanı potansiyeli oluşturmaktadır.[13, 14, 82]

Hangi yöntemle olduğu farketmeksizin, daha iyi anlamak ve karşılaştırma yapabilmek amacıyla, indetermine tiroid nodüllerinin tanısında kullanılan testler, tanı performanslarına göre sınıflanabilmektedir. Bu sınıflama Şekil 4.3'te özetlenmiştir. Ancak bunların daha iyi anlaşılabilmesi için tanı testlerine ait bazı temel terimlerin bilinmesi gerekmektedir.

Tanı testleri, belirli hesaplamalar sonucunda sensitivite, spesifite, doğruluk, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) gibi sayısal veriler ile tanı performansları açısından değerlendirilir.

Sensitivite (duyarlılık), yeni testin (tanı testi) gerçekte hasta olanların içinden ne kadarını saptayabildiği yani teşhis koyabildiğidir. [Gerçek pozitif/ (gerçek pozitif + yalancı negatif)] **Spesifite (özgüllük)** ise yeni testin gerçekte sağlam olanların ne kadarını saptayabildiği yani hastalığı ekarte edebilmesidir. [Gerçek negatif/ (gerçek pozitif + yalancı negatif)] Sensitivite ve spesifite testin karakteristik özellikleridir ve popülasyondan yani prevalanstan etkilenmez.

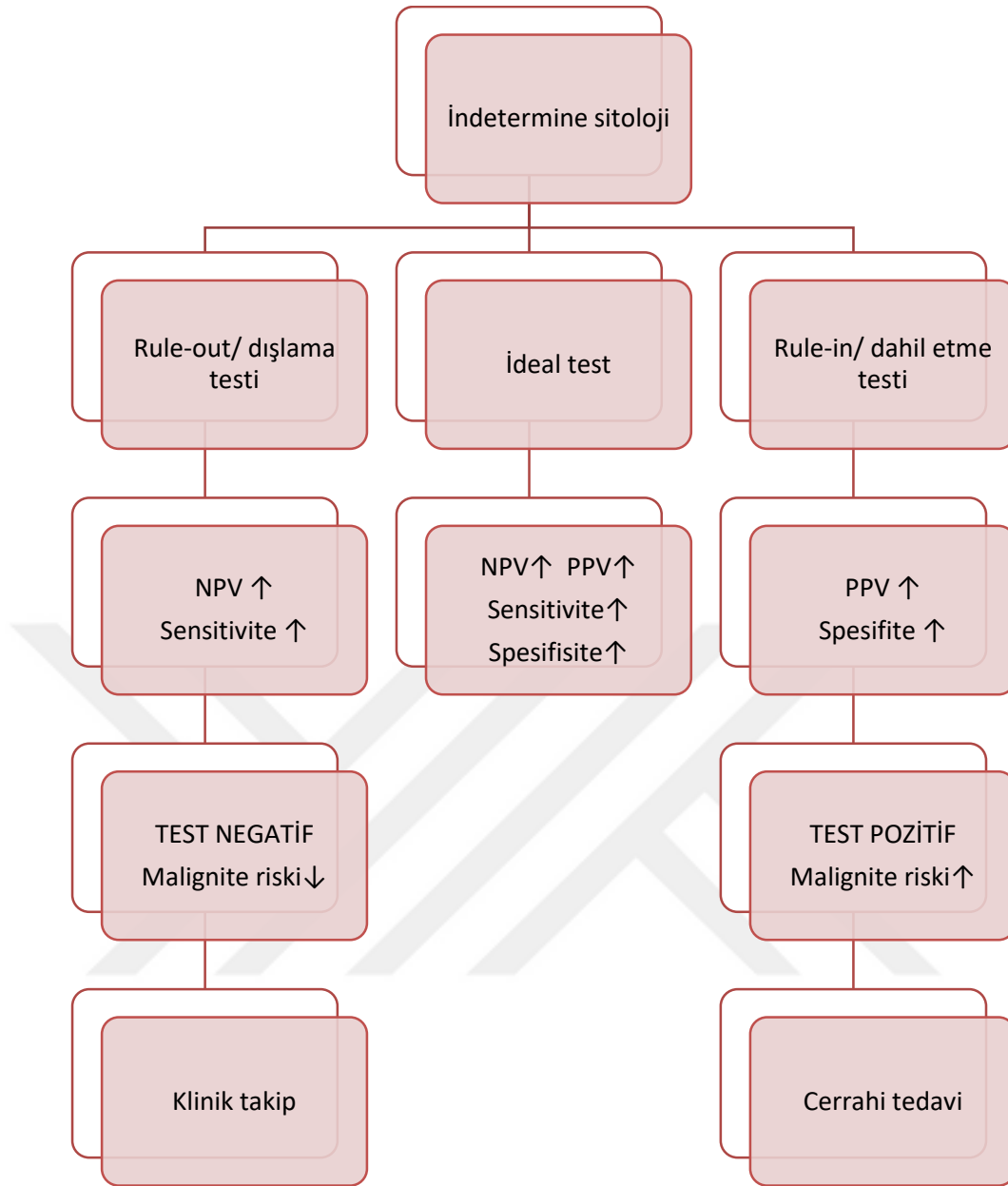
Pozitif prediktif değer, testin pozitif sonuç verdiği bireyler içinde gerçekten hasta olan bireylerin oranıdır. Bir kişinin test sonucunun pozitif olması durumundaki malignite ihtimali belirtir. **Negatif prediktif değer**, testin negatif sonuç verdiği bireyler içinde gerçekten hasta olmayanların yüzdesidir. 1-NPD bir kişinin test sonucunun negatif olması durumundaki malignite ihtimalini belirtir. **Doğruluk**, genel olarak tanı testinin hastayı doğru olarak sınıflama oranı veya ihtimalidir.

Pozitif ve negatif prediktif değerler, bir koşullu olasılık teoremi olan Bayes teoremine göre hesaplanmaktadır ve bu nedenle test edilen popülasyondaki hastalık prevalansından etkilenir.[83] Hastalığın prevalansının yüksek olduğu durumda PPD yükselecek, NPD düşecektir, prevalansının düşük olduğu durumda ise tam tersi karşımıza çıkacaktır. İdeal testin yüksek PPD ve NPD değerlerine sahip olması beklenir. Ancak gerçek hayatta hesaplama prevalansın dahil olmasıyla, tek bir testle bu durumu sağlamak pek mümkün olamamaktadır. Ayrıca farklı merkezlerin prevalansının birbirinden farklı olması nedeniyle, bir testin PPD ve

NPD'si her merkezde birbirinden farklı olacak ve testin performansı merkezden merkeze değişecektir.

Bir durumun olma olasılığı ile olmama olasılığı arasındaki ilişkiyi **odds değeri** gösterir. Hesaplaması oldukça basittir, merak edilen durumun olma olasılığı, olmama olasılığına bölünür. **Odds oranı (OR)**, bir olayın bir grup için olasılıklar oranının başka bir grup için olasılıklar oranına olan oranıdır veya bunun bir örnekleme dayalı bir tahminidir. İki farklı odds değerinin birbirlerine oranlanmasıyla hesaplanır. [83] $OR=1$ olduğunda merak edilen etkenin (referansa göre) araştırılan durumun olasılığını artırıcı veya azaltıcı bir etkisi yok denilebilir. $OR<1$ olduğunda merak edilen etkenin (referansa göre) araştırılan durumun olasılığını azaltıcı bir etkisi vardır. $OR>1$ olduğunda merak edilen etkenin (referansa göre) araştırılan durumun olasılığını artırıcı bir etkisi vardır.

Tanı testinin sensitivitesi ve NPD'sinin yüksek olması durumunda (yaklaşık %95) 'Rule-out/dışlama' test olarak adlandırılabilir. İyi bir 'Rule-out' test, vakaların %95'inde maligniteyi ekarte ettirmelidir. Yani testin negatif sonuç verdiği vakalar içerisindeki malignite oranı, Bethesda II kategorinin malignite oranıyla benzer şekilde, yaklaşık %5 gibi düşük bir değerde olmalıdır.[5] Test sonucu negatif olan vakalar için, malignite olasılığı göz ardı edilebilir düzeydedir. Tanı testinin spesifitesi ve PPD'sinin yüksek olması durumunda ise 'Rule-in/dahil etme' test olarak adlandırılabilir. PPD için bu değer Bethesda IV kategorisinde beklenen malignite oranından yani %40'tan fazla olmalıdır.[5] Testin pozitif sonuç verdiği vakalar içerisinde malignite oranı yüksektir ve bu vakalar malign kabul edilebilir.



Şekil 4.3. İndetermine tiroid sitolojisinde, test performansı, ‘Rule-in’ ve ‘Rule-out’ testlerin özelliklerini özetleyen şema.

4.5.Yerinde Sitolojik Değerlendirme (Rapid On-Site Cytological Evaluation-ROSE) ve Hücre Bloğu

Yerinde sitolojik değerlendirme, İİAB sırasında elde edilen materyalden, hasta başında hazırlanan yaymaların, havada kurutulması ve Diff-Quik gibi hızlı bir boya uygulanması sonucunda, genellikle patolog/sitopatolog veya sitotekniker tarafından, işlemin yeterliliğinin değerlendirilmesidir. Cerrahi anlamda “Frozen section-intraoperatif konsültasyon”un sitolojik karşılığı olarak düşünülebilir. [84]

Normalde İİAB’inde non-diagnostik tanı oranı %20 civarında olup, yerinde sitolojik değerlendirmenin en büyük amacı bu oranı azaltmaktır. Yapılan çeşitli çalışmalar yerinde

sitolojik deęerlendirmenin bu oranları dūřurdūęunu ve tanıya büyük katkı saęladıęını iřaret etmektedir. [85-87]

Bethesda raporlama sistemine göre, tiroid   AB sırasında eğer mümkünse ve tekrarlayan biyopsilerde, yerinde sitolojik değerlendirmenin kullanılmasını önerilmektedir.[5] Ancak bu durum, biyopsi süresini uzatabilmekte, işlem için orada olması nedeniyle sitopatoloğun normalden daha fazla zaman harcamasına neden olmakta ve işlem maliyetini bir miktar arttırmaktadır.[84]

Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, yerinde sitolojik değerlendirmenin rutin olarak kullanılması tartışmalıdır. Ancak özellikle tiroid   AB sırasında hücre bloğu eldesinde ve dolayısıyla indetermine tiroid nodüllerinin tanısındaki rolü tartışılmazdır. Birçok merkezde yerinde sitolojik değerlendirme, şüpheli nodüller ve birden fazla tekrar edilen biyopsiler sonrasında kullanılmaktadır.[84] Yerinde sitolojik değerlendirme kullanımı, merkezlerin kendi imkanları, hasta popülasyonu ve maddi olanaklarına göre belirlenmektedir.

Hücre bloğu, sitolojik materyallerden elde edilen solid  okeltinin veya aspirasyondan elde edilen mikrodoku fragmanlarının, paraf n bloklara gömülmesiyle hazırlanan, histolojik değerlendirme yapmaya imkan veren bir yöntemdir ve rutin olarak   AB, vücut boşluğu efüzyon sıvıları, yıkama sıvıları, kist içerikleri veya yaymalar üzerindeki dokunun kazınması ile elde edilebilir.  yi bir hücre bloğu yeterli selüler agregat, mikrodoku fragmanı veya santrifüj sonrası solid gözle görünür  okelti varlığına dayanır [14] ve formalin, alkol, Cytolyt, CytoRich RED vb. solüsyonlarla olmak üzere çeşitli metotlarla hazırlanabilmektedir.[88]. Hücre bloğu, tanısai sitoloji için değerli bir tamamlayıcıdır. Konvansiyonel yaymalar yanı sıra hücre bloğu, tanısai doğruluğu arttırmakta, yalancı negatif ve non-diagnostik tanı oranlarını düşürmektedir. [89-91] özellikle küçük doku fragmanları içeren hücre bloğu materyallerinde yapısal özellikler, ideal bir şekilde değerlendirilebilmektedir. Ayrıca hücre bloğu, patoloji materyallerinde kullanılan, formalinde tespit edilmiş, paraf ne gömülmüş (Formalin-fixed, parafin-embedded/FFPE) dokular ile oldukça benzerdir. [82]

Hücre bloklarının selülarite değerlendirmesi ve yeterliliği, yerinde sitolojik değerlendirme ile veya sitoloji laboratuvarında rutin hazırlık aşamaları sırasında yapılabilir. Yapısal  zellikleri daha iyi göstermesi, arşiv materyali ve ek testlere imkan verecek doku sağlaması açısından yaymalara göre daha avantajlıdır. Çoğu durumda  HK veya moleküler testler için   AB dışında doku olmaz. Bu nedenle hücre bloğu ve yaymalar bu testler için tek kaynak olabilmektedir.[14] Ayrıca hücre bloğundan elde edilebilen çok sayıdaki kesit sayesinde, patoloji spesmenlerinde kullanılan FFPE dokular için standardize edilmiş protokoller içeren çoklu  HK belirt eleri ve moleküler testler kolaylıkla yapılabilir. Bu kesitlerden tümörü konfirme etmek ve miktarını belirlemek de mümkündür. [14, 82, 88] Hücre

bloğu, patoloji materyalleri ile benzer özellikler göstermesi nedeniyle İHK için güvenle tercih edilebilir. Yaymalara uygulanan immünsitokimya ile kıyaslandığında, zemin boyanması olmaz, kontrol dokusu içerebilir ve morfolojik değerlendirme daha kolaydır. [14]

Rutin laboratuvarlarda hazırlanma işlemleri nedeniyle sürenin uzaması ve tanının gecikmesi, her zaman yeterli selüler hücre bloğu elde edilememesi, hazırlık işlemleri sırasında doku kaybı olabilmesi ve ek maliyet içermesi hücre bloğunun sınırlamalarıdır.[14] Ayrıca kullanılan solüsyon veya yöntem özellikle İHK veya moleküler test performansını etkileyebilir. [88] Farklı laboratuvarlarda farklı metotlar kullanılabilir. Ancak tekniğin istenen amaca yönelik olarak seçilmesi önemlidir.

İHK ve moleküler testler her geçen gün daha çok ön plana çıkmaktadır. Hücre bloğu tanı, prognozu öngörmek ve tedaviye yön vermek için, kolay ve güvenilir bir yöntemdir.

4.6.Tiroid Tümörlerinin Tanısında Kullanılan İmmünhistokimyasal Belirteçler

İmmünhistokimya (İHK) dokularda veya hücre bloklarında antijen-antikor bağlanması esasına dayanan, spesifik antijenleri (proteinleri) belirlemek için kullanılan bir laboratuvar tekniğidir. 1990'lı yıllarda cerrahi patolojide kullanımına başlanmıştır. Formalinde tespit edilmiş, parafine gömülmüş dokulardan (Formalin-fixed, parafin-embedded/FFPE) elde edilen kesitlerde poliklonal ya da monoklonal antikorların antijene bağlanması ve bu antijen-antikor kompleksinin görünür hale gelmesi prensibiyle çalışmaktadır. Antijen-antikor kompleksinin florasan altında görüntülenmesi ile immünflorasan, enzimatik reaksiyon ile ışık mikroskopunda görüntülenmesi İHK olarak adlandırılmaktadır. Antijen-antikor kompleksinin ışık mikroskobu altında görüntülenmesi için, son yıllarda peroksidaz-anti-peroksidaz, avidin-biotin kompleks ve biotin-streptavidin metotları gibi çok basamaklı ortaya çıkarma teknikleri kullanılmaktadır.[19]

Cerrahi patolojide rutin olarak kullanılan İHK tanı ve belirli tümörlerin klasifikasyonunda çok önemli rol oynamakla birlikte, birçok kanserde prognostik ve prediktif faktörlerin belirlenmesinde yol göstericidir.

Tiroid dokusunda ve tiroid kökenli tümörlerde çeşitli İHK belirteçler tanıya yardımcı olarak kullanılmaktadır.

4.6.1. Galektin 3

Galektin 3, LGALS3 geni tarafından kodlanan, hücre membran glikoproteinleri ile çapraz bağ yapabilen, β -galaktosid bağlayan bir lektindir. Normal meme epitel hücresi, inflamatuvar hücreler gibi birçok normal dokuda ve bazı malign tümörlerde nükleer ve sitoplazmik olarak ekspres edilir. Hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonu, hücre büyümesi, neoplastik transformasyon ve yayılım, hücre siklusu düzenlenmesi, apoptozis, hücre onarım

mekanizmalarında görev almaktadır. İmmünohistokimyasal olarak tiroid lezyonlarında nükleer ve sitoplazmik boyanması, spesifik boyanma olarak kabul edilmektedir.

İlk defa Xu ve ark.[92] tarafından, tiroidin papiller ve foliküler karsinomaları gibi iyi diferansiye tiroid tümörlerinde ifadesinde artış bulunduğu, ancak normal tiroid dokusunda, nodüler guatr ve foliküler adenomlarda ifade edilmediği saptanmış, tiroid lezyonlarında, malign-benign ayırımından bu belirtecin kullanımının faydalı olabileceği düşünülmüştür. Bu durum çeşitli çalışmalarda desteklenmiştir. [93-95]

Literatürde sensitivitesi %15-100, spesifitesi %40-100 arasında değişmekle birlikte, genellikle her iki değer de %70-95 aralığında yer almaktadır[20]. Ancak güncel bulgular göz önüne alındığında, sensitivite ve spesifitesinin düşünüldüğü kadar yüksek olmadığı, tek başına ayırıcı tanıda kullanılmaması gerektiği, diğer belirteçlerle, özellikle HBME1 ile kombine kullanımın daha faydalı olduğundan bahsedilmektedir. [19]

4.6.2. HBME1

HBME1 (Hector Battifora mesothelial antigen-1) ilk defa mezotelyal hücrelerde tanımlanan, mezotelyal hücrelerin mikrovillus yüzey proteinlerini tanıyan, monoklonal bir antikordur. Malign ve benign mezotel hücreleri yanı sıra trakea epiteli, pankreas, akciğer ve meme adenokarsinomau hücrelerini de tanıdığı anlaşılmıştır.[19] Daha sonra, foliküler adenomlarının bu antikora boyanmadığı, ancak birçok PTK ve bazı FK'un boyandığı dikkati çekmiş ve tanısal olarak bu tümörlerde kullanılabileceği düşünülmüştür. [40, 50, 96] Benign lezyonlarda fokal olarak boyanabildiği, bu nedende özellikle sitolojik materyallerde pozitif boyanmanın karsinomu desteklediği ancak her pozitifliğin malign olmadığı bildirilmiştir. [97] Az diferansiye tümörlerde yüksek oranda, anaplastik karsinomalarda ise düşük oranda pozitiflik izlenmektedir. İmmünohistokimyasal olarak tiroid lezyonlarında membranöz ve/veya sitoplazmik boyanması, spesifik boyanma olarak kabul edilmektedir.

Literatürde sensitivitesi %34-100, spesifitesi %66-100 arasında değişmekle birlikte, genellikle her iki değer de %70-95 aralığında yer almaktadır[20]. Diğer immünohistokimyasal belirteçlerle kombine kullanımı önerilmektedir.

4.6.3. Sitokeratin 19 (CK19)

KRT19 geni tarafından kodlanan, hücre iskeleti oluşumunda görevli ara filamanların bir elemanıdır ve sitokeratin ailesinin en küçük üyesidir. Glandüler epitelde, çok katlı epitelin ve saç folikül epitelinin bazal kısmında fizyolojik olarak ifade edilir. [98] Sağlıklı tiroid folikül hücrelerinin, nodüler guatr, foliküler adenom ve FK gibi lezyonların bu belirteçle negatif olduğu, PTK'da yaygın ve kuvvetli immünreaktivitenin dikkat çektiği bildirilmiştir. [19, 99] Ancak CK19'un non-tümöral tiroid dokusunda da ifade edildiği, foliküler neoplazilerde

ifadesinin azaldığı veya kaybolduğu, papiller neoplazilerde ise kuvvetli membranöz ifade artışı olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur. [96, 100-102] İmmünohistokimyasal olarak tiroid lezyonlarında membranöz ve/veya sitoplazmik boyanması, spesifik boyanma olarak kabul edilmektedir.

Literatürde sensitivitesi %13-100, spesifitesi %0-100 arasında değişmekle birlikte, genellikle her iki değer de %60-90 aralığında yer almaktadır.[20] Diğer immünohistokimyasal belirteçlerle kombine kullanımı önerilmektedir.

4.6.4. CD56

CD56, normal tiroid foliküler hücreleri ve adrenal gland, proksimal renal epitel, hepatositler gibi epitelial hücreler yanı sıra NK hücreleri, plazma hücreli miyelom, blastik plazmositoid dendritik hücre neoplazisi gibi hematopoetik seri hücreleri ve neoplazilerinde ifade edilen, nötral hücre adezyon molekülü (NCAM)'dür. [19] Hücre motilitesini düzenleyen bir proteindir ve tümör hücrelerinin migratuar kapasitesini etkilediği düşünülmektedir. Kanser dokusunda, CD56 ifadesinin azalması, tümör progresyonuyla ilişkilendirilmiştir.[103, 104] PTK, FK ve anaplastik karsinomada ifadesinde azalma dikkat çeker.[105-109] Ancak FK'a kullanımı sınırlı olup, özellikle PTK'da tanıda kullanılmaktadır.[2, 81] İmmünohistokimyasal olarak membranöz ve/veya sitoplazmik boyanması beklenir. Tanıda ifade kaybı anlamlı olarak değerlendirilmektedir. Literatürde az sayıdaki çalışmada, sensitivitesi %58-100, spesifitesi %46-100 arasında değişmektedir.[20]

4.6.5. Diğer belirteçler

CITED1 geni tarafından kodlanan, nükleer transkripsiyon proteinlerinin kontrol ettiği düşünülen CITED ailesi nükleer proteinlerinden biridir. Diğer adı MSG1 (melanosit spesifik gen 1)'dir ve melanosit diferansiasyonunda görevli olduğu düşünülmektedir. Nükleer ve sitoplazmik olarak melanositlerde, meme epitel hücrelerinde, testiküler germ hücrelerde ifade edilmektedir.[110, 111]

CD57, NK hücrelerinde doğal olarak bulunan, tiroid karsinomaunda ve diğer malignitelerde ifadesi izlenen bir belirteçtir. Tiroidin foliküler tümörlerinde benign-malign ayırımında faydalı olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.[112-114] Ancak faydası sınırlıdır ve tek başına kullanılması mümkün görünmemektedir.

Fibronektin 1 (FN1), normal tiroid dokusuyla kıyaslandığında tiroid karsinomalarında ifadesinde artış saptanmıştır. Malign-benign ayırımında diğer belirteçlerle kombine edilerek kullanılması önerilen belirteçlerden biridir.

CD44v6 hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkisini düzenleyen bir proteoglikandır. Papiller ve foliküler karsinomalar yanında benign tiroid lezyonlarında da pozitifdir.

4.7. Tiroid Tümörlerinin Tanısında Kullanılan Moleküler Testler

Tiroid kanserlerinin tanısında çeşitli mekanizmalara dayanan farklı moleküler testler kullanılabilmektedir. Bunlar Tablo 4.6’da özetlenmiştir.

Tablo 4.6. Kullandıkları yöntemlere göre moleküler testler

mRNA ifadesi	Mikroarray	Afirma ‘Gene Expression Classifier’ (GEC) 2013	Rule-out testi
	RNA sekanslama-NGS	Afirma ‘Gene Sequencing Classifier’ (GSC) 2018	Hem Rule-out hem Rule-in testi
mikroRNA ifadesi	RNA PCR	RosettaGX Reveal test 2016	Rule-out testi
	RNA PCR	ThyraMIR testi 2015	Rule-out testi
DNA mutasyonu	DNA NGS	ThyGenX 2015 ThyGeNEXT 2019	Rule-out testi
	DNA PCR	ThyroSeq v.1 2013	Hem Rule-out hem Rule-in testi
	DNA ve RNA NGS	ThyroSeq v.2 2014	Hem Rule-out hem Rule-in testi
	DNA ve RNA NGS	ThyroSeq v.3 2018	Hem Rule-out hem Rule-in testi

4.7.1. mRNA İfadesi

Tiroid kanserlerinde, fibronectin-1, TIMP1 ve E-selectin gibi spesifik mRNA ifadesindeki değişiklikler bulunduğu bilinmektedir. Bu grupta yer alan testler, spesifik mRNA’ların ifadesindeki değişikliklerin saptanmasına yönelik moleküler testlerdir. Ancak günümüze kadar malign-benign ayrımında, bunlardan herhangi birinin tek başına, potansiyel bir belirteç olarak yüksek sensitivite ve spesifite göstermediğini görülmektedir. Bu nedenle artık çalışmalar tek bir gen yerine mRNA ifade panellerinin üzerine yoğunlaşmış durumdadır.

Spesifik mRNA ifade panelleri sayesinde, spesifik tiroid kanserleri ile eşleşen farklı fenotipik imzalar ortaya çıkmakta ve bunların moleküler olarak belirlenmesiyle tanısal yaklaşım mümkündür. [21, 23]

Afirma ‘Gene Expression Classifier’ (GEC) bu mekanizmayı esas alarak, iki basamaklı olarak toplam 167 gene ait mRNA’yı mikroarray analizi ile örnekleri kontrol grubuyla kıyaslamaktadır. İlk basamakta medüller karsinoma veya metastaz gibi tiroidin daha az görülen lezyonlarını ayırmaya yarayan 25 genin analizi yapılmaktadır. Bu lezyonların ayrılmasının ardından, tiroidin primer foliküler kökenli lezyonları içinde, 142 gen analizi ile lezyonun natürünü belirlemeye çalışmaktadır. [23, 79] Sistem benign veya şüpheli şeklinde sonuç vermektedir. Test için, özel bir solusyon içerisinde biriktirilmiş, İİAB materyallerinden saflaştırılan mRNA kullanılmaktadır. Yapılan validasyon çalışmalarında, testin NPD’si yüksek olarak saptanmış ancak PPD’si düşük olarak bulunmuştur. [26, 79, 115] Bu test bir ‘Rule-out/dışlama’ testi olarak çalışmaktadır.

Afirma ‘Gene Sequencing Classifier’ (GSC), testin yüksek NPD ve sensitivitesini korurken, spesivitesini arttırmayı amaçlayarak, GEC ile aynı firma tarafından piyasaya sürülmüştür. Bu test GEC ile benzer özellikler taşımasının yanı sıra, özellikle indetermine ve Hürthle hücreli grupta yer alan lezyonların ayırıcı tanısına yönelik yenilikler ile dikkati çekmektedir. Yapılan validasyon çalışmalarında, testin PPD ve spesivitesinde artış ile benign vakaları saptama oranlarında artış saptanmıştır. [116-118]

4.7.2. MikroRNA(miRNA) İfadesi

MikroRNA(miRNA)’lar post-transkripsiyonel seviyede mRNA’ların ifadelerini düzenleyen, küçük kodlanmayan RNA molekülleridir. Spesifik miRNA imzalarının kanserlerde, histopatolojik özellikler, prognoz ve tedaviye yanıtı öngörmede faydalı oldukları düşünülmektedir. [21, 119]

Rosetta GX Reveal test, 24 miRNA’nın kantitatif retrotranskripsiyon PCR yöntemiyle miktarlarının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Bu testin diğerlerinden en büyük farkı, rutin sitoloji incelemesi için boyanmış yaymalarla çalışabilmesidir. Test; benign, malignite şüphesi ve medüller belirteçler açısından pozitif olmak üzere üç sonuç vermektedir. Yapılan validite çalışmalarında yüksek sensitivite, spesifivite ve NPD göstermiştir. [120, 121]

ThyraMIR testi 10 miRNA’nın benzer şekilde kantitatif retrotranskripsiyon PCR yöntemiyle miktarlarının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Pozitif ve negatif şeklinde sonuç vermektedir. [122] Önceden ThyGenX ile, artık ThyGeNEXT testi ile birlikte kullanılmaktadır.

4.7.3. Genetik mutasyonlar/yeniden düzenlenmeler

Gen mutasyonları veya yeniden düzenlenmeleri gibi bir takım somatik değişikliklerin moleküler olarak tanınması, tiroid kanserlerinin tanınmasında kullanılabilen bir diğer yöntemdir. İyi diferansiye tiroid tümörlerinde en sık izlenen genetik değişiklikler; *BRAF*, *NRAS*, *HRAS*, *KRAS* gen mutasyonları, *RET/PTK* ve *PAX8/PPAR γ* gen translokasyonlarıdır.[2] Bu nedenle bu mutasyonlar indetermine nodüllerin tanısında yol göstermesi beklenen en muhtemel moleküler değişiklikleri oluşturmaktadır. Bunların yanı sıra, *TP53*, *PIK3CA* ve *TERT* promoter genlerinde izlenen mutasyonlar da diğer driver mutasyonlara eşlik edebilen ve yüksek riskli lezyonu işaret eden daha nadir görülen mutasyonlardır.[123, 124] Tek bir mutasyonun veya genetik değişikliğin saptanması malignite açısından yönlendirici olmakla birlikte, bu mutasyon veya genetik değişikliğin saptanmaması maligniteyi ekarte ettirmemektedir. Bu yöntem ‘Rule-in/dahil etme’ prensibine dayanmaktadır. En sık kullanılan metod tek bir gen değişikliği yerine sıklıkla yukarıda bahsedilen sık izlenen mutasyon ve translokasyonları içeren panellerin kullanılmasıdır. Bu testlerin PPD’leri genellikle yüksektir. Ancak bu yöntemler İİAB materyallerinin özel solüsyonlar içerisinde biriktirilmesini ve hem DNA hem de RNA ekstrakte edilmesini gerektirmektedir. Eskiden Sanger sekanslama ve real-time PCR ile yapılan bu işlemler, artık yeni nesil sekanslama (NGS) ile yapılabilmektedir.[21]

ThyGenX testi, 5 gen mutasyonu ve 3 gen füzyonunu araştırmaktadır ve odaklanmış bir panele sahiptir. Aynı firmanın en yeni **ThyGeNEXT testi** ise 10 gen mutasyonu ve 32 gen füzyonu ile daha genişletilmiş bir panelle dikkati çekmektedir. ThyraMIR testi ile kombine kullanımı söz konusudur. İlk basamak testi ThyGenX veya ThyGeNEXT negatif sonuç verdiği durumlarda, ikinci aşama olarak ThyraMIR paneli uygulanmaktadır. ThyGeNEXT/ThyraMIR kombinasyonu sayesinde testin NPD, PPD ve test performansı yükselmektedir.[122, 125, 126]

ThyroSeq v.2, 14 adet nokta mutasyonu saptamak için DNA’yı, 42 gen füzyonu ve 16 genin ifade düzeyini araştırmak için mRNA’yı analiz eden kombine bir testtir. Testin validasyonu için yapılan çalışmada testin PPD %83, NPD %96 oranında saptanmıştır.[78] Bu sonuçlar testin hem ‘Rule-in’ hem de ‘Rule-out’ test olarak kullanılabileceğini göstermesi açısından önemlidir. Ancak ardından yapılan çalışmalarda, testin NPD ve PPD’sinin o kadar da yüksek olmadığı gösterilmiştir.[29, 31, 32, 127]

ThyroSeq v.3, testin doğruluğunun artırılması amacıyla, yeni saptanan 112 gen değişikliğinin de eklenmesiyle piyasaya sürülmüştür. Yeni eklenen genlerle birlikte testin sensitivitesinde artış, spesifitesinde ise azalma dikkati çekmiştir. Yapılan validasyon çalışmalarında, testin PPD %66, NPD %97 oranında saptanmıştır.[128] Bir önceki sürümüne göre PPD’sinde azalma dikkati çekerken, özellikle Hürthle hücreli neoplazileri doğru tanıma oranı artmıştır.

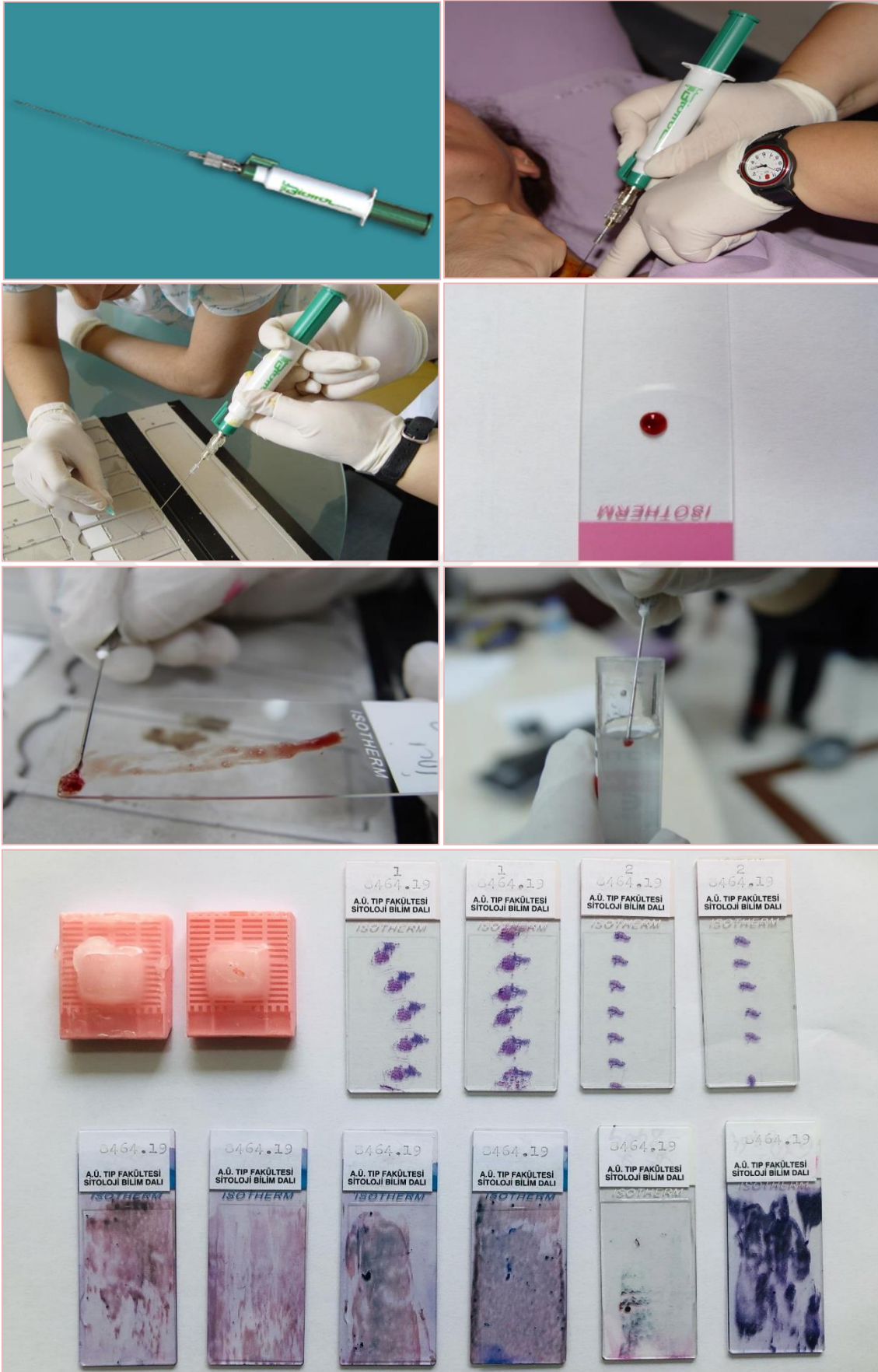
5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Olgu Seçimi

2010-2019 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Anabilim Dalı Girişimsel Radyoloji Ünitesinde, sitopatolog eşliğinde yerinde sitolojik değerlendirme ile tiroid İİAB yapılan, yayma preparat ve parafin hücre bloğu elde edilen, TSBRS'ye göre Bethesda kategori III ve IV tanısı alan vakalar, “Avicenna” bilgisayar kayıtlı arşiv sistemi ile taranmıştır. 576 olgu içerisinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinde tiroidektomi materyali bulunan ve hücre bloğuna ait kesitlerde immünsitokimyasal olarak Galektin-3, HBME-1, CD56, CK19 çalışılan 199 hastanın tamamı çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastaların kimlik bilgileri anonimleştirilerek kullanılmıştır.

5.2.Hücre Bloğu Elde Edilmesi

Tiroid biyopsisi için vakaların 154'ünde Biomol ® (Hospital Service, Italy) ve Sonocut ® (Geotek, Turkey) marka, Menghini tipi yarı otomatik 21-gauge aspirasyon biyopsi iğnesi, 45'inde ise konvansiyonel 22-gauge aspirasyon biyopsi iğnesi kullanılmıştır. Aspirat içinde yer alan yoğun hücresel materyelin veya kan pıhtısının makrodisseksiyonu ile elde edilen mikrodoku fragmanlarının doğrudan formaline transfer edilmesi ile hücre blokları elde edilmiştir. İşlemlerin tamamına bir sitopatolog yerinde sitolojik değerlendirme için (rapid on-site evaluation) eşlik etmiştir.



Resim 5.1. USG eşliğinde Menghini tipi yarı otomatik 21-gauge aspirasyon biyopsi iğnesi ile İİAB, yayma ve hücre bloğu eldesi

5.3. İmmüsitokimyasal Boyanma, Değerlendirme ve Skorlama

Tiroid İİAB hücre bloğundan elde edilen kesitler Hematoksilen&Eozin boyası ve Streptavidin-Biotin Peroksidaz yöntemi kullanılarak otomatik immünhistokimya boyama cihazlarında (Ventana Medical Systems-Roche, ABD) OptiView ve UltraView DAB kitleri kullanılarak boyanmıştır. Antikorların özelliklerine göre Tablo 5.1’de belirtilen yöntemler uygulanmış ve belirtilen ifade paterni dikkate alınmıştır. Arşivden bu preparatlara ulaşarak Bethesda kategorisi ve boyanma yaygınlığı açısından değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 5.1. Kullanılan antikorlara ait bilgiler ve boyama teknikleri

	Klon	Antikor özelliği	Dilüsyon	Tedarikçi	Boyanma paterni
Galektin-3	Galectin-3 (9C4)	Monoklonal fare antikoru	1:25	Cell Marque	Nükleer +/- sitoplazmik
HBME-1	HBME-1	Monoklonal fare antikoru	Kullanıma hazır	Cell Marque	Membranöz +/- sitoplazmik
CK19	A53-B/A2.26	Monoklonal fare antikoru	1:500	Cell Marque	Membranöz +/- sitoplazmik
CD56	123C3.D5	Monoklonal fare antikoru	Kullanıma hazır	Ventana	Membranöz +/- sitoplazmik

Antikor boyanma yüzdeleri ; %0-10: (-) , %11-25: (+) , %26-50: (++) ve %51-100 : (+++) olarak değerlendirilmiştir.

Galektin-3 için +, ++ ve +++ (%11 ve üstü) nükleer ve membranöz boyanmalar pozitif boyanma olarak kabul edilmiş ve skorelama için 1 puan almıştır.

HBME-1 için ++ ve +++ (%26 ve üstü) membranöz ve/veya sitoplazmik boyanmalar pozitif boyanma kabul edilmiş ve skorelama için 1 puan almıştır.

CK19 için ++ ve +++ (%26 ve üstü) membranöz ve/veya sitoplazmik boyanmalar pozitif boyanma kabul edilmiş ve skorelama için 1 puan almıştır.

CD56 antikorunun değerlendirilmesinde ifade kaybı anlamlı olduğundan, yalnızca - ve + (%25 ve altı) membranöz ve/veya sitoplazmik boyanmalar için test sonucu pozitif kabul edilmiş ve skorelama için 1 puan almıştır.

Her bir belirteç için alınan puanlar toplanmış, 0 ve 4 arasında olmak üzere toplam skor elde edilmiştir. Yapılan istatistiksel ROC analizi ile anlamlı eşik değerinin 2’de belirlenmesi sonucunda, skoru 2 ve üzeri (2, 3 ve 4) olan vakalar malignite açısından pozitif (malign), skoru

2'nin altında (0 ve 1) olan vakalar malignite açısından negatif (benign) kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hastalara ait eksizyon materyallerindeki nihai histopatolojik tanımlar ile karşılaştırılmıştır.

5.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 11.5 istatistik paket programında yapılmıştır. Tanımlayıcı bulgular kısmında kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile, sayısal değişkenler ise ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca, en küçük ve en büyük değer şeklinde sunulmuştur.

Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare ve Fisher Exact Testi, sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında ise normal dağılıma uygunluğuna göre parametrik (Student T Test vb.) veya nonparametrik (Mann Whitney U, Kruskal Wallis vb) testler kullanılmıştır.

Skorlama için tanı doğruluğu artıran eşik değerini belirlemek için ROC analizi uygulanmıştır. Ayrıca 4 immünohistokimyasal belirteç ve skorlama için tarama testi sonuçları (sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer) verilmiştir. Tüm analizlerde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmıştır. Sensitivite, spesifite, PPD, NPD ve doğruluk aşağıda verilen Tablo 5.2 ve Formül 5.1'e göre hesaplanmıştır.

Tablo 5.2. Test olasılık tablosu 2x2

		Gerçek durum		
		Hasta (Malign)	Sağlıklı (Benign)	Toplam
Yeni test	Pozitif (+)	A (Gerçek Pozitif)	B (Yalancı Pozitif)	A+B
	Negatif (-)	C (Yalancı Negatif)	D (Gerçek Negatif)	C+D
	Toplam	A+C	B+D	A+B+C+D

SENSİTİVİTE: $A / A + C$

SPESİFİTE: $D / B + D$

DOĞRULUK: $(\text{Sensitivite} \times \text{Prevalans}) + \text{Spesifite} \times (1 - \text{Prevalans})$

PPD: $\frac{\text{Sensitivite} \times \text{Prevalans}}{(\text{Sensitivite} \times \text{Prevalans}) + [(1 - \text{Prevalans}) \times (1 - \text{Spesifite})]}$

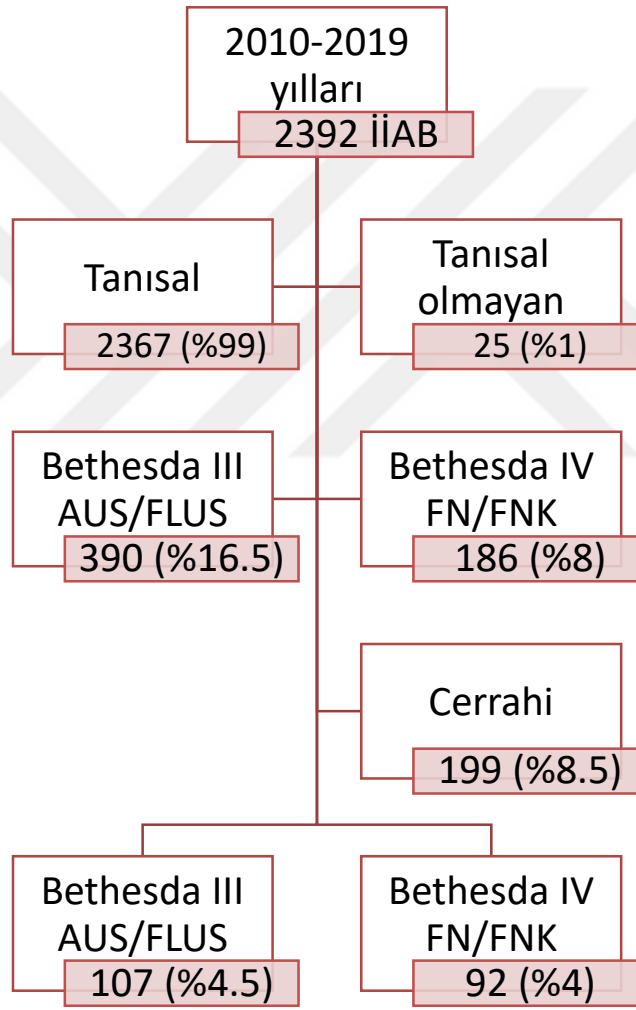
NPD: $\frac{(1 - \text{Prevalans}) \times (\text{Spesifite})}{[(1 - \text{Sensitivite}) \times \text{Prevalans}] + [(1 - \text{Prevalans}) \times (\text{Spesifite})]}$

Formül 5.1. Sensitivite, spesifite, doğruluk, PPD ve NPD formülleri

6. BULGULAR

6.1. Klinikopatolojik Bulgular

Ocak 2010, Aralık 2019 yılları arasında 2392 tiroid nodülüne sitopatolog eşliğinde yerinde sitolojik değerlendirme ile İİAB yapılmıştır. Bunlar içerisinde Bethesda III tanısı alan 390 vakadan 107 kadarı ve Bethesda IV tanısı alan 186 vakadan 92'si olmak üzere toplam 199 olgu cerrahi operasyona gitmiştir. (Şekil 6.1.) Foliküler paternli olmayan, AUS grbunda yer alan ancak foliküler kökenli olmayan lenfoid lezyonlar, metastazlar ve medüller tiroid lezyonu olguları çalışmadan çıkarılmıştır.



Şekil 6.1. Olgu seçimi ve dağılımı

199 hastanın 146'sı (%73) kadın, 53'ü (%27) erkek olup kadın baskınlığı dikkati çekmiştir. Hastaların ortalama yaşı 44.7, en yüksek yaş 81, en düşük yaş 9 olarak saptanmıştır. Olgularda nodüllerin 98'u tiroidin sağ lobunda, 18'si istmusta, 83'u tiroidin sol lobunda

yerleşim göstermektedir. Nodüllerin ortalama uzun çapı 21.5 mm olup, en büyük nodül uzun çapı 66 mm, en küçüğü ise 3 mm'dir.

Bethesda III kategorisine ait 107 vaka ile Bethesda IV kategorisine ait 92 vakanın cerrahi sonrası aldıkları patoloji tanıları Tablo 6.1'da gösterilmiştir.

Tablo 6.1. Bethesda kategorilerine göre tanıların dağılımı

	BETHESDA III			BETHESDA IV			
	Toplam	Onkositik olmayan	Onkositik	Toplam	Onkositik olmayan	Onkositik	
<i>PTK klasik</i>	8	7	1	4	4	0	12
<i>FV PTK</i>	27	26	1	24	21	3	51
<i>FK</i>	3	2	1	10	6	4	13
<i>İYİ DİF CA</i>	0	0	0	6	5	1	6
<i>AZ DİF CA</i>	0	0	0	1	1	0	1
<i>NIFTP</i>	2	2	0	5	2	3	7
<i>UMPT</i>	3	3	0	5	2	3	8
<i>FA</i>	5	5	0	7	7	0	12
<i>HHA</i>	1	0	1	4	1	3	5
<i>NG</i>	46	31	15	18	15	3	64
<i>KLT</i>	12	7	5	5	2	3	17
<i>DHG</i>	0	0	0	3	3	0	3
Toplam	107	83	24	92	69	23	199

PTK: Papiller tiroid karsinomu, FV PTK: Foliküler varyant papiller tiroid karsinomu, FK: Foliküler karsinoma, NIFTP: Papiller benzeri nükleer özellikler gösteren non-invaziv foliküler neoplazi, UMPT: Malignite potansiyeli belirsiz foliküler tümör, FA: Foliküler adenoma, HHA: Hürthle hücreli adenoma, NG: Nodüler guatr, KLT: Kronik lenfositik tiroiditis, DHG: Dishormonogenetik guatr.

Cerrahi sonrası Bethesda III kategorisinde yer alan vakalar; %59,8 oranında benign kategoride, %35,5 oranında malign kategoride, %4,7 oranında benign-malign ayrımı yapılamayan ara kategoride (UMPT ve NIFTP) yer almıştır. 8 (%7) vaka klasik PTK, 27 (%25) vaka ise FV PTK, 3 (%3) vaka FK, 2(%2) vaka NITFP, 3 (%3) vaka UMPT, 5 (%5) vaka FA, 1 (%1) vaka HHA, 46 (%43) vaka nodüler guatr, 12 (%11) vaka kronik lenfositik tiroiditis tanısı almıştır. Bu kategoride UMPT vakalarının dahil edilmediği; NIFTP vakalarının malign kabul edildiği durumda malignite prevalansı %38.4, benign kabul edildiği durumda malignite prevalansı %36.5'tir.

107 vakadan 24'ü sitolojik incelemede onkositik özellikler göstermektedir. Bunlar arasında, 1 klasik PTK, 1 FV PTK, 1 FK olmak sadece 3 vaka malign, diğerlerinin %71'ini nodüler guatr, %21'ini kronik lenfositik tiroiditis ve %4'ünü Hürthle hücreli adenom olmak üzere benign vakalar oluşturmaktadır.

Cerrahi sonrası Bethesda IV kategorisinde yer alan vakalar; %40 oranında benign kategoride, %49 oranında malign kategoride, %11 oranında ise benign-malign ayrımı

yapılamayan ara kategoride (UMPT ve NIFTP) yer almıştır. 4 (%4) vaka klasik PTK, 24 (%26) vaka FV PTK, 10 (%11) vaka FK, 6 (%6,5) vaka iyi diferansiye karsinoma, 1 (%1) vaka az diferansiye karsinoma, 5 (%5,5) vaka NITFP, 5 (%5,5) vaka UMPT, 7 (%8) vaka FA, 4 (%4) vaka HHA, 18 (%20) vaka nodüler guatr, 5 (%5,5) vaka kronik lenfositik tiroiditis, 3 (%3) vaka dishormonogenetik guatr tanısı almıştır. Bu kategoride UMPT vakalarının dahil edilmediği; NIFTP vakalarının malign kabul edildiği durumda malignite prevalansı %57.4, benign kabul edildiği durumda malignite prevalansı %51.7'dir.

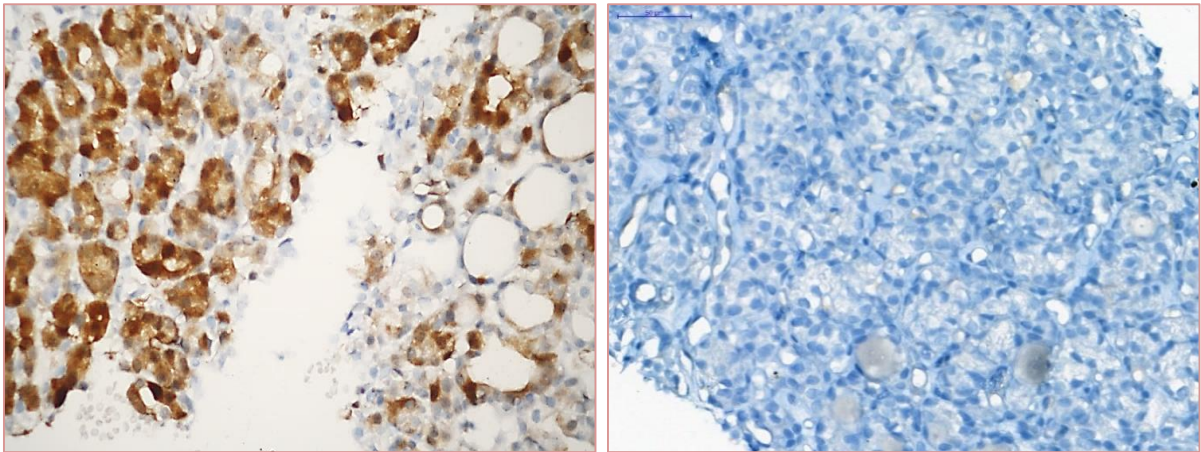
92 vakadan 23'ü sitolojik incelemede onkositik özellikler göstermektedir. Bunlar arasında, 3 FV PTK, 3'ü onkositik olmak üzere 4 FK, 1 iyi diferansiye karsinoma şeklinde malign tanı alan 8 vaka bulunmaktadır. Benign olanlardan, 3 tanesi Hürthle hücreli adenom, 3 tanesi nodüler guatr ve 3 tanesi kronik lenfositik tiroiditis tanısı almıştır. 6 kadar vaka ara kategoridedir.

6.2. İmmünsitokimyasal Bulgular

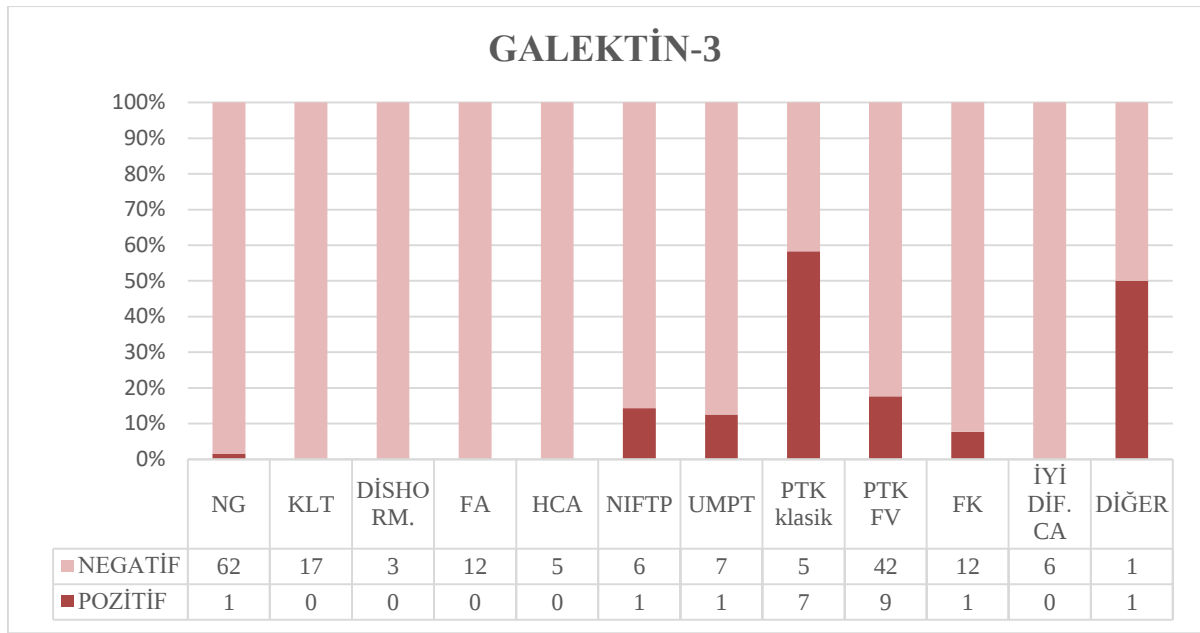
6.2.1. Galektin-3

199 vakanın 21'inde Galektin-3 ile anlamlı boyanma izlenmiştir. Bu vakaların histopatolojik tanısının 18'si malign, 2'si ara kategoride, 1'i ise benignidir. Boyanmayan 178 vakanın 65'i malign kategoride, 13 tanesi ara kategoride, 100'ü ise benign kategoridedir. Malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyanmıştır. ($p=0.001$) Pozitif ve negatif boyanan vaka örnekleri Resim 6.1'de, histopatolojik tanılarına göre vakaların boyanma dağılımları Şekil 6.2'de görülmektedir.

Galektin-3 ile boyanan 21 vakanın tamamı skorlama sisteminden 2 ve üzeri puan almıştır. Bu belirtece en sık eşlik eden diğer pozitiflik CK19 belirtecinde olmuş ve 19 vakada pozitifdir.



Resim 6.1. Galektin-3 ile sırasıyla pozitif ve negatif vaka örneği (x400)

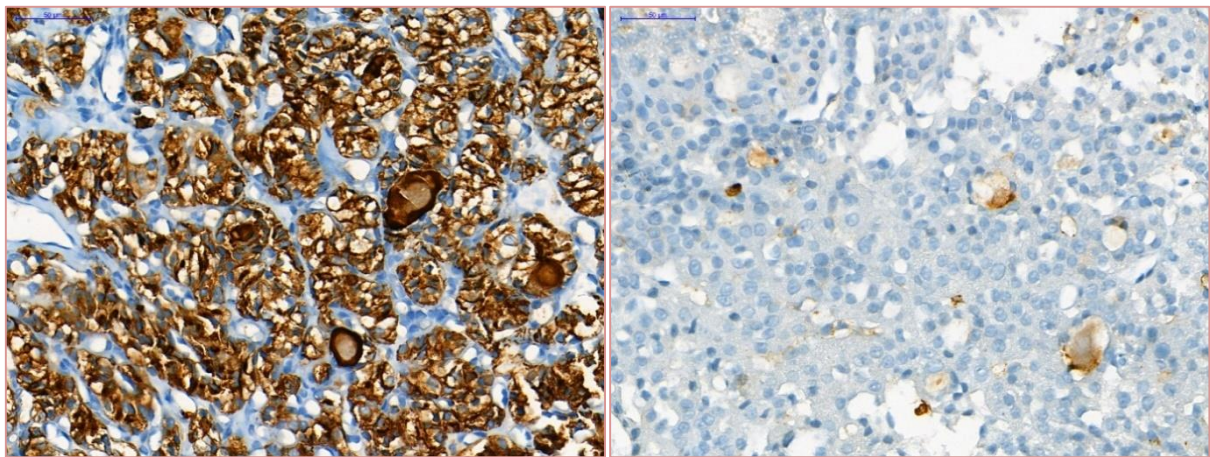


Şekil 6.2. Histopatolojik tanılarına göre Galektin-3 ile boyanma gösteren vakaların dağılımı

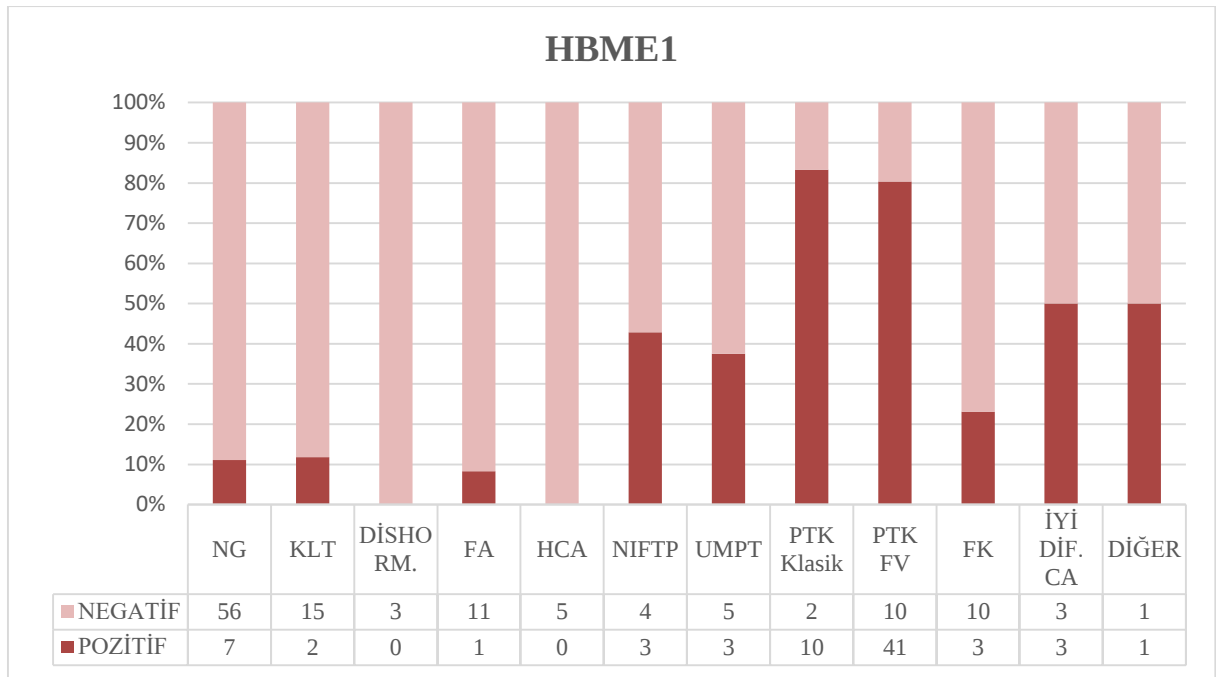
6.2.2. HBME1

199 vakanın 74 kadarında HBME1 ile anlamlı boyanma izlenmiştir. Bu vakaların histopatolojik tanısının 58'i malign, 6'si ara kategoride, 10'u ise benigndir. Boyanmayan 125 vakanın 26'si malign kategoride, 9 tanesi ara kategoride, 90 tanesi ise benign kategoridedir. Malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyanmıştır. ($p=0.001$) Pozitif ve negatif boyanan vaka örnekleri Resim 6.2'de, histopatolojik tanılarına göre vakaların boyanma dağılımları Şekil 6.3'te görülmektedir.

HBME1 ile pozitif boyanan 74 vakanın 69'u skorlama sisteminden 2 ve üzeri puan almıştır. Bu belirtece en sık eşlik eden diğer pozitiflik CK19 belirtecinde olmuş ve 60 vakada pozitifdir.



Resim 6.2. HBME1 ile sırasıyla pozitif ve negatif vaka örneği (x400)

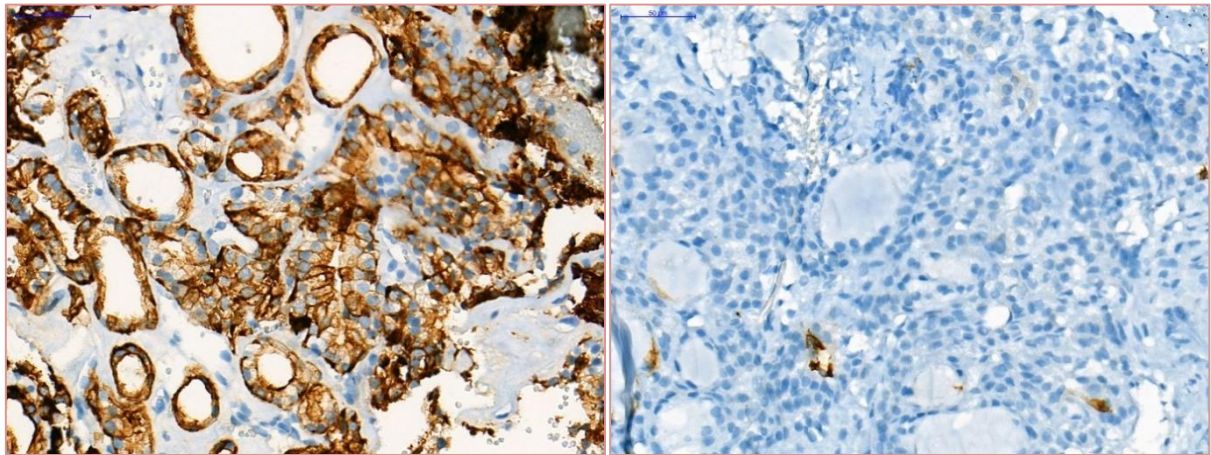


Şekil 6.3. Histopatolojik tanılarına göre HBME1 ile boyanma gösteren vakaların dağılımı

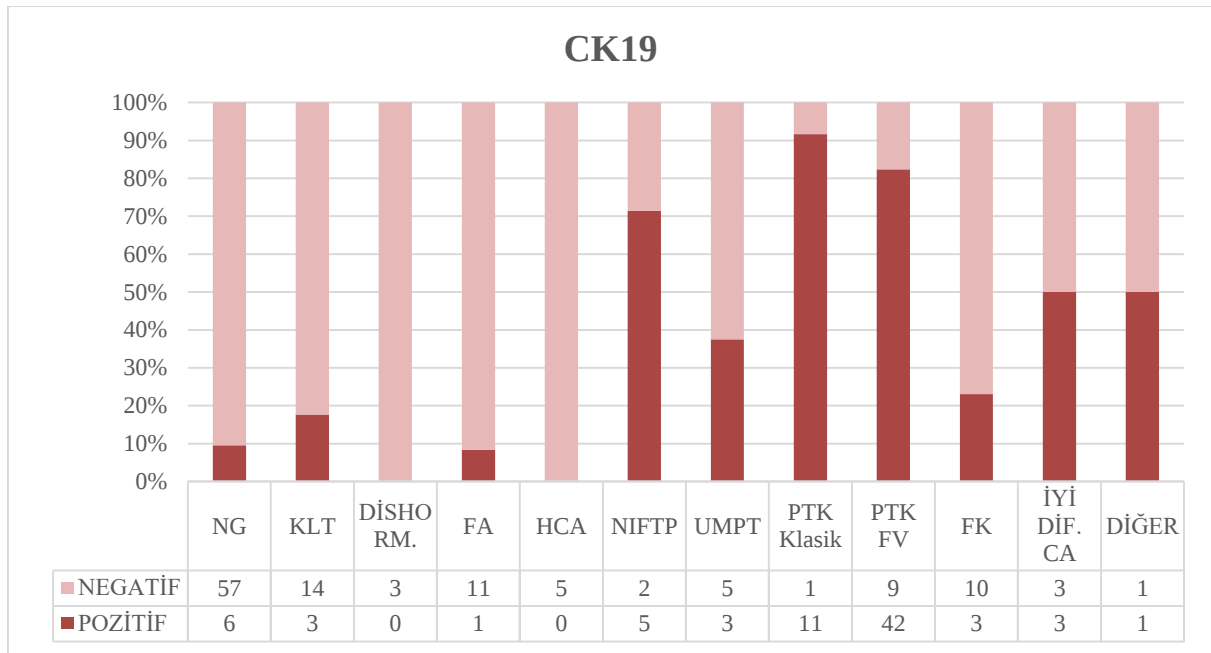
6.2.3. CK19

199 vakanın 78 kadarında CK19 ile anlamlı boyanma izlenmiştir. Bu vakaların histopatolojik tanısının 60'ı malign, 8'i ara kategoride, 10'u ise benigndir. Boyanmayan 121 vakanın 24'ü maling kategoride, 7 tanesi ara kategoride, 90 tanesi ise benign kategoridedir. Malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyanmıştır. ($p=0.001$) Pozitif ve negatif boyanan vaka örnekleri Resim 6.3'de, histopatolojik tanılarına göre vakaların boyanma dağılımları Şekil 6.4'te görülmektedir.

CK19 ile boyanan 78 vakanın 72'si skorlama sisteminden 2 ve üzeri puan almıştır. Bu belirtece en sık eşlik eden diğer pozitiflik HBME1 belirtecinde olmuş ve 60 vakada pozitifdir.



Resim 6.3. CK19 ile sırasıyla pozitif ve negatif vaka örneği (x400)

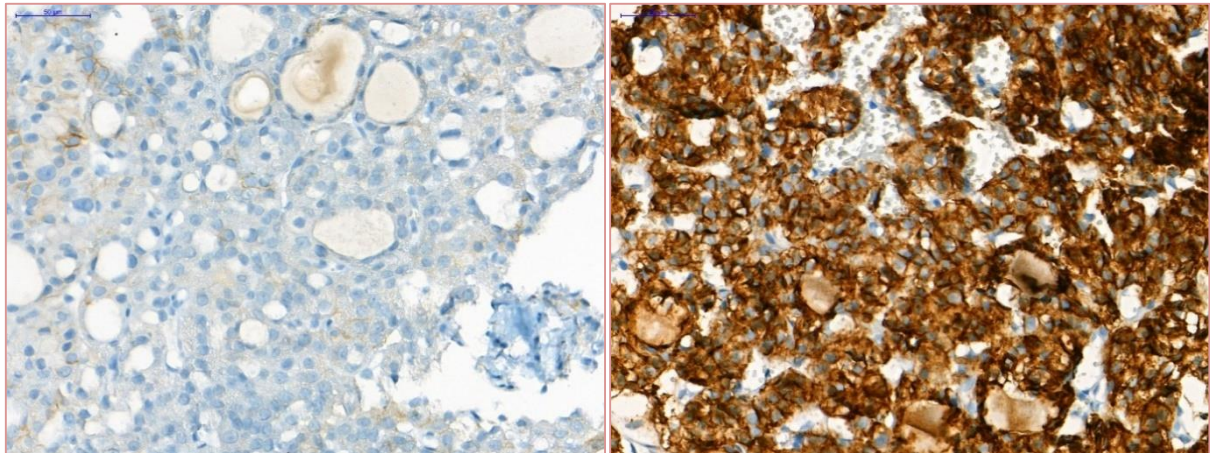


Şekil 6.4. Histopatolojik tanılarına göre CK19 ile boyanma gösteren vakaların dağılımı

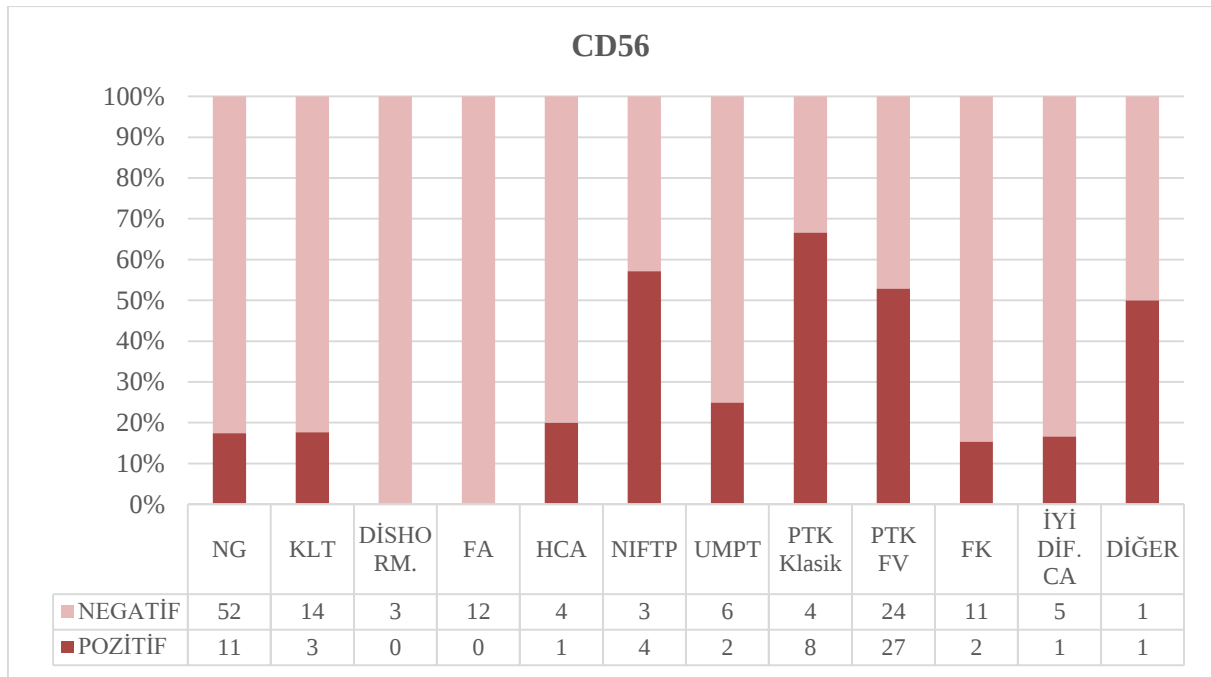
6.2.4. CD56

199 vakanın 60 kadarında CD56 ile anlamlı kabul edilen ifade kaybı izlenmiştir. Bu vakaların histopatolojik tanısının 39'u malign, 6'sı ara kategoride, 15'i ise benigndir. İfade kaybı saptanmayan 133 vakanın 45'i malign kategoride, 9 tanesi ara kategoride, 85 tanesi ise benign kategoridedir. Malign vakalarda, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık ifade kaybı dikakti çekmiştir. ($p=0.001$) CD56 ile ifade kaybı bulunan ve bulunmayan vaka örnekleri Resim 6.4'te, histopatolojik tanılarına göre vakaların dağılımları Şekil 6.5'te görülmektedir.

CD56 ile ifade kaybı bulunan 60 vakanın 47'si skorlama sisteminden 2 ve üzeri puan almıştır. Bu belirtece en sık eşlik eden diğer pozitiflik CK19 belirtecinde olmuş ve 40 vakada pozitifdir.



Resim 6.4. CD56 ile sırasıyla ifade kaybı bulunduran ve bulundurmeyen vaka örneği (x400)

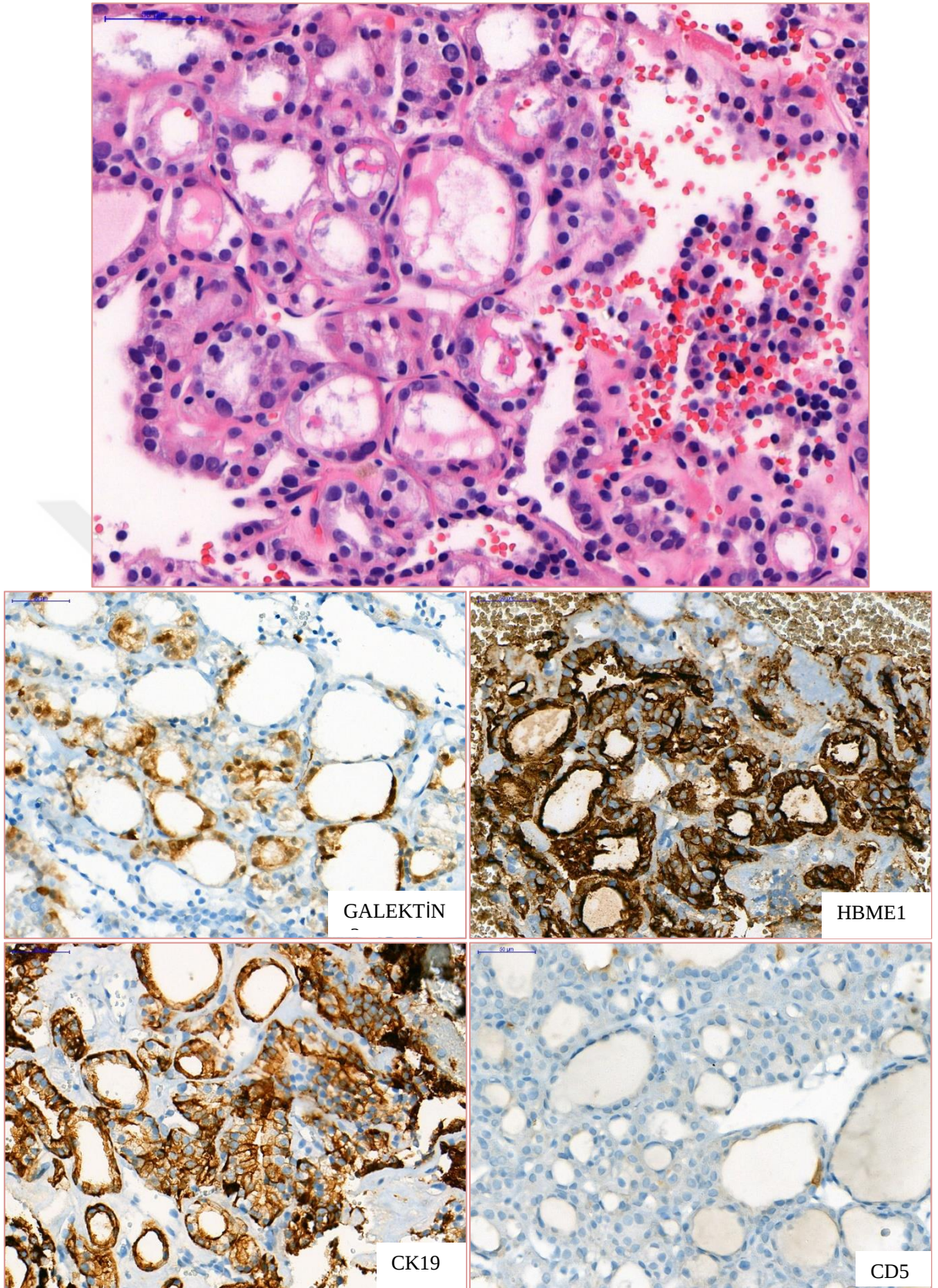


Şekil 6.5. Histopatolojik tanılarına göre CD56 ile ifade kaybı gösteren vakaların dağılımı

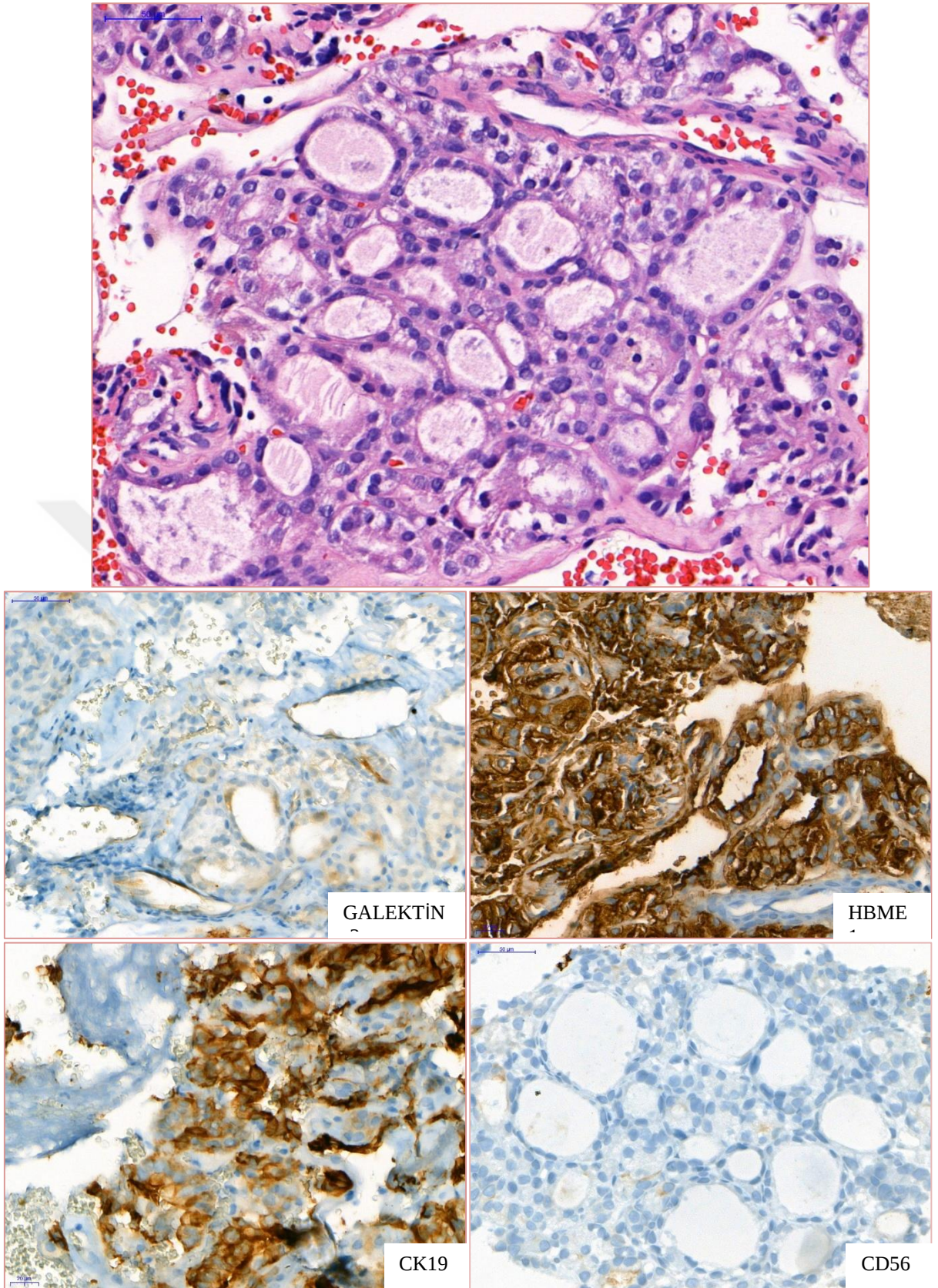
6.2.5. Kombine İmmünohistokimya Skoru

Galektin-3, HBME1 ve CK19 antikorları için eşik değerin üzerinde boyanma durumunda, CD56 antikoruna için ise eşik değerin üzerinde ifade kaybı saptanması halinde, bu belirteçler pozitif değerlendirilmiş ve '1' puan verilmiştir. Her vaka için bu puanların toplanması ile 0-4 arasında bir skor elde edilmiştir. Yapılan istatistiksel ROC analizi sonucunda en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip eşik değeri '2 ve üzeri' olarak saptanmıştır. Vakalar skorlarına göre '0-1' puan alanlar 'benign', '2-4' puan alanlar 'malign' olacak şekilde sınıflanmış ve eksizyon materyallerindeki histopatolojik tanıları ile kıyaslanarak, her grup için tarama testi verileri hesaplanmıştır.

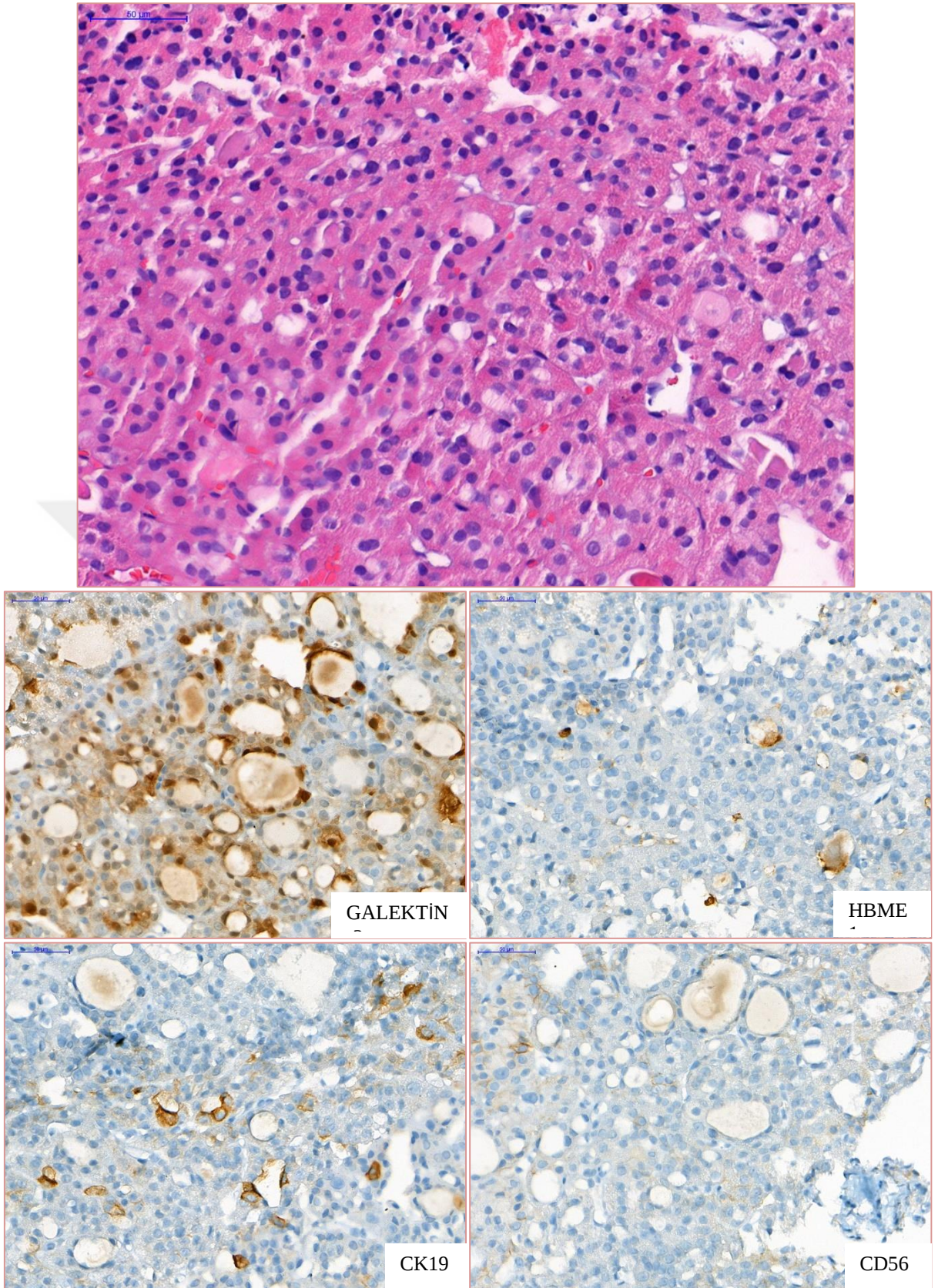
199 vakanın 80 kadarı, skora göre 2 ve üzerinde puan almıştır. Bu vakaların histopatolojik tanısının 66'sı malign, 8'i ara kategoride, 6'sı ise benigndir. 1 ve altında skor alan 119 vakanın 17'si malign kategoride, 7 tanesi ara kategoride, 94 tanesi ise benign kategoridedir. Malign vakalarda, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek skor saptanmıştır. ($p=0.001$) Vakaların İHK belirteçleri ile boyanmaları ve skora örnekleri Resim 6.5-6.8'de gösterilmiştir. Histopatolojik tanılarına göre vakaların skor dağılımları Şekil 6.6'da görülmektedir.



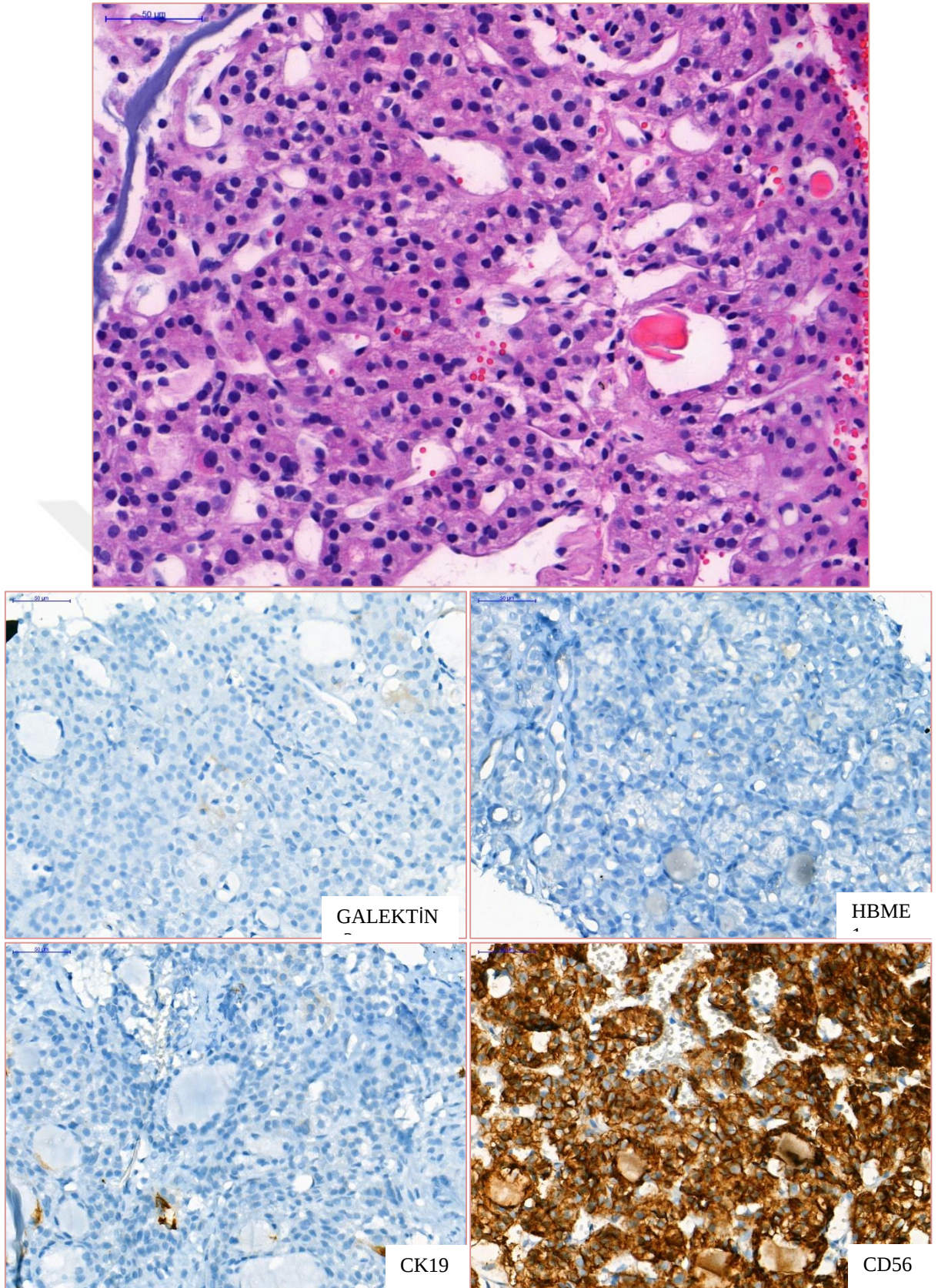
Resim 6.5. Vaka 1, Bethesda III, Skor:4, Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 için 1 puan, (x400)



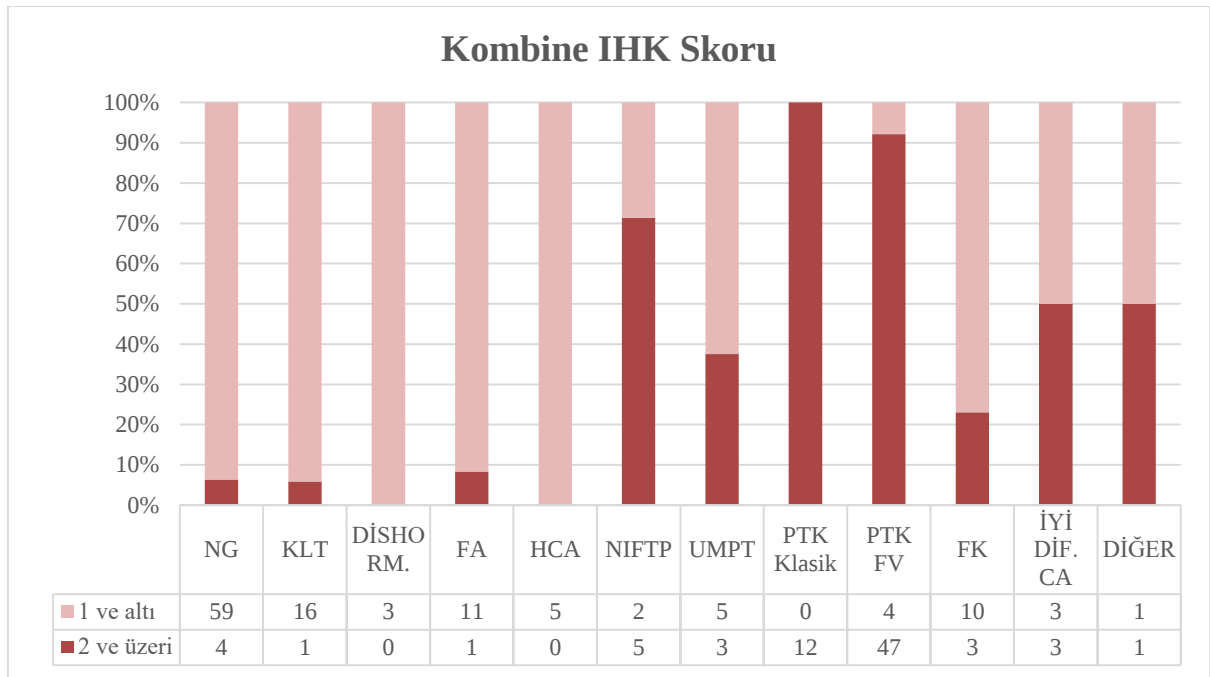
Resim 6.6. Vaka 2, Bethesda III, Skor:3, HBME1, CK19 ve CD56 için 1 puan, Galektin3 için 0 puan (x400)



Resim 6.7. Vaka 3, Bethesda IV, Skor:2, Galektin-3 ve CD56 için 1 puan, CK19 ve HBME1 için 0 puan (x400)



Resim 6.8. Vaka 4, Bethesda IV, Skor:0, Hiçbir belirteçten puan alınamamıştır. (x400)



Şekil 6.6. Histopatolojik tanılarına göre vakaların aldığı skor dağılımı

6.3. Test Sonuçları ve Test Performansı

Test performansı değerlendirilirken benign/malign doğası henüz kesin olarak bilinmeyen ve ara kategoride yer alan NIFTP ve UMPT tanısı alan vakalar için dört farklı grup oluşturulmuş ve bütün analizler bu gruplarda tekrarlanmıştır. Bu gruplar;

- ✓ Grup A: NIFTP ve UMPT dahil edilmiş ve malign olarak değerlendirilmiş
- ✓ Grup B: NIFTP dahil edilmiş ve malign olarak değerlendirilmiş, UMPT dahil edilmemiş
- ✓ Grup C: NIFTP dahil edilmiş ve benign olarak değerlendirilmiş, UMPT dahil edilmemiş
- ✓ Grup D: NIFTP ve UMPT dahil edilmemiş

Belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları Tablo 6.2-6.4 özetlenmiştir. Özellikle B grubu gerçek hayatı en iyi yansıtan grup özelliğindedir.

Tablo 6.2. Bütün vakalarda belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları

		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk (%)
NIFTP ve UMPT malign Grup A Malignite Prevalansı: %48.7	GAL3	19.59	99.02	94.99	56.47	60.34
	HBME1	67.01	90.20	86.65	74.23	78.90
	CK19	71.13	92.16	89.59	77.08	81.92
	CD56	47.42	90.20	82.12	64.38	69.37
	SKOR (2 ve üzeri)	75.51	94.06	92.43	79.99	84.97
	HBME1 veya CK19	77.85	84.16	82.42	79.60	80.92
	HBME1 veya GAL3	70.41	90.10	87.23	76.01	80.45
NIFTP malign UMPT yok Grup B Malignite Prevalansı: %47	GAL3	21.11	99.01	94.98	58.60	62.40
	HBME1	67.78	90.10	85.86	75.92	79.61
	CK19	72.22	90.10	86.61	78.53	81.70
	CD56	47.78	85.15	74.05	64.77	67.58
	SKOR (2 ve üzeri)	78.89	94.06	92.17	83.40	86.93
	HBME1 veya CK19	80.00	84.16	81.75	82.59	82.20
	HBME1 veya GAL3	73.33	90.10	86.79	79.21	82.22
NIFTP benign UMPT yok Grup C Malignite Prevalansı: %43	GAL3	21.69	98.15	89.83	62.42	65.27
	HBME1	69.88	87.96	81.41	79.47	80.19
	CK19	72.29	86.11	79.70	80.47	80.17
	CD56	46.99	82.41	66.83	67.33	67.18
	SKOR (2 ve üzeri)	79.52	89.81	85.49	85.32	85.39
	HBME1 veya CK19	80.72	80.56	75.80	84.71	80.63
	CK19 veya CD56	80.72	74.07	70.14	83.59	76.93
NIFTP ve UMPT yok Grup D Malignite Prevalansı: %45	GAL3	21.69	99.01	94.71	60.71	64.21
	HBME1	69.88	90.10	85.24	78.52	81.00
	CK19	72.29	90.10	85.66	79.90	82.08
	CD56	46.99	85.15	72.13	66.25	67.98
	SKOR (2 ve üzeri)	79.52	94.06	91.63	84.88	87.52
	HBME1 veya CK19	80.72	84.16	80.65	84.22	82.61
	HBME1 veya GAL3	74.70	90.10	86	81.32	83.17

Tablo 6.3. Bethesda III vakalarında belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları

		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk (%)
NIFTP ve UMPT malign Grup A Malignite Prevalansı: %39.3	GAL3	19.05	98.46	88.91	65.26	67.25
	HBME1	80.95	86.15	79.10	87.48	84.11
	CK19	88.10	90.77	86.07	92.17	89.72
	CD56	47.62	90.77	76.96	72.80	73.81
	SKOR (2 ve üzeri)	88.37	93.75	90.41	92.36	91.60
	HBME1 veya CK19	90.70	79.69	74.85	92.78	84.09
	GAL3 veya CK19	87.50	87.50	82.05	91.47	87.50
NIFTP malign UMPT yok Grup B Malignite Prevalansı: %38.4	GAL3	22.50	98.44	89.82	67.45	69.58
	HBME1	80.00	87.50	79.69	87.71	84.65
	CK19	87.50	89.06	83.06	92.08	92.08
	CD56	47.50	85.94	67.43	72.76	71.23
	SKOR (2 ve üzeri)	90.00	93.75	89.82	93.86	92.33
	GAL3 veya CK19	90.00	87.50	81.53	93.45	88.45
	HBME1 ve CK19	77.50	96.88	93.83	87.56	89.51
NIFTP benign UMPT yok Grup C Malignite Prevalansı: %36.5	GAL3	23.86	98.48	89.99	69.19	71.18
	HBME1	78.95	84.85	74.97	87.52	82.69
	CK19	84.64	86.36	78.54	91.95	86.54
	CD56	47.37	84.85	64.25	73.72	71.17
	SKOR (2 ve üzeri)	89.47	90.91	84.98	93.76	90.39
	GAL3 veya CK19	89.47	84.85	77.24	93.34	86.54
	HBME1 veya CK19	89.47	72.27	69.35	92.74	81.73
	HBME1 ve CK19	76.32	93.94	87.86	87.34	87.51
NIFTP ve UMPT yok Grup D Malignite Prevalansı: %37	GAL3	23.68	98.44	89.90	68.71	70.78
	HBME1	78.50	87.50	78.77	87.62	84.34
	CK19	86.84	89.06	82.34	92.02	88.24
	CD56	47.32	85.94	66.42	73.55	71.67
	SKOR (2 ve üzeri)	89.47	93.75	89.37	93.81	92.17
	HBME1 veya CK19	87.47	79.69	72.20	92.80	83.31
	GAL3 veya CK19	91.67	87.50	81.16	94.70	89.04

Tablo 6.4. Bethesda IV vakalarında belirteçlere ait sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları

		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk (%)
NIFTP ve UMPT malign Grup A Malignite Prevalansı: %59.8	GAL3	20.00	100.00	100.00	45.66	52.16
	HBME1	56.36	97.30	96.88	59.98	72.82
	CK19	58.18	94.59	94.12	60.33	72.82
	CD56	47.27	89.19	86.68	53.21	64.12
	SKOR (2 ve üzeri)	65.45	94.72	94.72	64.89	77.20
	HBME1 veya CK19	67.27	91.89	92.52	65.35	77.17
	HBME1 veya GAL3	63.64	94.59	94.60	63.62	76.08
NIFTP malign UMPT yok Grup B Malignite Prevalansı: %57.4	GAL3	20.00	100	100	48.53	54.4
	HBME1	58.00	94.59	93.43	62.95	73.74
	CK19	60.00	91.89	90.75	63.41	73.71
	CD56	48.00	83.78	79.69	54.86	63.39
	SKOR (2 ve üzeri)	70.00	94.59	94.50	70.40	80.58
	HBME1 veya CK19	72.00	91.89	92.17	71.23	80.55
	HBME1 veya GAL3	68.00	94.59	94.34	69.04	79.44
NIFTP benign UMPT yok Grup C Malignite Prevalansı: %51.7	GAL3	20.00	97.62	89.74	53.97	58.03
	HBME1	62.22	92.86	90.07	70.25	77.23
	CK19	81.82	66.67	71.87	77.89	74.39
	CD56	46.67	78.57	69.39	58.60	62.30
	SKOR (2 ve üzeri)	71.11	88.10	86.14	74.55	79.43
	HBME1 veya CK19	73.33	85.17	84.23	75.54	79.40
	HBME1 veya GAL3	71.11	90.48	88.60	75.06	80.60
NIFTP ve UMPT yok Grup D Malignite Prevalansı: %55	GAL3	20.00	100	100	50.56	56
	HBME1	62.22	94.59	93.36	67.20	76.79
	CK19	60.00	91.89	90.04	65.27	74.35
	CD56	46.67	83.78	77.86	56.24	63.37
	SKOR (2 ve üzeri)	71.11	94.59	94.14	72.82	81.68
	HBME1 veya CK19	60.00	91.89	90.04	65.27	74.35
	HBME1 veya GAL3	71.11	94.59	94.14	72.82	81.68

6.3.1. Galektin-3

Tüm vakalar değerlendirildiğinde Galektin-3'ün sensitivitesi, bütün gruplarda benzer olup, en yüksek C ve D grubunda, %21.69 olarak saptanmış, en düşük ise A grubunda %19,59 bulunmuştur. Spesifitesi ise benzer şekilde tüm gruplarda birbirine yakındır. (%98.15-99,02) Doğruluk oranlarına baktığımızda, %65.27 ile en yüksek değer C grubunda saptandığı görülmektedir. En yüksek PPD %94.99 ile A grubunda saptanırken, NPD %62.42 ile C grubunda izlenmiştir. Odds oranı B grubunda 26.761'dir. Bu veriler Tablo 6.2'de özetlenmiştir.

Sadece Bethesda III vakaları değerlendirilmeye alındığında, bütün gruplarda birbirine benzer değerler elde edilmiş, en yüksek sonuçlara C grubunda saptanmıştır. En yüksek sensitivite değeri %23.86, spesifite değeri %98.48 olup, doğruluk oranı %71,18'tir. PPD %89.99, NPD ise %69.19 saptanmıştır. Odds oranı B grubunda 18.290'dır. Bu veriler tablo 6.3'te özetlenmiştir.

Sadece Bethesda IV vakaları değerlendirilmeye alındığında, bütün gruplarda birbirine benzer değerler elde edilmiş, sensitivite değeri %20, spesifite değeri %100'dür. Doğruluk oranı %58.03 ve NPD %53.97 ile C grubunda en yüksek saptanmış, C grubu hariç diğerlerinde PPD %100 ile en yüksek değerde bulunmuştur. Odds oranı B grubunda 10.25'dir. Bu veriler tablo 6.4.'te özetlenmiştir.

6.3.2. HBME1

Tüm vakalar değerlendirildiğinde, bütün gruplarda birbirine benzer değerler elde edilmiş, HBME1, sensitivite ve spesifite için en yüksek değerlere sırasıyla %69.88 ile C ve D grubunda, %90.20 ile A grubunda ulaşmaktadır. En yüksek doğruluk oranı %81 ile D grubunda, PPD %86.65 ile A grubunda, NPD %79.47 ile C grubundadır. Odds oranı B grubunda 19.141'dir. Bu veriler Tablo 6.2'de özetlenmiştir.

Sadece Bethesda III vakaları değerlendirilmeye alındığında, sensitivite değeri A grubunda, diğer değerlerin tamamı ise B grubunda en yüksek olarak saptanmıştır. En yüksek sensitivite değeri %80.95, spesifite değeri %87.50, doğruluk değeri %84.65, PPD %79.69, NPD ise %87.71'dir. Odds oranı B grubunda 28'dir. Bu veriler Tablo 6.3'te özetlenmiştir.

Sadece Bethesda IV vakaları değerlendirilmeye alındığında, sensitivite en yüksek C grubunda %62.22, spesifite ise A grubunda %97.30 saptanmış, en yüksek doğruluk oranı %77.23 ile C grubundadır. PPD %96.88 ile A grubunda, NPD ise %70.25 ile C grubunda en yüksek değerlerine ulaşmıştır. Odds oranı B grubunda 24.167'dir. Bu veriler Tablo 6.4'te özetlenmiştir.

6.3.3. CK19

Tüm vakalar değerlendirildiğinde, bütün gruplarda benzer rakamlar izlenmektedir. En yüksek değerlere sensitivite ve NPD açısından C grubunda, diğerlerinde ise A grubunda ulaşılmıştır. En yüksek sensitivite değeri %72.29, spesifite değeri %92.16, doğruluk oranı %81.92, PPD %89.59, NPD %80.47'dir. Odds oranı B grubunda 24.167'dir. Bu veriler Tablo 6.2'de özetlenmiştir.

Sadece Bethesda III vakaları değerlendirilmeye alındığında doğruluk oranı hariç en yüksek rakamlara A grubunda ulaşılmış, doğruluk oranı ise B grubunda en yüksektir. Sensitivite %88.10, spesifite %90.77, doğruluk oranı %92.08, PPD %86.07, NPD ise %92.17 ile en yüksek olduğu rakamlara ulaşmıştır. Odds oranı B grubunda 57'dir. Bu veriler Tablo 6.3'te özetlenmiştir.

Sadece Bethesda IV vakaları değerlendirilmeye alındığında, sensitivite en yüksek C grubunda %81.82 olarak, spesifite en yüksek A grubunda %94.59 olarak saptanmış, doğruluk oranı C grubunda %74,39'dur. PPD %94.12 ile A grubunda, NPD ise %77.89 ile C grubunda en yüksek değerine ulaşmıştır. Odds oranı B grubunda 17'dir. Bu veriler Tablo 6.4'te özetlenmiştir.

6.3.4. CD56

Tüm vakalar değerlendirildiğinde, bütün gruplarda birbirine benzer değerler elde edilmiş, sensitivite değeri en yüksek B grubunda %47.78, spesifite değeri en yüksek A grubunda olup, %90.20 saptanmıştır. Doğruluk oranı %69.37'dir. PPD %82.12 ile A grubunda, NPD %67.33 ile C grubunda en yüksek olarak izlenmiştir. Odds oranı B grubunda 5.25'dir. Bu veriler Tablo 6.2'de özetlenmiştir.

Sadece Bethesda III vakaları değerlendirilmeye alındığında, NPD hariç diğer değerler için en yüksek rakamlara A grubunda ulaşılmıştır. En yüksek sensitivite ve spesifite değerleri sırasıyla, %47.62 ve %90.77'dir. Doğruluk oranı %73.81, PPD ise %76.96 ile en yüksektir. NPD en yüksek C grubunda %73.72 bulunmuştur. Odds oranı B grubunda 5.529'dir. Bu veriler Tablo 6.3'te özetlenmiştir.

Sadece Bethesda IV vakaları değerlendirilmeye alındığında spesifite %48 ile B grubunda, sensitivite %89.19 ile, doğruluk oranı ise %64.12 ile A grubunda en yüksek izlenmiştir. En yüksek PPD A grubunda %86.68, NPD ise C grubunda 58,60 saptanmıştır. Odds oranı B grubunda 4.77'dir. Bu veriler Tablo 6.4'te özetlenmiştir.

Tablo 6.5. UMPT'nin dahil edilmediği, NIFTP'nin ise malign olarak değerlendirildiği B grubunun belirteçlere ait ayrıntılı sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları

		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk oranı (%)
BIII Prevalans: %38.4	GAL3	22.50	98.44	89.82	67.45	69.58
	HBME1	80.00	87.50	79.69	87.71	84.65
	CK19	87.50	89.06	83.06	92.08	92.08
	CD56	47.50	85.94	67.43	72.76	71.23
	SKOR 1 (1 ve üzeri)	90.00	68.75	63.84	91.81	76.83
	SKOR 2 (2 ve üzeri)	90.00	93.75	89.82	93.86	92.33
VEYA	GAL3+HBME1	80.00	87.50	79.69	87.71	84.65
	GAL3+CK19	90.00	87.50	81.53	93.45	88.45
	GAL3+CD56	57.50	84.38	69.28	76.41	74.16
	HBME1+CK19	90.00	79.69	73.09	92.86	83.61
	HBME1+CD56	90.00	76.56	70.18	92.59	81.67
	CK19+CD56	90.00	76.56	70.18	92.59	81.67
	GAL3+HBME1+ CK19	90.00	79.69	73.09	92.86	83.61
	GAL3+HBME1+ CD56	90.00	76.56	70.18	92.59	81.67
	HBME1+CK19+ CD56	90.00	68.75	63.84	91.81	76.83
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	90.00	68.75	63.84	91.81	76.83
VE	GAL3+HBME1	22.50	98.44	89.82	67.45	69.58
	GAL3+CK19	20.00	100.00	100.00	67.10	69.60
	GAL3+CD56	12.50	100.00	100.00	65.09	66.75
	HBME1+CK19	77.50	96.88	93.83	87.54	89.51
	HBME1+CD56	37.50	96.88	88.03	71.66	74.31
	CK19+CD56	45.00	98.44	94.64	74.49	78.13
	GAL3+HBME1+ CK19	20.00	100.00	100.00	67.10	69.60
	GAL3+HBME1+ CD56	12.50	100.00	100.00	65.09	66.75
	HBME1+CK19+ CD56	35.00	98.44	93.21	71.19	74.33
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	10.00	100.00	100.00	64.45	65.80
B IV Prevalans: %57	GAL3	20.00	100.00	100.00	48.53	54.4
	HBME1	58.00	94.59	93.43	62.95	73.74
	CK19	60.00	91.89	90.75	63.41	73.71
	CD56	48.00	83.78	79.69	54.86	63.39
	SKOR 1 (1 ve üzeri)	74.00	78.38	81.94	69.46	75.88
	SKOR 2 (2 ve üzeri)	70.00	94.59	94.50	70.40	80.58
VEYA	GAL3+HBME1	68.00	94.59	94.34	69.04	79.44
	GAL3+CK19	60.00	91.89	90.75	63.41	73.71
	GAL3+CD56	56.00	83.78	82.07	58.96	67.95
	HBME1+CK19	72.00	91.89	92.17	71.23	80.55
	HBME1+CD56	70.00	81.08	83.06	67.09	74.76

	CK19+CD56	72.00	78.38	81.53	67.86	74.74
	GAL3+HBME1+CK19	72.00	91.89	92.17	71.23	80.55
	GAL3+HBME1+CD56	74.00	81.08	83.83	70.17	77.34
	HBME1+CK19+CD56	74.00	78.38	81.94	69.46	75.88
	GAL3+HBME1+CK19+CD56	74.00	78.38	81.94	69.46	75.88
VE	GAL3+HBME1	10.00	100.00	100.00	45.60	48.70
	GAL3+CK19	20.00	100.00	100.00	48.53	54.40
	GAL3+CD56	12.00	100.00	100.00	46.16	49.84
	HBME1+CK19	46.00	94.59	91.86	56.92	66.90
	HBME1+CD56	36.00	97.30	94.64	53.42	62.36
	CK19+CD56	36.00	79.30	94.64	53.42	62.36
	GAL3+HBME1+CK19	10.00	100.00	100.00	45.60	48.70
	GAL3+HBME1+CD56	6.00	100.00	100.00	44.52	46.32
	HBME1+CK19+CD56	26.00	97.30	92.73	49.80	56.66
	GAL3+HBME1+CK19+CD56	6.00	100.00	100.00	44.52	46.42
BIII+BIV Prevalans: %47	GAL3	21.11	99.01	94.98	58.60	62.40
	HBME1	67.78	90.10	85.86	75.92	79.61
	CK19	72.22	90.10	86.61	78.53	81.70
	CD56	47.78	85.15	74.05	64.77	67.58
	SKOR 1 (1 ve üzeri)	81.11	72.18	72.18	81.19	76.43
	SKOR 2 (2 ve üzeri)	78.89	94.06	92.17	83.40	86.93
VEYA	GAL3+HBME1	73.33	90.10	86.79	79.21	82.22
	GAL3+CK19	73.33	89.11	85.65	79.03	81.69
	GAL3+CD56	56.67	84.16	76.03	68.65	71.24
	HBME1+CK19	80.00	84.16	81.75	82.59	82.20
	HBME1+CD56	78.89	78.22	76.26	80.69	78.53
	CK19+CD56	80.00	77.23	75.70	81.32	78.53
	GAL3+HBME1+CK19	80.00	84.16	81.75	82.59	82.20
	GAL3+HBME1+CD56	81.11	78.22	76.76	82.36	79.58
	HBME1+CK19+CD56	81.11	72.28	72.18	81.19	76.43
	GAL3+HBME1+CK19+CD56	81.11	72.28	72.18	81.19	76.43
VE	GAL3+HBME1	15.56	99.01	93.30	56.94	59.79
	GAL3+CK19	20.00	100.00	100.00	58.50	62.40
	GAL3+CD56	10.22	100.00	100.00	56.23	58.74
	HBME1+CK19	60.00	96.04	93.07	73.03	79.10
	HBME1+CD56	36.67	97.03	91.63	63.34	68.66
	CK19+CD56	40.00	98.02	94.71	64.82	70.75
	GAL3+HBME1+CK19	14.44	100.00	100.00	56.86	59.79
	GAL3+HBME1+CD56	10.00	100.00	100.00	55.61	57.70

	HBME1+CK19+ CD56	30.00	98.02	93.07	61.23	66.05
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	7.78	100.00	100.00	55.01	56.66

Tablo 6.6. UMPT'nin dahil edilmediği, NIFTP'nin ise benign olarak değerlendirildiği C grubunun belirteçlere ait ayrıntılı sensitivite, spesifite, PPD, NPD, doğruluk oranları

		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk oranı (%)
BIII Prevalans: 36,5	GAL3	23.86	98.48	89.99	69.19	71.18
	HBME1	78.95	84.85	74.97	87.52	82.69
	CK19	84.64	86.36	78.54	91.95	86.54
	CD56	47.37	84.85	64.25	73.72	71.17
	SKOR 1 (1 ve üzeri)	89.47	66.67	60.67	91.68	74.99
	SKOR 2 (2 ve üzeri)	89.47	90.91	84.98	93.76	90.39
VEYA	GAL3+HBME1	78.95	84.85	74.97	87.52	82.69
	GAL3+CK19	89.47	84.85	77.24	93.34	86.54
	GAL3+CD56	57.89	83.33	66.63	77.49	74.05
	HBME1+CK19	89.47	77.27	69.35	92.74	81.73
	HBME1+CD56	89.47	74.24	66.63	92.46	79.80
	CK19+CD56	89.47	74.24	66.63	92.46	79.80
	GAL3+HBME1+ CK19	89.47	77.27	69.35	92.74	81.73
	GAL3+HBME1+ CD56	89.47	74.24	66.63	92.46	79.80
	HBME1+CK19+ CD56	89.47	66.67	60.67	91.68	74.99
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	89.47	66.67	60.67	91.68	74.99
VE	GAL3+HBME1	28.68	98.48	89.99	69.18	71.18
	GAL3+CK19	21.05	100.00	100.00	68.75	71.18
	GAL3+CD56	13.16	100.00	100.00	66.70	68.30
	HBME1+CK19	76.32	93.94	87.86	87.34	87.51
	HBME1+CD56	36.84	95.45	82.33	72.45	74.06
	CK19+CD56	44.74	96.97	89.46	75.32	77.90
	GAL3+HBME1+ CK19	21.05	100.00	100.00	68.79	71.18
	GAL3+HBME1+ CD56	13.16	100.00	100.00	66.70	68.30
	HBME1+CK19+ CD56	34.21	96.97	86.65	71.64	74.06
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	10.53	100.00	100.00	66.04	67.34
B IV	GAL3	20.00	97.62	89.74	53.97	58.03

Prevalans: %51	HBME1	62.22	92.86	90.07	70.25	77.23
	CK19	81.82	66.67	71.87	77.89	74.39
	CD56	46.67	78.57	69.39	58.60	62.30
	SKOR 1 (1 ve üzeri)	75.56	73.81	75.02	74.37	74.70
	SKOR 2 (2 ve üzeri)	71.11	88.10	86.14	74.55	79.43
VEYA	GAL3+HBME1	71.11	90.48	88.60	75.06	80.60
	GAL3+CK19	60	85.71	81.38	67.30	72.60
	GAL3+CD56	55.56	78.57	72.96	62.94	66.83
	HBME1+CK19	73.33	85.17	84.23	75.54	79.40
	HBME1+CD56	71.11	76.19	75.66	71.70	73.60
	CK19+CD56	73.33	73.81	74.45	72.67	73.57
	GAL3+HBME1+ CK19	73.33	85.17	84.23	75.54	79.40
	GAL3+HBME1+ CD56	75.56	76.19	76.76	74.97	75.87
	HBME1+CK19+ CD56	75.56	73.81	75.02	74.37	74.70
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	75.56	73.81	75.02	74.37	74.70
VE	GAL3+HBME1	11.11	100.00	100.00	51.94	54.67
	GAL3+CK19	20.00	97.62	89.74	53.97	58.03
	GAL3+CD56	11.11	97.62	82.93	51.34	53.50
	HBME1+CK19	48.89	92.86	87.69	63.58	70.43
	HBME1+CD56	37.78	95.24	89.20	59.52	65.93
	CK19+CD56	33.33	90.48	78.46	56.60	61.33
	GAL3+HBME1+ CK19	11.11	100.00	100.00	51.94	54.67
	GAL3+HBME1+ CD56	11.11	100.00	100.00	51.94	54.67
	HBME1+CK19+ CD56	2.67	95.24	85.36	55.51	60.27
	GAL3+HBME1+ CK19+CD56	6.67	100.00	100.00	50.72	52.40
BIII+BIV Prevalans: %43	GAL3	21.69	98.15	89.83	62.42	65.27
	HBME1	69.88	87.96	81.41	79.47	80.19
	CK19	72.29	86.11	79.70	80.47	80.17
	CD56	46.99	82.41	66.83	67.33	67.18
	SKOR 1 (1 ve üzeri)	81.93	69.44	66.92	83.59	74.81
	SKOR 2 (2 ve üzeri)	79.52	89.81	85.49	85.32	85.39
VEYA	GAL3+HBME1	74.70	87.04	81.30	82.01	81.73
	GAL3+CK19	74.49	85.19	78.91	80.99	80.16
	GAL3+CD56	56.63	81.48	69.76	71.35	70.79
	HBME1+CK19	80.72	80.56	75.80	84.71	80.63
	HBME1+CD56	79.52	75.00	70.58	82.92	76.94

	CK19+CD56	80.72	74.07	70.14	83.59	76.93
	GAL3+HBME1+CK19	80.72	80.56	75.80	84.71	80.63
	GAL3+HBME1+CD56	81.93	75.00	71.20	84.62	77.98
	HBME1+CK19+CD56	81.93	69.44	66.92	83.59	74.81
	GAL3+HBME1+CK19+CD56	81.93	69.44	66.92	83.59	74.81
VE	GAL3+HBME1	16.87	99.07	93.22	61.24	63.73
	GAL3+CK19	20.00	97.07	94.35	62.29	65.28
	GAL3+CD56	12.05	99.07	90.75	59.89	61.65
	HBME1+CK19	61.45	93.52	87.73	76.28	79.73
	HBME1+CD56	37.35	95.37	85.89	66.89	70.42
	CK19+CD56	38.35	94.44	83.96	67.08	70.41
	GAL3+HBME1+CK19	15.66	100.00	100.00	61.12	63.73
	GAL3+HBME1+CD56	9.64	100.00	100.00	59.46	61.14
	HBME1+CK19+CD56	30.12	96.30	85.98	64.62	67.84
	GAL3+HBME1+CK19+CD56	8.43	100.00	100.00	59.14	60.63

6.3.5. İHK belirteçlerin kombine kullanım sonuçları

Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 belirteçlerinin tek başlarına test performanslarının belirlenmesinin ardından, bu belirteçlerin ikili, üçlü ve dörtlü kombinasyonlarının test performansları da değerlendirilmiştir. Özellikle doğruluk oranları ve NPD dikkate alınmıştır.

Tüm vakalar değerlendirildiğinde, bütün gruplarda, **HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun en iyi test performansına sahip olduğu dikkati çekmektedir. Bu kombinasyon, sensitivitesi %80.72, spesifitesi %84.16, doğruluk oranı %82.61, PPD %80.65 ve NPD %84.22 ile D grubunda en yüksek değerlere sahiptir. Odds oranı B grubunda 21.25'dir. Bunu, **HBME1 ve Galektin-3 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun, yine D grubunda, sensitivitesi %74.70, spesifitesi %90.10, doğruluk oranı %83.17, PPD'si %86 ve NPD'si %81.32 olmak üzere, takip ettiği görülmektedir. Odds oranı B grubunda 25.03'dir. (Bakınız Tablo 4.2-4.6)

Kombinasyonlar içerisinde, en yüksek NPD'ye %84.71 ile C grubunda, HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyon; en yüksek PPD'ye ise %87.23 ile A grubunda, HBME1 ve Galektin-3

belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonu sahiptir.

Bethesda III kategorisinde, tüm gruplarda, **Galektin-3 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun en iyi test performansına sahip olduğu dikkati çekmektedir. Özellikle D grubunda, sensitivitesi %91.67, spesifitesi %87.50, doğruluk oranı %89.40, PPD %81.16 ve NPD %94.70 ile en yüksek NPD ve doğruluk oranına sahiptir. Odds oranı B grubunda 63'dir. **HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun performansı yüksek olup, B grubunda, sensitivitesi %90, spesifitesi %79.69, doğruluk oranı %83.61, PPD %73.09 ve NPD %92.86'dır. Odds oranı B grubunda 35.31'dir. **HBME1 ve CK19 belirteçlerinin birlikte boyanması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun, %96.88 spesifite ve %93.83 PPD ile en yüksek spesifite ve PPD'ye sahip olduğu görülmektedir. Odds oranı B grubunda 106.78'dir.

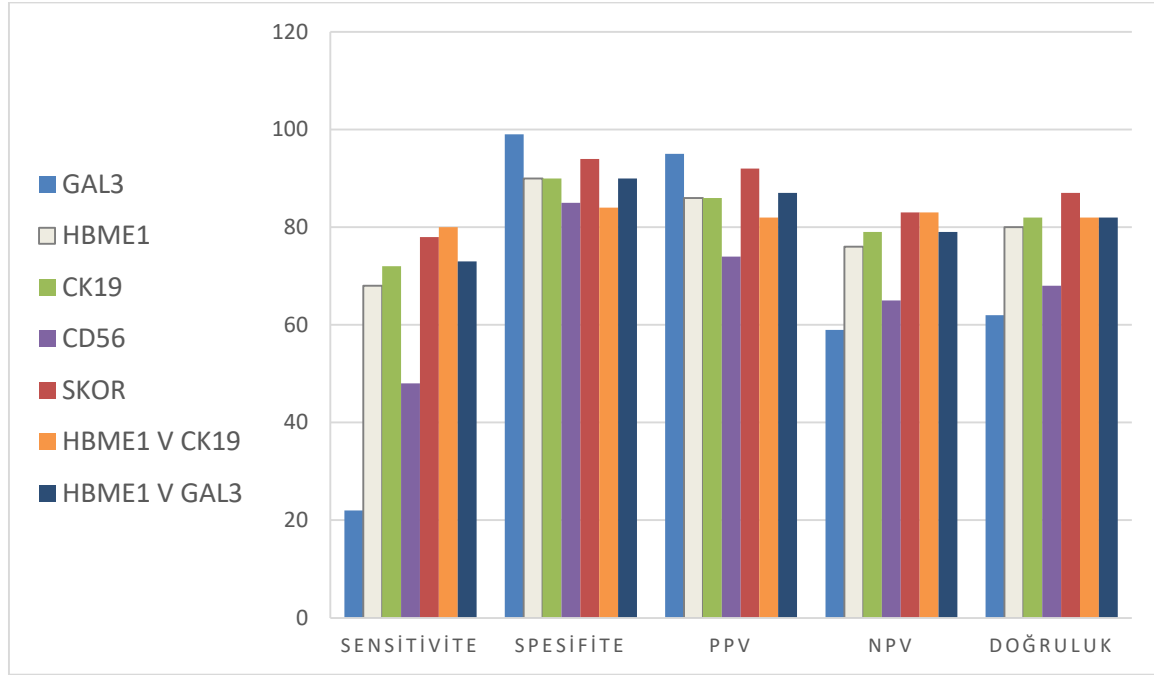
Bethesda IV kategorisi değerlendirildiğinde, iki kombinasyonun ön plana çıktığı görülmektedir. **HBME1 ve Galektin-3 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun sensitivitesi %71.11, spesifitesi %90.48, doğruluk oranı %80.60, PPD %88.60 ve NPD %75.06 ile C grubunda en iyi ve dengeli değerlere sahip olduğu görülmektedir. Bu kombinasyon, D grubu için, %81.68 ile en yüksek doğruluk oranına, A grubu için, %94.60 ile en yüksek PPD'ye sahiptir. Odds oranı B grubunda 37.19'dir. Ayrıca **HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması** durumunda pozitif kabul edilen kombinasyon, sensitivitesi %73.33, spesifitesi %85.17, doğruluk oranı %79.40, PPD %84.23 ve NPD %75.54 ile C grubunda en yüksek NPD'ye sahiptir. Odds oranı B grubunda 29.14'dir.

6.3.6. Skorlama sonuçları

Tüm vakalar değerlendirildiğinde, belirteçlerle kıyaslandığında, spesifite hariç bütün tarama testi değerlerinde, en yüksek sonuçlara skorlama ile ulaşılmıştır. Sensitivite değeri en yüksek %79.52 ile C grubunda, spesifite değeri en yüksek %94.06 ile A grubunda, doğruluk oranı ise %87.52 ile D grubunda izlenmiştir. PPD A grubunda %92.43, NPD C grubunda %85.32 ve en yüksektir. Odds oranı B grubunda 59.17'dir. (Bakınız Tablo 6.2-6.6)

Sadece Bethesda III vakaları değerlendirilmeye alındığında, belirteçlerle kıyaslandığında, spesifite hariç bütün tarama testi değerlerinde, en yüksek sonuçlara skorlama ile ulaşılmıştır. Sensitivite değeri %90 B grubunda, spesifite değeri %93.75 A,B ve D grubunda en yüksek saptanmış, B grubunda doğruluk oranı %92.33'dir. PPD %90.41 ile A grubunda, NPD %93.86 ile B grubunda en yüksektir. Odds oranı B grubunda 135'dir.

Sadece Bethesda IV vakaları değerlendirilmeye alındığında, yalnızca doğruluk oranı diğer belirteçlerden daha yüksek olarak saptanmıştır. Sensitivite değeri, %71.11 ile C ve D grubunda, spesifite değeri ise %94.72 ile A grubunda en yüksek bulunmuştur. Doğruluk oranı D grubunda %81.68'dir. En yüksek PPD'ye %94.72 ile A grubunda, NPD'ye ise % 74.55 ile C grubunda ulaşılmıştır. Odds oranı B grubunda 40.83'dir.



Şekil 6.7. UMPT'nin dahil olmadığı, NIFTP'nin malign kabul edildiği B grubunda, tüm vakalar için, belirteçlere, en iyi performans gösteren belirteç kombinasyonlarına ve skorlamaya ait test sonuçları

6.3.7. Diğer sonuçlar

Skorlama sistemine göre hatalı sınıflanan vakalar, uyumsuz vakalar olarak adlandırılmış ve ayrıca incelenmiştir. Test performansı değerlendirilirken benign/malign doğası henüz kesin olarak bilinmeyen ve ara kategoride yer alan NIFTP ve UMPT tanısı alan vakalar, asıl değerlendirmeye dahil edilmemiş, ayrıca değerlendirilmiştir.

Bethesda III kategoride 9 vaka, Bethesda IV kategoride 14 vaka olmak üzere toplam 23 vaka, yapılan **İHK skorlama sistemine göre** hatalı olarak sınıflandırılmış, yalancı pozitif (FP) ve yalancı negatif (FN) sonuçlar elde edilmiştir. Uyumsuz vakaların İHK boyanma özellikleri, skorları ve yalancı pozitiflik/negatiflik durumları Tablo 6.7'de gösterilmiştir.

Tablo 6.7. Uyumsuz vakaların boyanma özellikleri ve skorları

	Histolojik tanı	GAL-3	HBME1	CK19	CD56	Skor	Test sonucu
B III	FK min inv.	0	0	0	0	0	FN
	mikroPTK FV	0	0	0	0	0	FN
	PTK FV	0	0	0	0	0	FN
	PTK FV onkositik	0	0	0	0	0	FN
	Nodüler guatr	0	1	1	0	2	FP
	Nodüler guatr	1	1	0	0	2	FP
	Nodüler guatr	0	1	1	1	3	FP
	KLT	0	1	1	0	2	FP
B IV	FK min inv. onk.	0	0	0	0	0	FN
	FK min inv.	0	1	0	0	1	FN
	FK min inv.	0	0	0	0	0	FN
	FK min inv.	0	0	0	0	0	FN
	FK min inv.	0	0	0	0	0	FN
	FK min inv.	0	0	0	0	0	FN
	FK min inv.	0	0	0	0	0	FN
	FK yaygın inv. onk.	0	0	0	0	0	FN
	FK onkositik	0	0	0	1	1	FN
	İyi dif. Ca.	0	0	0	0	0	FN
	İyi dif. Ca.	0	0	0	0	0	FN
	İyi dif. Ca. onk.	0	0	0	0	0	FN
	mikroPTK FV onk.	0	0	0	0	0	FN
	FA	0	1	1	0	2	FP
	NG	0	1	1	1	3	FP
FN: Yalancı negatif, FP: Yalancı pozitif							

Bethesda III kategoride, histopatolojik olarak malign tanı alan 4 (%3.7) vaka, yapılan skorlamaya göre '0' puan alarak benign kategoriye yer almış, yalancı negatif (FN) sonuç vermiştir. Bu vakaların 3 tanesinin tanısı FV PTK, geriye kalan 1 tanesi ise FK'dur. Ayrıca histopatolojik olarak benign tanı alan 4 (%3.7) vaka, yaptığımız skorlamaya göre 3 tanesi '2', bir tanesi '3' puan alarak malign kategoriye yer almış, yalancı pozitif (FP) sonuç vermiştir. Bu vakaların 3 tanesinin tanısı nodüler guatr, geriye kalan bir tanesi ise kronik lenfositik tiroiditistir.

Bethesda IV kategoride, histopatolojik olarak malign tanı alan 13 (%14) vaka, yapılan skorlamaya göre 11 tanesi '0', 2 tanesi '1' puan olarak benign kategoriye yer almış, yalancı negatif (FN) sonuç vermiştir. Bu vakaların, 9 tanesinin tanısı ise FK, 3 tanesi iyi diferansiye karsinoma, 1 tanesi foliküler varyant PTK'dır. Ayrıca histopatolojik olarak benign tanı alan 2 (%2) vaka, yaptığımız skorlamaya göre biri '2', diğeri '3' puan olarak benign kategoriye yer almış, yalancı pozitif (FP) sonuç vermiştir. Bu vakaların birinin tanısı foliküler adenom, diğeri ise nodüler guatrdir.

Ara kategoride yer alan NIFTP ve UMPT vakalarının boyanma durumu ve skorları Tablo 6.8 ve 6.9'da gösterilmiştir.

Tablo 6.8. NIFTP vakalarının boyanma özellikleri ve skorları

	Histolojik tanı	GAL-3	HBME1	CK19	CD56	Skor	Benign	Malign
B III	NIFTP	0	1	1	0	2	FP	TP
	NIFTP	0	1	1	1	3	FP	TP
B IV	NIFTP	0	0	0	0	0	TN	FN
	NIFTP	0	0	0	0	0	TN	FN
	NIFTP	1	0	1	1	3	FP	TP
	NIFTP	0	0	1	1	2	FP	TP
	NIFTP	0	1	1	1	3	FP	TP

FN: Yalancı negatif, FP: Yalancı pozitif, TN: Gerçek negatif, TP: Gerçek pozitif

Tablo 6.9. UMPT vakalarının boyanma özellikleri ve skorları

	Histolojik tanı	GAL-3	HBME1	CK19	CD56	Skor	Benign	Malign
B III	UMPT	0	1	0	0	1	TN	FN
	UMPT	0	0	1	0	1	TN	FN
	UMPT	0	0	1	1	2	FP	TP
B IV	UMPT	0	0	0	0	0	TN	FN
	UMPT	0	0	0	0	0	TN	FN
	UMPT	0	0	0	0	0	TN	FN
	UMPT	0	0	0	0	0	TN	FN
	UMPT	1	1	1	1	4	FP	TP

FN: Yalancı negatif, FP: Yalancı pozitif, TN: Gerçek negatif, TP: Gerçek pozitif

Ara kategoride yer alan vakaların %69 kadarı Bethesda IV kategoride yer almaktadır. Bethesda III kategorisinde 2 tane NIFTP, 3 tane UMPT vakası izlenirken, Bethesda IV kategorisinde 5 tane NIFTP, 5 tane UMPT vakası dikkati çekmiştir. Toplam 7 NIFTP vakası incelendiğinde, Galektin-3 ile 1 vakada, HBME1 ile 3 vakada, CK19 ile 5 vakada eşik değerin üzerinde boyanma görülmüş, CD56 ile 4 vakada eşik değerin üzerinde ifade kaybı izlenmiştir. Bunların 5'sinin skoru 2 veya üstünde, ikisinin skoru '0' olarak saptanmış, ortalama skor 1,85 bulunmuştur. Toplam 8 UMPT vakası incelendiğinde, Galektin-3 ile 1 vakada, HBME1 ile 2 vakada, CK19 ile 3 vakada eşik değerin üzerinde boyanma görülmüş, CD56 ile 2 vakada eşik değerin üzerinde ifade kaybı izlenmiştir. Bunların 6'sının skoru 2'nin altında iken, birinin skoru '2' ve birinin skoru '4' olarak saptanmış, ortalama skor 1 bulunmuştur.

UMPF ve NIFPT vakalarının farklı senaryolara göre skorlamadan elde edilen tarama testi verileri Tablo 6.10'da özetlenmiştir. Bütün gruplarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. En iyi spesifite ve PPD'ye malignite prevalansı en yüksek olan A grubunda, sensitivite ve NPD'ye ise malignite oranı en düşük F grubunda rastlanmıştır, doğruluk oranı en yüksek D grubunda izlenmiştir.

Tablo 6.10. NIFTP ve UMPT için farklı senaryolara göre skorlama sisteminin tarama testi sonuçları

	Prevalans (%)	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğruluk (%)
NIFTP ve UMPT malign Grup A	48.7	75.51	94.06	92.43	79.99	84.97
NIFTP malign, UMPT yok Grup B	47	78.89	94.06	92.17	83.40	86.93
NIFTP benign, UMPT yok Grup C	43	79.52	89.81	85.49	85.32	85.39
NIFTP ve UMPT yok Grup D	45	79.52	94.06	91.63	84.88	87.52
NIFTP malign, UMPT benign Grup E	45	79.7	88.00	84.72	84.11	84.15
NIFTP ve UMPT benign Grup F	41	80.49	88.89	83.43	86.76	85.44

7. TARTIŞMA

Son zamanlarda görüntüleme yöntemlerinin gelişmesiyle tiroid nodüllerinin toplumda rastlanma sıklığının giderek artmakta ve popülasyonun %60-70'inde tiroid nodülleri izlenmektedir. Saptanan bu nodüllerin büyük kısmını benign nodüller oluşturmakla birlikte, yaklaşık %5-10 kadarı maligndir.[1] Tiroid nodüllerinin tanısında klinik, radyolojik ve laboratuvar sonuçları yol gösterici olup, İİAB tiroid nodüllerin preoperatif değerlendirilmesinde altın standart tanı testidir. Bu testin amacı hastalara doğru tanı koyarak, cerrahi girişim gerektirecek nodülleri saptamak ve konservatif yaklaşımla takip edilecek benign lezyonların gereksiz opere olmasına engel olmaktadır.[4, 5]

İİAB sonucunda tiroid lezyonlarının %20-30 kadarına kesin tanı verilememekte, bu olgular indetermine lezyonlar/nodüller olarak değerlendirilmekte ve Bethesda sınıflamasına göre AUS/FLUS ve FN/FNK kategorisinde yer almaktadır. [5] Benign olgular genellikle klinik olarak takip edilirken, malign olgular cerrahi tedavi ve gerekli durumlarda ek tedaviler görmektedir.[4] Ancak bu kategoride yer alan hastalara klinik yaklaşım farklılık gösterebilmektedir. Bu hastalarda %15-40 oranında malignite riski bulunmakla birlikte, opere olan olguların %70'i benigndir ve vakaların çoğuna gereksiz cerrahi işlem uygulanmaktadır. [4, 5] İndetermine kategori, sıklıkla tanı zorluğu bulunan, kriterleri tam karşılamayan ya da benign mi malign mi olduğu hala tartışmalı lezyonlar ile asıl tanısı eksizyon materyalinin tamamının incelenmesiyle konulması mümkün antiteleri içermektedir. Bu durumlar hem tanıyı hem de tedavi yaklaşımını belirlemede daha da kafa karıştırıcı olmaktadır.

İndetermine vakalarda, histopatoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan Galektin-3, HBME1, CK19, CD56 gibi İHK belirteçler, tiroid lezyonlarının sitolojik incelemesinde benign-malign ayrımında kullanılabilir. Hücre bloğu elde edilebilen aspirasyon biyopsileri, immünsitokimyasal çalışma için önemli bir tanı potansiyeli oluşturmaktadır.[14] Ancak bu belirteçlerden hiçbirisi tek başına tanı için yeterli değildir, panel halinde kullanılması gerekmektedir.[2, 18-20] Son zamanlarda sıvı bazlı sitolojik materyelerde veya hücre bloklarında çoklu antikor panellerinin tanısal değerini ölçen çok az sayıda çalışma literatürde bildirilmektedir. Bu çalışmaların hemen hemen tamamında antikorların tüm Bethesda kategorilerine ait olgularda tanısal değeri araştırılmış, indetermine gruplarla ilgili çok az sayıdaki çalışmada değerlendirme yapılmıştır. [13, 15-17, 129, 130]

İndetermine lezyonların ayrımında bir diğer yaklaşım moleküler yöntemlerdir ve validasyon çalışmalarında, bu testlerin oldukça yüksek sensitivite ve spesifite değerlerine sahip olduğu gösterilmiştir.[21-23, 25, 27] Ancak yapılan post-validasyon çalışmalarının bir kısmında, validasyon çalışmalarındaki sonuçlara ulaşılamamıştır.[28-33] Bu durum moleküler

testlerin hala araştırma ve gelişim aşamasında olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca moleküler testlerin çeşitli kısıtlamaları ve dezavantajları da bulunmaktadır. Bunların aşılmasında immünsitokimyasal yöntemler, özellikle daha yaygın kullanım imkanı ve benzer test performansını daha düşük maliyetle sağlayarak moleküler çalışmalara alternatif olabilir.

Çalışmamızda indetermine kategorideki Bethesda III ve IV tanısı alan geniş bir olgu serisinde, Galektin-3, HBME-1, CK19 ve CD56 antikorlarından oluşan bir kombine immünsitokimya panelinin hücre bloğu materyellerinde tanısal değeri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma alanında ilktir ve hücre bloğu immünsitokimyasının pahalı moleküler yöntemlere alternatif olup olamayacağı sistematik bir biçimde tartışılmıştır.

7.1.Klinikopatolojik Özellikler

Cerrahi sonrası Bethesda III kategorisinde yer alan vakalar; %59,8 oranında benign kategoride, %35,5 oranında malign kategoride, %4,7 oranında benign-malign ayrımı yapılamayan ara kategoride (UMPT ve NIFTP) yer almıştır. Bu kategoride UMPT vakalarının dahil edilmediği, NIFTP vakalarının malign kabul edildiği durumda, malignite oranı %38.4, benign kabul edildiği durumda malignite oranı %36.5'tir. TSBRS göre malignite oranı Bethesda III grubunda beklenen %10-30 oranından daha yüksek saptanmıştır.[5] Merkezimizde bu kategorideki olguların %27'si opere olmuştur ve malignite oranlarımızın yüksek saptanmasının nedeni, özellikle klinik ve radyolojik olarak malignite şüphesi bulunan vakaların daha sık opere olması olabilir.

Cerrahi sonrası Bethesda IV kategorisinde yer alan vakalar; %40 oranında benign, %49 oranında malign, %11 oranında benign-malign ayrımı yapılamayan ara kategoride (UMPT ve NIFTP) yer almıştır. Bu kategoride UMPT vakalarının dahil edilmediği, NIFTP vakalarının malign kabul edildiği durumda malignite oranı %57.4, benign kabul edildiği durumda malignite oranı %51.7'dir. TSBRS göre, Bethesda IV kategorisinde, malignite oranı beklenen %25-40 oranından daha yüksek saptanmıştır.[5] Merkezimizde bu kategorideki olguların %49'una cerrahi müdahale yapılmıştır. Malignite oranlarımızın daha yüksek olmasının sebebinin, Bethesda III kategorisiyle benzer şekilde, merkezimizde özellikle klinik ve radyolojik olarak yüksek riskli olguların daha sık opere olması düşünülmektedir.

7.2.İmmünhistokimyasal Özellikler, Test Sonuçları ve Test Performansı

Bütün gruplar arasında benzer sonuçlar elde edilmiş olmakla birlikte, buradan itibaren veriler, NIFTP vakalarının malign olarak sınıflandığı, UMPT vakalarının dahil edilmediği gerçek hayata en uygun görülen B grubunun sonuçlarına göre tartışılmıştır.

7.2.1. Galektin-3

Çalışmamızda Galektin-3 ile malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyanmıştır ($p=0.001$) ve bu durum literatürle uyumludur. [20, 93-95] Çalışmamızda yer alan dört belirteç içinde, malign vakalarda boyanma yüzdesi ve yalancı pozitiflik oranı en düşük belirteçtir.

Tüm vakalar için bakıldığında, çalışmamızda Galektin-3'ün sensitivitesi %21.11, spesifitesi %99,02 bulunmuştur. Literatürde histopatoloji materyalleri üzerinde bu belirteçlerin etkinliğini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalar Tablo 7.1'de özetlenmiştir. Literatürle karşılaştırdığımızda çalışmamızda, Galektin-3'ün sensitivite değerleri tek bir çalışma hariç [131], literatürde izlenenden (%46-95) çok daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni farklı çalışmalarda farklı antikör klonlarının kullanılmış olması veya çalışmaların bir kısmında çok az miktarda boyanmanın bile pozitif kabul edilmesi ($>0\%$) olabilir. Ancak bizim çalışmamızda olduğu gibi, en az %10 boyanmayı kabul eden çalışmalar daha sık karşımıza çıkmaktadır. [20, 48, 72, 112, 132-135] Spesifite değerleri literatür (%65-100) ile uyumludur ve oldukça yüksektir. (Bakınız Tablo 7.1) Çalışmamıza göre Galektin-3'ün doğruluk oranları %62.40'tır. Malignite prevalansı %47 olup, bu prevalans için, PPD %94.98, NPD %58.60 saptanmıştır. Odds oranı 26.76'dır ve belirteçler arasında en yüksek spesifite, PPD ve odds oranına sahip belirteçtir.

Odds oranı, bir olayın meydana gelme olasılığının, meydana gelmeme olasılığına oranıdır. Yani Y değişkeninin X değişkeninin etkisi ile kaç kat daha fazla ya da % kaç oranında fazla gözlenme olasılığına sahip olduğunu belirtir. [83] Çalışmamız için, odds oranı hesabında belirteçlerin pozitif durumu ile negatif durumu arasındaki malignite olasılıkları karşılaştırılmıştır. Odds oranı ne kadar yüksek ise malignite olasılığı o kadar fazladır. Buna göre Galektin-3'ün pozitifliği, negatifliğine göre 26.76 kat daha fazla malignite olasılığı taşımaktadır. Odds oranı en yüksek belirteç Galektin-3'tür.

Çalışmamızdaki Bethesda III ve IV vakaları kıyaslandığında, Bethesda IV grubunda, Bethesda III'e göre, Galektin-3'un doğruluk oranı, odds oranı ve NPD'sinde azalma dikkati çekerken, PPD'sinde artış görülmüştür.

Çalışmamıza göre Galektin-3, yüksek spesifite (%99) ve PPD'ye (%95) sahiptir ve bu durum literatürle uyumludur. Özellikle Bethesda III kategorisinde daha iyi performans göstermiştir. Yüksek odds oranı ve PPD'si ile maligniteyi öngörmede başarılıdır. Ancak sensitivitesi (%21) düşük oluşu için, malign vakaların büyük bir kısmını, bu belirteçle yakalamak mümkün olamamıştır. Galektin-3 yüksek PPD ve spesifite değerlerine ulaşsa da düşük sensitivite, NPD ve doğruluk oranları nedeniyle ideal bir belirteç özelliğinde değildir.

Galektin-3'ün sensitivite değerlerinin yüksek olduğu belirten çalışmalar bulunmakla birlikte, bizim saptadığımız kadar olmasa da, yaklaşık %45 civarında düşük saptandığı çalışmalar da mevcuttur. (Bakınız Tablo 7.1) Literatürde, hücre bloğu veya tru-cut biyopsi materyallerinde çalışmamızdaki belirteçlerin etkinliğini araştıran çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bunlar Tablo 7.2'de özetlenmiştir. Bu çalışmalar daha yakından incelendiğinde, Abram ve ark. yaptığı çalışmada Galektin-3'ün sensitivite değeri %18 ve spesifite değeri %89 saptanmış, çalışmamızla oldukça benzer değerler elde edilmiştir.[129] Margari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sensitivite değeri %81 gibi daha yüksek saptanırken [13], diğer çalışmalarda %50 civarında düşük bulunmuştur.[136, 137] Galektin-3 PPD'si yüksek olması nedeniyle 'Rule-in' test olarak kullanılabilir. Ancak faydası oldukça sınırlıdır. Literatürde de belirtildiği gibi bu belirtecin maligniteyi öngörmede ya da dışlamada tek başına kullanımı kesinlikle önerilmemektedir. Ancak kombine kullanımı veya bir panel içinde kullanımının daha yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Tablo 7.1. Literatürde histopatoloji materyallerinde inceleme yapan çalışmalardaki Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 belirteçlerinin sensitivite ve spesifite değerleri

	Vaka sayısı (n)		GAL-3		HBME1		CK19		CD56	
	Benign	Malign	Sens.	Spes.	Sens.	Spes.	Sens.	Spes.	Sens.	Spes.
Prasad ML (2005) [48]	123	92	%92	%85	%72	%98	%66	%89	-	-
Scognamiglio (2006) [133]	49	78	%94	%82	%87	%96	%96	%86	-	-
Nakamura N (2006) [72]	32	130	%88	%75	%77	%91	%81	%56	-	-
Park YJ (2007) [132]	89	206	%95	%96	%91	%69	%90	%83	-	-
Wiseman SM (2008) [138]	100	105	%87	%77	%54	%95	%95	%54	-	-
Liu YY (2008) [139]	100	77	%71	%94	%66	%98	%56	%98	-	-
ElDemellawy D (2009)[140]	100	75	-	-	-	-	-	-	%100	%100
Park WY (2009) [106]	36	112	-	-	-	-	-	-	%63	%92
Barut F (2010) [134]	393	65	%94	%96	%97	%95	%92	%78	-	-
Zhu X (2010) [141]	58	180	%86	%66	%92	%54	%79	%74	-	-
Shahebrahimi K (2013) [142]	39	39	-	-	-	-	-	-	%95	%92
Nechifor-Boila A (2013) [143]	-	204	-	-	-	-	-	-	%85	%83
Nechifor-Boila A (2014) [135]	11	11	%46	%100	%64	%73	%45	%100	%82	%64
Dunderovic (2015) [20]	79	122	%89	%65	%71	%85	%75	%71	%58	%92
Jang MH (2015) [131]	113	79	%8	%96	%66	%66	%13	%94	-	-
Taştekin E (2019) [112]	40	60	%47	%100	%42	%95	%83	%70	%65	%93
Çalışmamız¹ (2021)	101	90	%21.1	%99	%67.8	%90	%72.2	%90	%47.7	%85.1

¹ NIFTP vakalarının malign kabul edildiği, UMPT vakalarının dahil edilmediği, gerçek hayata en uygun görülen senaryonun verileri kullanılmıştır. Sens: Sensitivite, Spes: Spesifite

Tablo. 7.2. Hücre bloğu veya tru-cut biyopsi materyali ile inceleme yapan çalışmalardaki Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 belirteçlerinin tarama testi sonuçları

	Bethesda	Vaka sayısı (n)		Belirteç	Sens. (%)	Spes. (%)	PPD (%)	NPD (%)	Doğ. (%)
		Benign	Malign						
Trimboli P (2016) [136] Tru-cut	III ve IV	15	4	GAL-3	50	93.3	66.7	88.2	-
				HBME1	100	93.3	75	93.3	-
				CK19	100	66.7	44.4	100	-
				CD56	-	-	-	-	-
				GAL-3 + HBME1	100	89.1	76	100	-
Margari N (2018) [13]	II-VI	673	283	GAL-3	81.2	71.1	54.2	90.0	74.1
				HBME1	86.5	93.7	85.3	94.3	91.6
				CK19	91.8	94.9	88.4	96.5	94.0
				CD56	-	-	-	-	-
Abu-Sinna E (2018) [130]	III,IV,VI	15	25	GAL-3	80	80	65.2	70.6	80
				HBME1	84	73.3	84	73.3	80
				GAL-3 + HBME1	92	73.3	85.2	84.6	85
Song S (2019) [137] Tru-cut	II-VI	22	32	GAL-3	51.4	96.4	95.0	60	-
				HBME1	87.5	68.2	80	78.9	-
				CK19	51.5	100	100	57.9	-
				CD56	60	72	63.2	69.2	-
Abram M (2021) [129]	III	46	17	GAL-3	18	89	38	75	70
				HBME1	29	89	50	77	72
				CK19	61	67	42	81	65
				GAL-3 + HBME1	18	89	38	75	-
Çalışmamız¹ (2021)	III ve IV	101	90	GAL-3	21.1	99	95	58.6	62.4
				HBME1	67.8	90.1	85.9	75.9	79.6
				CK19	72.2	90.1	86.6	78.5	81.7
				CD56	47.8	85.2	74.1	64.8	67.6
				SKOR	78.9	94.1	92.2	83.4	86.9

¹ NIFTP vakalarının malign kabul edildiği, UMPT vakalarının dahil edilmediği, gerçek hayata en uygun görülen senaryonun verileri kullanılmıştır.
Sens: Sensitivite, Spes: Spesifite, PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer, Doğ: Doğruluk

7.2.2. HBME1

Çalışmamızda HBME1 ile malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyanmıştır ($p=0.001$) ve bu durum literatürle uyumludur. [20, 40, 50, 96]

Tüm vakalar göz önüne alındığında, HBME1'in sensitivite ve spesifite değerleri sırasıyla %67.78 ile %90.10'dir. Çalışmamızda gözlenen sensitivite ve spesifite oranları, literatürde yer alan en yüksek ve en düşük değerler arasında, ortalama olarak değerlendirilebilecek özelliktedir. (Bakınız Tablo 7.1) Ancak literatürde en yüksek ve en düşük değerler oldukça geniş bir aralığa sahiptir. (sensitivite: %42-97, spesifite: %54-98) Bunun nedeni çalışmalarda kullanılan antikör klonlarının farklı olması veya boyanma için düşük eşik değerlerinin belirlenmesi olabilir. Literatürde halen kesin bir eşik değeri bulunmamaktadır. Hücre bloğu materyallerinde geniş bir vaka serisinde İHK belirteçlerin performansını araştıran Margari ve ark. [13] ile bizim bulduğumuz veriler birbiriyle uyumludur. Çalışmamızda doğruluk oranı %79.61, malignite prevalansı %47 olup, bu prevalans için PPD %85.86 ve NPD ise %75.92 saptanmıştır. Odds oranı 19.14'dir ve Galektin-3'te gördüğümüz kadar yüksek değildir.

Çalışmamıza göre HBME1 antikoru genel olarak, en yüksek doğruluk oranlarına Bethesda III kategorisinde ulaşmıştır. Bethesda IV kategorisinde spesifite ve PPD'si yükselirken, sensitivite ve NPD'sinde düşme dikkati çekmiştir. Bütün vakalar değerlendirildiğinde ise Bethesda III ile Bethesda IV kategorisi arasında rakamlar gözlenmektedir. Doğruluk oranı yaklaşık %80 olan HBME1, yüksek PPD (%86) yanı sıra düşük sayılmayan NPD'ye (%76) sahiptir. Literatürde genellikle bu belirtecin spesifite değerleri, sensitivite değerlerinden yüksek olarak izlenmiştir. (Bakınız Tablo 7.1) NPD'sinin yeterince yüksek olmaması nedeniyle, 'Rule-out' test olarak kullanılması mümkün olmamakla birlikte, iyi bir 'Rule-in' test olarak kullanılabilir. Tüm bunlar göz önüne alındığında, HBME1 tek başına kullanım için ideal bir antikör özelliği taşımamaktadır. Literatürde de bahsedildiği gibi diğer belirteçlerle kombine veya bir panel içerisinde kullanılması önerilmektedir.

7.2.3. CK19

Çalışmamızda CK19 ile malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyanmıştır ($p=0.001$) ve bu durum literatürle uyumludur. [20, 96, 100-102, 129] Malign vakalar içinde boyanma yüzdesi en yüksek belirteçtir.

Çalışmamızda tüm vakalarda sensitivite değeri %72.22, spesifite değeri %92.10'dur. Literatürde yüksek sensitivite (%96) ve spesifite (%98) değerleri bildirilmiş olmaklar birlikte, düşük değerler de bulunmaktadır (sırasıyla %13 ve %54) ve elde edilen veriler literatürle kısmen uyumludur. (Bakınız Tablo 7.1) Genel olarak baktığımızda, çalışmamızda CK19'un

sensitivite ve spesifite değerlerinin her ikisi de, literatüre göre ortalama rakamlarda olduğu, spesifite değerinin sensitivite değerinden daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Çalışmamıza göre bu belirtecin doğruluk oranı %81.70, malignite prevalansı %47 için PPD'si %86.61, NPD'si %78.53'dir. Odds oranı 23.66'dır ve yüksek olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda genel olarak tek başına CK19 belirteci ile en yüksek test performansına Bethesda III kategorisinde rastlanmış ve bütün değerler arasında en dengeli dağılım bu belirteçte dikkati çekmiştir. Bu belirtecin, Bethesda III kategoride, hem PPD (%83) ve hem de NPD'sinin (%92) yüksek olması oldukça önemlidir. CK19, NPD ile neredeyse altın standara ulaşan (%95) rakamların izlenmesiyle, iyi bir 'Rule-out' test özelliğinde olup, yüksek PPD göstermesiyle 'Rule-in' test özelliği de taşımaktadır. Ancak bütün vakalar dahil edildiğinde (PPD %86, NPD %79) aynı performansı sergileyememektedir. Bu belirteç için, çalışmamız ile, biyopsi materyallerinde yapılan diğer çalışmalar kıyaslandığında, uyumlu sonuçlar elde edilememiştir. Abram ve ark.[129] yaptığı çalışmada CK19'un hem sensitivite hem de spesifite değerleri çalışmamızdan daha düşük, Margari ve ark.[13] yaptığı çalışmada ise iki değer de daha yüksek saptanmıştır. Sadece Bethesda III kategorisinde, Margari ve ark.'nın çalışmasına kısmen benzer yüksek sonuçlar saptanabilmektedir.[13]. Margari ve ark.'nın yaptığı çalışmada, yüksek sensitivite ve spesifite değerleri elde edilmesinin nedeni, çalışmaya Bethesda II-VI vakalarını dahil edilmesi ve çalışmamızdaki uyumsuz vakaların büyük çoğunluğunu oluşturan foliküler karsinomaların bu çalışmada yer almaması olabilir.

Çalışmamız göre, diğer belirteçlerle kıyaslandığında, bütün kategorilerde, en yüksek değerler CK19 antikorunda saptanmıştır. Bu antikor, özellikle Bethesda III kategorisinde, tek başına tanı performansı ile en başarılı antikordur.

7.2.4. CD56

Çalışmamızda CD56 ile malign vakalarda, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık ifade kaybı dikkati çekmiştir. ($p=0.001$) Bu durum literatürle uyumludur. [20, 105, 106]

Çalışmamızda tüm vakalarda, CD56'nın sensitivite değeri %47.78, spesifite değeri %85.15 saptanmıştır. Literatürde, CD56 ile ilgili, diğer belirteçlere kıyasla daha sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda gözlemlenen sensitivite değeri literatürde izlenenlerden daha düşük saptanmıştır. (%58-100) Bunun nedeni literatürde kullanılan daha yüksek eşik değeri kullanmamız olabilir. Spesifite değerleri ise genel olarak literatür ile uyumludur. (%64-100) (Bakınız Tablo 7.1) Biyopsi materyallerinde CD56'yi değerlendiren Song ve ark.'nın [137] çalışmasında sensitivite %60, spesifite %72 saptanmış, bu sonuçlar çalışmamız ile uyumludur. Çalışmamızda, CD56 belirtecinin doğruluk oranı %67.58'dir. Malignite prevalansı

%47 olup, bu prevalans için PPD %74.05, NPD %64.77'dir. Odds oranı 5.25'tir ve diğer belirteçlere kıyasla en düşük OR'dir.

Çalışmamıza göre CD56 antikoruna ile Bethesda III kategorisinde en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Özellikle Bethesda IV kategorisinde sensitivite, NPD ve doğruluk oranlarında ciddi düşüşler saptanmıştır. Odds oranı en düşük olan belirteçtir. Diğer belirteçlerle kıyaslandığında test performansı CK19 ve HBME kadar yüksek bulunmamıştır. Sadece yüksek spesifite değerleri gösteren testin, genel olarak test performansı düşüktür. Tek başına sınırlı olarak 'Rule-in' test olarak kullanılabilir ancak faydası tartışmalıdır.

7.2.5. İHK Belirteçlerin Kombine Kullanım Sonuçları

Çalışmamızda Galektin-3, HBME1, CK19 ve CD56 belirteçlerinin tek başlarına test performanslarının belirlenmesinin ardından, bu belirteçlerin ikili, üçlü ve dörtlü kombinasyonlarının test performansları da değerlendirilmiştir. Özellikle doğruluk oranları ve NPD dikkate alınmıştır. Vakalar Bethesda III, Bethesda IV veya Bethesda III ve IV bir arada olarak kategorize edildiğinde, farklı kombinasyonlar ön plana çıkmaktadır.

Bütün vakalar için, kombinasyonlar kendi aralarında kıyaslandığında, **HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma** olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun, en iyi test performansına sahip olduğu dikkati çekmektedir. Bu kombinasyonun, sensitivitesi %80, spesifitesi %84.16, doğruluk oranı %82.20, PPD'si %81.75 ve NPD'si %82.59'tir. Bunlar skorlama ile elde edilen değerlere çok yakın olmakla beraber, skorlamada elde edilen değerlere ulaşamamıştır. Bunu, sensitivitesi %73.33, spesifitesi %90.10, doğruluk oranı %82.22, PPD'si %86.79, NPD'si %79.21 ve odds oranı 25.03 olmak üzere **HBME1 ve Galektin-3 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma** olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun takip ettiğini görülmektedir.

Literatürde özellikle histopatoloji materyallerde, birçok farklı kombinasyonun daha iyi sonuç verdiğini öne süren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Trimbolini ve ark. [136] tru-cut biyopsilerde yaptığı çalışmada en iyi belirteç kombinasyonunun **HBME1 ve Galektin-3'ün birlikte pozitif izlenen kombinasyonun** (Sensitivite: %100, spesifite: %89, PPD: %76, NPD: %100) olduğu öne sürülmektedir. Ayrıca Abu-Sinna ve ark. [130] hücre bloğu materyallerinde yaptığı çalışmada da aynı kombinasyonun (Sensitivite: %92, spesifite: %73, PPD: %85, NPD: %85) tanıda faydalı olduğu belirtilmiştir. Abram ve ark.[129] hücre bloğu materyallerinde yaptığı çalışmada ise %18 sensitivite ve % 89 spesifite değerleri ile bu kombinasyonun çok da başarılı olmadığı belirtilmiştir. Abram ve ark. çalışmasına benzer şekilde, çalışmamızda bu kombinasyonun sensitivitesi %16, spesifitesi %99, PPD %93, NPD %57 saptanmıştır. Bu

kombinasyon için, sensitivite ve NPD oldukça düşük, spesifite ve PPD ise yüksek bulunmuş ve çalışmamızda öne çıkan kombinasyonlardan biri olamamıştır.

Temel olarak ‘Rule-out’ test özelliğini belirleyen NPD’si göz önüne alındığında, Bethesda III kategorisi için hem yüksek NPD hem de yüksek doğruluk oranları ile **Galektin-3 ve CK19’dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyon** dikkat çekicidir. Bu kombinasyonun sensitivitesi %90, spesifitesi %87.50, doğruluk oranı %88.45, PPD’si %81.53 ve odds oranı 63’tür. Ayrıca %93.45 ile tüm kategorilerde elde edilen en yüksek NPD görülmektedir. Bunun NPD için altın standart olan %95’e neredeyse ulaştığı görülmektedir. Ayrıca bu kombinasyonda PPD’si %80 civarında olup, tatmin edicidir.

Bu kategoride ayrıca en yüksek spesifite ve PPD’ye **HBME1 ve CK19’un birlikte pozitif olduğu kombinasyonda** ulaşılmıştır. Bu kombinasyonun spesifitesi %96.88 ve PPD’si %93.83’dır. Odds oranı 106.78 olup oldukça yüksektir. Ayrıca tüm vakaların değerlendirildiği kategoride öne çıkan **HBME1 ve CK19’dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyonunun** performansı yüksek olup benzerdir. Bethesda III kategorisinde skarlama ile elde edilen NPD %93.86, PPD ise %89.82’dır. Bu sonuçlar kombinasyonla elde edilenlere oldukça yakındır ancak bunları aşamamıştır. Ancak en yüksek doğruluk oranına skarlama ile ulaşılmaktadır.

Bethesda III için, dört belirtecin kullanıldığı skarlama sistemi yerine benzer sonuçlar veren, sadece iki belirtecin kullanıldığı kombinasyon, boyanması ve değerlendirilmesi açısından daha kolay ve kullanışlıdır. Ancak skarlama sisteminin, test performansı açısından daha dengeli dağılım gösterdiği, hem PPD, hem NPD, hem de doğruluk oranlarının eş zamanlı yüksek olduğu göz ardı edilemez. Yüksek spesifite ve PPD’ye ulaşan belirteç kombinasyonu (HBME1 ve CK19) ile yüksek sensitivite ve NPD’ye ulaşan belirteç kombinasyonu (Galektin-3 veya CK19) aynı değildir. Özellikle sınırlı imkana sahip olunan durumlarda, kombinasyonlar hedefe yönelik olarak kullanılırsa, skarlama bir alternatif olabilir.

Bethesda IV kategorisi için, çalışmamızda iki kombinasyonun ön plana çıktığı görülmektedir. ‘Rule-in’ test olma özelliğini belirleyen PPD göz önüne alındığında, **HBME1 ve Galektin-3’un herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyon** dikkati çekmekte ve PPD’si %94.34’a kadar yükselmektedir. Odds oranı 37.19’dur. En yüksek sensitivite ve NPD’ye ise **HBME1 ve CK19’dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyonda** ulaşılmaktadır. Bu kombinasyonun sensitivitesi %72, spesifitesi %91.89, doğruluk oranı %80.55, PPD’si %92.17 ve NPD’si %71.23’dır. Odds oranı 29.14’tür. Bu veriler skarlama ile elde edilen verilere oldukça yakındır. Bethesda IV’te özellikle sensitivite ve NPD açısından kombinasyondan elde edilen değerler; spesifite, PPD ve doğruluk oranı açısından ise skarlama ile elde edilen veriler daha yüksektir. Ancak NPD en yüksek %71.23 değerinde kalmakta ve hiçbirinde altın standartta

yakın yani tatmin edici rakamlara ulaşamamaktadır. Bu nedenle Bethesda IV grubunda ne kombinasyonların ne de skorlama sisteminin ‘Rule-out’ test olarak kullanılması söz konusu değildir. PPD açısından değerlendirildiğinde, hem skorlama hem de kombinasyonlar ‘Rule-in’ test olarak kullanılabilir. Ancak bunların, doğruluk oranlarının daha yüksek olması dışında, belirteçlerin tek başına kullanımına avantajı bulunmamaktadır.

7.2.6. Skorlama sonuçları

Galektin-3, HBME1 ve CK19 antikorları için eşik değerin üzerinde boyanma durumunda, CD56 antikoruna için eşik değerin üzerinde ifade kaybı saptanması halinde, bu belirteçler için ‘1’ puan verildiği ve bu puanların toplanmasıyla nihai skorun elde edildiği bir skorlama sistemi oluşturulmuştur. Yapılan istatistiksel ROC analizi sonucunda en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip eşik değeri ‘2 ve üzeri’ olarak saptanmıştır. Vakalar skorlarına göre ‘0-1’ puan alanlar ‘benign’, ‘2-4’ puan alanlar ‘malign’ olacak şekilde sınıflanmış ve histopatolojik tanıları ile kıyaslanarak test performansları ölçülmüştür.

Çalışmamıza göre skorlama ile malign vakalarda, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek skor saptanmıştır. ($p=0.001$) Tek tek belirteçlerle karşılaştırıldığında, skorlama malign vakalarda en yüksek boyanma yüzdesine sahiptir.

Literatürde benzer bir skorlama sistemi bulunmamaktadır. Skorlama verileri belirteçlerin literatürde yer alan sensitivite ve spesifite değerleri ile karşılaştırılmıştır. Çalışmamızdaki skorlama sisteminin sensitivite değeri %78.89, spesifite değeri %94.06’tir. Bu değerler literatürdeki değer aralıkları içerisinde yer almaktadır. (Bakınız Tablo 7.1) Skorlamanın sensitivite değeri ortalama bir değerde olup, spesifite değeri literatürde yer alan en yüksek değerlere oldukça yakın bulunmuştur.

Çalışmamızdaki tüm vakalar göz önüne alındığında, belirteçlerin tek tek performansları ile kıyaslandığında, spesifite dışındaki bütün tarama testi değerlerinde, en yüksek sonuçlara skorlama ile ulaşılmıştır. Benzer şekilde, belirteç kombinasyonları ile kıyaslandığında ise, sensitivite hariç bütün tarama testi değerlerinde, skorlama ile en yüksek sonuçlar elde edilmiştir.

Doğruluk oranının yüksekliği yanı sıra hem NPD hem de PPD’sinin eş zamanlı olarak yüksek bulunması, skorlamanın en büyük avantajlarıdır. Doğruluk oranı %86.93’tür. Malignite oranı %47 olup, bu prevalans için PPD %92.17, NPD %83.40’tır. Odds oranı 59.17’dir ve belirteçlerin tek başına sahip olduğu OR’dan yüksektir.

Sadece Bethesda III vakaları için bakıldığında, belirteçlerle tek tek kıyaslandığında, spesifite hariç bütün tarama testi değerlerinde, en yüksek sonuçlara skorlama ile ulaşılmıştır. Ancak özellikle belirteç kombinasyonlarından **Galektin-3 ve CK19’un birinin pozitif olduğu** kombinasyonun sensitivitesi (%90) ve NPD’si (%93.5) ile, **HBME1 ve CK19’un birlikte**

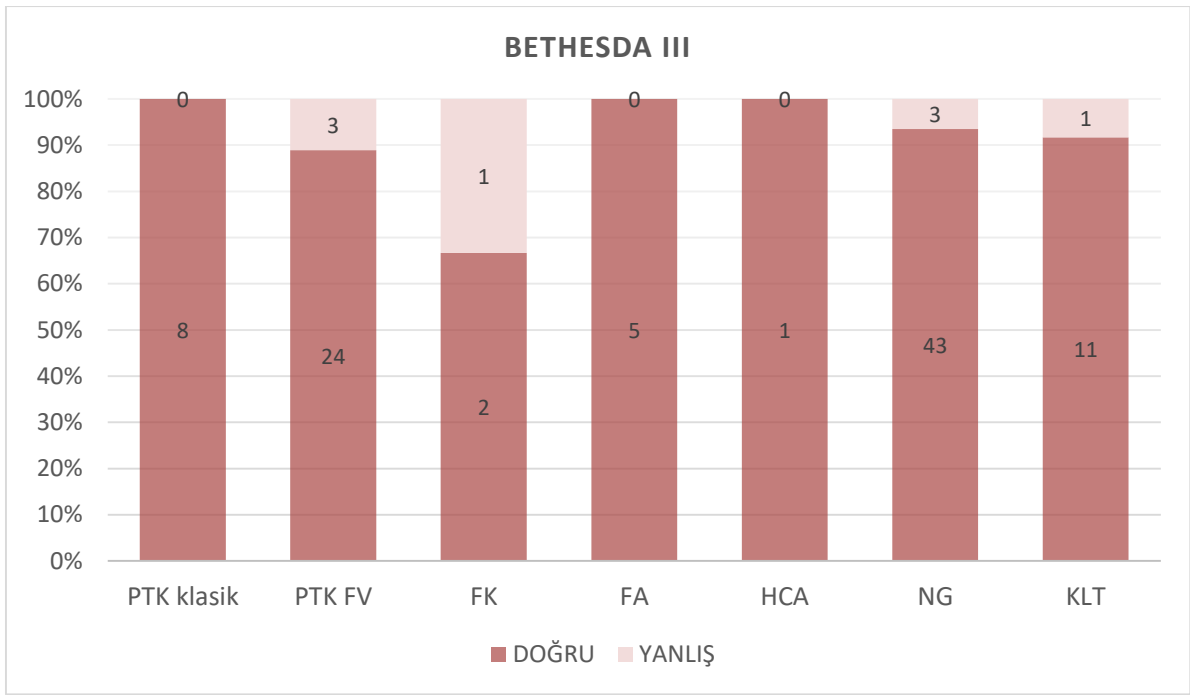
pozitif olduğu kombinasyonun spesifitesi (%96.9) ve PPD'si (%93.8), skorlamada elde edilen değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Ancak hala en yüksek doğruluk oranına ve en dengeli dağılıma skorlama ile ulaşılmaktadır.

Sadece Bethesda IV vakaları göz önüne alındığında, skorlama ile belirteçlerin tek tek kullanımına kıyasla, yalnızca doğruluk oranı daha yüksek olarak saptanmıştır. Skorlamaya en yakın sonuçları elde eden kombinasyon **HBME1 ve Galektin-3 birinin pozitif olduğu** kombinasyondur.

Çalışmamızda genel olarak sonuçlara baktığımızda, tüm vakalarda ve özellikle Bethesda III kategorisinde skorlama sistemiyle oldukça yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Kombinasyonların kullanımıyla kıyaslandığında, skorlama ile en yüksek doğruluk oranı (%86.9) yanı sıra en dengeli dağılıma ulaşılmıştır. %92'lere ulaşan yüksek PPD, skorlama sisteminin 'Rule-in' test olarak başarıyla kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca özellikle Bethesda III kategoride NPD'sinde (%93.9) neredeyse altın standartta ulaşan değerlerin elde edilmesi, bu kategoride skorlama sisteminin 'Rule-out' test olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

7.2.7. Diğer sonuçlar

Çalışmamızdaki uyumsuz vakalar daha yakından incelendiğinde, Bethesda III kategoride, vakaların %92.6'si doğru, %7,4'ü hatalı olarak sınıflandırıldığı görülmüştür. 4 vaka yalancı negatiftir. Bu vakaların 3 tanesinin tanısı foliküler varyant papiller tiroid karsinomu, geriye kalan biri ise foliküler karsinomadır. Bethesda III kategorisinde yer alan, foliküler varyant papiller tiroid karsinomu tanısı almış vakaların %89'u doğru sınıflandırılırken, sadece %11 hatalı sınıflandırılmıştır. Literatürle uyumlu olarak papiller tiroid karsinomunu benign lezyonlardan ayırmada bu dört İHK belirtecin birlikte kullanımı fayda sağlamaktadır. Çalışmamıza göre, bu skorlama sistemi genel olarak başarılı görünmektedir. Vakalardan birinin papiller mikrokarsinom özelliğinde olması, akla İİAB sırasında, doğru nodülün örneklenip örneklenmediği, bu tümörün insidentaloma olup olmadığı sorularını akla getirmektedir. Ancak bundan kesin olarak emin olmak mümkün olamamıştır. Foliküler karsinoma tanısı almış 3 vakanın ise 2'si (%67) doğru sınıflandırılabilmiştir.

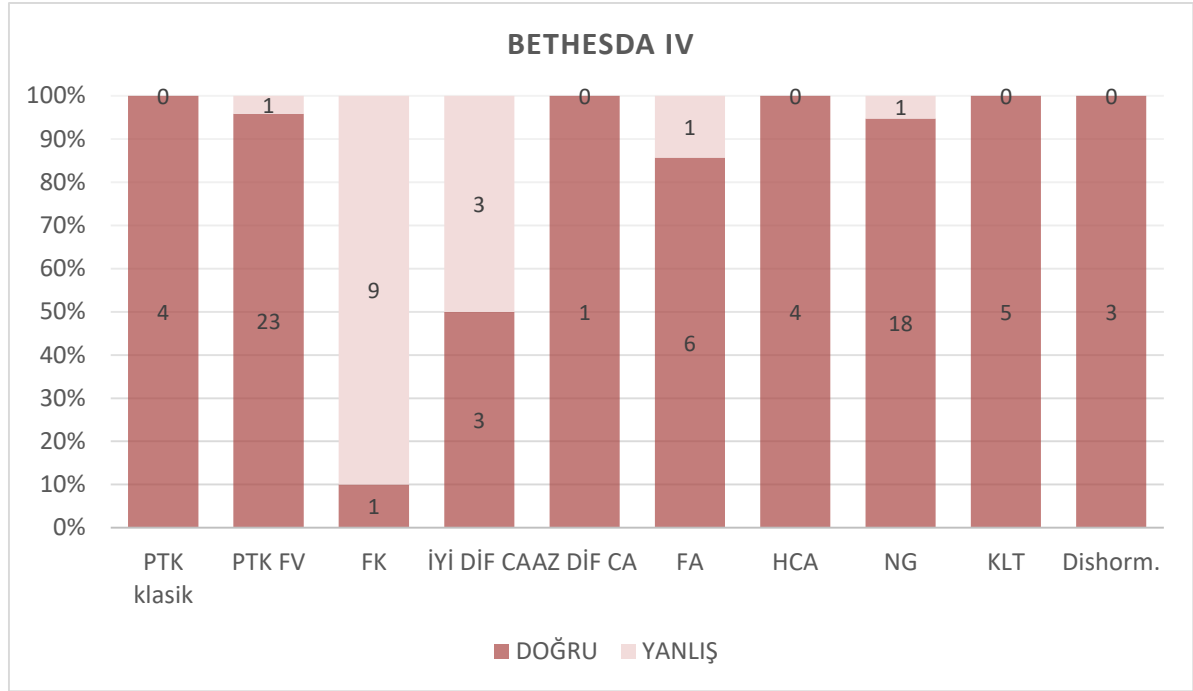


Şekil 7.1. Bethesda III kategoride yer alan vakaların histolojik tanıları ile test skoru sonuçlarının kıyaslanması ve doğru/yanlış sınıflanma oranları

Ayrıca bu kategoride 4 vaka yalancı pozitif olarak sonuç vermiştir. Bu vakaların 3 tanesinin tanısı nodüler guatr, geriye kalan bir tanesi ise kronik lenfositik tiroiditistir. Bethesda III kategorisinde yer alan, nodüler guatr tanısı almış vakaların %93,5'i gibi büyük bir kısmı doğru sınıflandırılırken, sadece %6,5'si hatalı sınıflandırılmıştır. Kronik lenfositik tiroiditis tanısı almış vakaların ise %92 doğru, %8 ise hatalı sınıflandırılmıştır. Literatürde belirtildiği gibi benign vakalarda da zaman zaman boyanmalar gösteren bu İHK belirteçlerin yalancı pozitifliğe yol açmaları beklenen bir bulgudur. Bu oranlar genel olarak literatürle uyumludur ve yalancı boyanmalarının oranının düşük olmaları test performansının yüksek olduğuna işaret etmektedir.

Bethesda IV kategoride, vakaların %82'si doğru, %18'i hatalı sınıflandırılmıştır. 13 vaka yalancı negatiftir. Bu vakaların, 9 tanesinin tanısı foliküler karsinoma, 3 tanesi iyi diferansiye karsinoma, 1 tanesi foliküler varyant papiller tiroid karsinomudur. Bethesda IV kategorisinde yer alan, foliküler karsinoma tanısı almış vakaların büyük bir kısmı (%90) hatalı sınıflandırılmış, sadece %10'u doğru sınıflandırılabilmiştir. Bethesda III kategorisinde düşük olan foliküler karsinoma için doğru sınıflama oranı, Bethesda IV kategorisi söz konusu olduğunda daha da düşmüştür ve test performansı göz önüne alındığında bekleneni karşılamayan bir sonuçtur. Foliküler varyant papiller tiroid karsinomu tanısı alan vakaların %96 kadarı doğru sınıflandırılırken, sadece %4'ü hatalı sınıflandırılmıştır. Bethesda III kategorisine benzer şekilde papiller tiroid karsinomu tanısında skortlama sistemi oldukça tatmin edici bir performans göstermektedir. İyi diferansiye karsinoma tanısı almış vakaların ancak yarısı doğru

sınıflandırılmıştır. Bu vakaların doğası gereği papiller tiroid karsinomu veya foliküler karsinoma ayırımı yapılamayan karsinomalar olduğu ve bu nedenle belirteçlerle tutarlı bir boyanma göstermedikleri düşünülebilir.



Şekil 7.2. Bethesda IV kategoride yer alan vakaların histolojik tanıları ile test skoru sonuçlarının kıyaslanması ve doğru/yanlış sınıflanma oranları

Literatürde foliküler karsinomanın benign lezyonlardan ayırımında İHK'nın rolü hakkında çeşitli görüşler mevcut olup en yaygın olanı tanısında bu belirteçlerin rolünün sınırlı olduğu görüşüdür. [2, 20, 81] Çalışmamız da bu görüşü destekler niteliktedir. Papiller tiroid karsinomu ile benign lezyonların ayırımında oldukça yüksek performans gösteren İHK belirteçlerin performansı, foliküler karsinoma söz konusu olduğunda büyük oranda düşmekte, foliküler karsinomanın benign lezyonlardan ayırımında fayda sağlayamamaktadır. [20, 112] Foliküler karsinomaları yüksek oranda hatalı sınıflamak, İHK belirteçlerin kullanımının, dolayısıyla skoreleme sisteminin en büyük kısıtlılığını oluşturmaktadır. Ancak Bethesda III ve IV kategorisinde genellikle tanı zorluğu yaratan papiller tiroid karsinomu varyantının foliküler varyant olduğu ve bunun foliküler karsinomaya kıyasla çok daha sık olarak görüldüğü göz önüne alındığında, İHK belirteçler foliküler varyant papiller tiroid karsinomu vakalarını büyük bir doğrulukla ayırt edebilmektedir. [2, 20, 81] Tüm bu veriler ışığında, İHK belirteçleri ve skoreleme sistemi, 'Rule-in' test olması açısından büyük bir başarı potansiyeli taşımakla birlikte, 'Rule-out' test olarak kullanımı daha sınırlıdır.

Ayrıca Bethesda IV kategoride 2 vaka yalancı pozitif olarak sınırlandırılmıştır. Bu vakaların birinin tanısı nodüler guatr, diğeri ise foliküler adenomdur. Bethesda IV kategorisinde

yer alan, nodüler guatr tanısı almış vakaların %95'i doğru sınıflandırılırken, sadece %5 hatalı sınıflandırılmıştır. Foliküler adenom tanısı almış vakaların ise %86 'sı doğru sınıflandırılırken, %14'ü hatalı sınıflandırılmıştır. Hatalı sınıflanma oranları oldukça düşüktür. Özellikle nodüler guatr ve foliküler adenom olgularında, çoklu belirteçlerle zaman zaman boyanma görülebilir. Bu belirteçlerin tek başına ya da kombine kullanımlarının önündeki sınırlamalardan bir diğeri de bu durumdur.

Ara kategoride yer alan olguların %69 kadarı Bethesda IV kategoride yer almaktadır. Bethesda III kategorisinde 2 tane NIFTP, 3 tane UMPT olgusu izlenirken, Bethesda IV kategorisinde 5 tane NIFTP, 5 tane UMPT olgusu dikkati çekmiştir.

Toplam 7 NIFTP olgusu incelendiğinde, 5 olgunun skoru 2 veya üstünde, 2 olgunun skoru ise '0' olarak saptanmış, ortalama skor 1,85 bulunmuştur. Belirteçler ile heterojen bir boyanma dikkati çekerken, vakaların daha çok malign vakalarda beklediğimiz şekilde boyandığı görülmektedir. Literatürde NIFTP olgularında bu belirteçlerle farklı özellikte boyanmalar bildirilmektedir. [18, 107, 112]

Toplam 8 UMPT olgusu incelendiğinde, 6'sının skoru 2'nin altında iken, birinin skoru '2' ve birinin skoru '4' olarak saptanmış, ortalama skor 1 bulunmuştur. Sadece tek bir oluda dört belirtecin tamamı ile boyanma görülmüş, vakaların yarısına hiçbir belirteç ile boyanma izlenmemiştir. Bu grupta daha çok benign vakalarda görmeyi beklediğimiz boyanma paterni dikkati çekmiştir. Literatürdeki çalışmaların büyük çoğunluğunda UMPT vakaları değerlendirilmeye alınmamıştır. Ancak izlenen az sayıdaki çalışmada Galektin-3 ve HBME1 ile heterojen boyanmalar dikkati çekmektedir. [144]

Tablo 6.10'da NIFTP ve UMPT vakalarının farklı senaryolara göre tarama testi verilerine bakıldığında, teorik olarak en iyi performansın, NIFTP'nin malign, UMPT'nin benign kabul edildiği E grubunda görülmesi beklenmektedir. Ancak durum böyle değildir. Sensitivite ve NPD'nin, malignite oranı en düşük olan NIFTP ve UMPT'nin benign kabul edildiği F grubunda, spesifite ve PPD'nin ise malignite oranı en yüksek olan NIFTP ve UMPT'nin malign kabul edildiği A grubunda en yüksek olduğu görülmektedir. Genel olarak bütün gruplar incelendiğinde, gerçek hayata en uygun görülen B grubunda ortalama değerler elde edilmiştir.

Literatürde sitoloji alanında İHK belirteçlerle skorlama sistemi kullanan çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca hücre bloğu materyalinde immünohistokimyasal belirteçlerin kombinasyonlarını kullanan çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Margari ve ark.'nın yaptığı çalışmada [13], Bethesda II-VI grubu dahil edilmiş, bizim çalışmamızdaki gibi Bethesda III ve IV'ten oluşan sadece indetermine lezyonlarda araştırma yapılmamıştır. Özellikle Bethesda II ve VI gibi gruplar dahil edildiğinde, İHK belirteçlerin test performanslarında doğal bir artış

saptanmaktadır. Ayrıca daha önce de belirtildiği üzere, tanı zorluğu bulunan FK'nın çalışmaya dahil edilmemiş olması, çalışmanın önemli sınırlamalarından biridir. Tiroid kanserlerini doğru sınıflamak için histopatolojik materyaller üzerinde yapılan çalışmalarda, farklı sensitivite ve spesifite değerlerine sahip olmakla birlikte, bu İHK belirteçlerin tekli veya kombine kullanıllarının özellikle PTK tanısında önemli fayda sağladığı bilinen bir gerçektir.[2] Ancak gözümüzle doğru olarak ayırabildiğimiz, Bethesda II ve VI kategorisinde yer alan, benign veya malign tanısı verebileceğimiz vakalarda İHK'nın gerekliliği oldukça tartışmalıdır.

Sitolojide yaymaların özel bir boyanma yöntemiyle boyandığı, sıklıkla tek, çok nadiren çoklu immünohistokimyasal belirtecin uygulandığı çalışmalar da mevcuttur.[15-17] Sınırlı sayıda yayma preparat bulunduğundan, çok az sayıda belirteç ile yaymaları boyamak mümkündür ve bu vakalarda immünohistokimya için kontrol dokusu kullanılamamaktadır. Ayrıca yaymalara uygulanan immünohistokimyasal belirteçlerin sensitiviteleri düşüktür. Tüm bunlar yanı sıra bu işlemler oldukça zahmetli olup günlük pratikte kullanımı çok sınırlıdır.

Hücre bloğu, sitolojik materyallerden elde edilen solid çökeltinin ve mikrodoku fragmanlarının, parafin bloklara gömülmesiyle hazırlanan, histolojik değerlendirme yapmaya imkan veren bir yöntemdir ve konvansiyonel sitoloji tekniklerine alternatif değil, onun bir tamamlayıcısı olarak karşımıza çıkmaktadır.[14] Günümüzde daha az invaziv yöntemler ile tanı koyma yaklaşımı gittikçe popüleritesini arttırmakta olup, sitoloji ve hücre bloğu tanı, prognoz ve tedaviyi ön görmede kullanılan ek testler için çok değerli bir kaynaktır.

Hücre bloğu, histopatolojik doku sağlaması ile İHK, in-situ hibridizasyon veya moleküler testler gibi ek testlere imkan vermesi sayesinde tanısal doğruluğu arttırmaktadır. Ayrıca hücre bloğu, patoloji materyallerinde çok sık kullanılan FFPE dokuları ile oldukça benzerdir.[82] Bu sayede patoloji spesmenlerinde kullanılan FFPE dokuları için standardize edilmiş protokoller içeren İHK ve moleküler testler kolaylıkla yapılabilir. Bu kesitlerden tümörü konfirme etmek ve miktarını belirlemek de mümkündür. [14, 82, 88, 129] Varghese ve ark. [145] yaptığı bir çalışmada, sıklıkla kullanılan 118 İHK belirteç, aynı anda hücre bloğu ve operasyon materyali bulunan 41 olgu test edilmiş ve boyanma paterni açısından yüksek uyum (%96) saptanmıştır. Özellikle tiroid sitolojisinde hücre bloğu ile yapılan çalışmalarda, sitolojik yaymalarla birlikte değerlendirildiğinde, hücre bloğunun tiroid İİAB'sinde non-diagnostik tanı oranlarını belirgin olarak düşürdüğü ve tanı doğruluğu arttırdığı dikkati çekmektedir. [146-150] Hücre bloğu, çalışmamızdaki gibi çoklu İHK panellerinin yapılmasına imkan vererek indetermine lezyonların tanısında yol göstericidir.[13, 130, 151] Ayrıca FFPE hücre blokları, histolojik kesitler ile benzer olduğundan, meme ve akciğer dokusunda, biyopsi ve operasyon materyallerinde kullanılan eşik değerleri kullanılabilir denilmektedir. [82]

Yaymalara uygulanan immünsitokimya ile kıyaslandığında, hücre bloğu İHK uygulamasında, zemin boyanması olmaz, bu kesitlerde kontrol dokusu bulunabilir ve morfolojik değerlendirme daha kolaydır.[14] Çalışmamızda ve genel olarak günlük pratikte hücre bloğu eldesinde sıklıkla formalin kullanılmaktadır. Formalin temelli materyaller, diğerlerine kıyasla İHK açısından daha iyi performans sergilemekte olup, sitospin yaymalara kıyasla daha yüksek sensitiviteye sahiptir. Bu yönleri ile hücre bloğu, yaymalara uygulanan immünsitokimyadan üstündür. Ancak kullanılan solüsyonun test sonuçlarını etkileyebileceği unutulmamalıdır. [152, 153]

Hücre bloğu, fiksatif çeşidi, materyal tipi veya hazırlanma yöntemi fark etmeksizin moleküler testlerde benzer başarı oranlarına sahiptir ve sadece İHK için değil moleküler testler için de değerli bir kaynaktır. Hücre bloğu elde etme yöntemi o laboratuvarın ihtiyaçlarına ve imkanlarına göre belirlenebilir.[82]

Tiroid tru-cut biyopsileri değerlendirildiğinde, hücre bloğuna benzer şekilde non-diagnostik sonuçlarının daha az olduğu bilinmektedir. Hatta indetermine sonuçları azaldığı bildirilmekte, ancak yapısal atipi oranlarının dolayısıyla, FN tanı oranlarının ise yüksek olduğu dikkati çekmektedir.[154]

Tiroid tru-cut biyopsi materyallerinde İHK belirteçlerin performansını araştıran az sayıda çalışma bulunmakta ve bu çalışmalar Tablo 7.2’de özetlenmiştir.[136, 137] Tru-cut biyopsilerin tiroid nodüllerinde tanısal yaklaşımda kullanımı oldukça sınırlı kalmaktadır ve halen tiroid nodüllerinin tanısında İİAB altın standart tanı yöntemidir. Tru-cut biyopsilerin, hücre bloğunda olduğu gibi, İİAB’sine bir alternatif olmadığı, özellikle İİAB sonucu non-diagnostik veya indetermine olduğunda, İİAB için tamamlayıcı bir yöntem olduğu görüşü kabul edilmektedir.[155, 156] Ancak tru-cut biyopsinin, İİAB’sine tanısal anlamda ek katkı sağlamadığını söyleyen yayınlar da bulunmaktadır.[157-159] Özellikle indetermine nodüllerin tanısında, hücre bloğuna benzer şekilde, çoklu İHK panellerinin yapılabilmesine ve yapısal özelliklerin daha iyi değerlendirilmesine imkan veren histopatolojik doku sağladığı için İİAB’sine göre avantajlı olduğunu belirten yayınlar da mevcuttur.[136, 137]

Tru-cut biyopsiler ile kıyaslandığında, hücre bloğu materyallerinde çok daha fazla sayıda hücre bulunmakta, daha az stromal doku izlenmektedir. Özellikle moleküler testler göz önüne alındığında, daha az stroma, daha çok hücre komponenti istenen bir durumdur [88, 160] İİAB’sinde daha ince iğne kullanıldığı için komplikasyon riski de daha azdır. Ancak hücre bloğunun en büyük kısıtlılığı tutarsız ve suboptimal selülariteye sahip olabilmesidir. [88] Yerinde sitolojik değerlendirme sayesinde, tüm vakalardan yeterli selülariteye sahip hücre bloğu elde edilebilir ve bu durumun önüne geçebilir. [82] Hücre bloğu hazırlamak laboratuvar

iş yükünü, maliyeti ve hazırlık süresini arttırmaktadır ve bunlar hücre bloğu kullanımının diğer kısıtlamalarını oluşturmaktadır.

İİAB için genellikle 22G ve daha ince iğneler kullanılırken, tru-cut biyopsiler için 18G ve daha kalın olanlar tercih edilmektedir.[161] Ancak son dönemlerde 21G kalınlıkta ara formda iğnelerin kullanımı söz konusudur.[150, 151, 162, 163] Yapılan çalışmalarda, 21G iğneler ile daha ince iğnelere benzer sonuçlar alındığı, komplikasyon oranlarının benzer olduğu ve hastaların bu iğneleri tolere edebildiği söylenmektedir.[150, 163] Çalışmamızda da kullanılan, Menghini tipi yarı otomatik aspirasyon biyopsi iğneleri (21-gauge) İİAB için tercih edilen iğnelerden biridir ve hücre bloğu elde edilebilir.[150] Klasik İİAB iğnelerinden kalın ancak tru-cut iğneleri kadar kalın olmayan bu iğnelerin en büyük avantajı, minimal kanama ile yoğun selüler hücre bloğu elde edilebilmesidir ve çalışmamızda klinik deneyimimize göre 21G iğneler 22G olanlara tercih edilmiştir.

Bu iğnelerin kullanımının giderek yaygınlaşmasıyla, özellikle daha önceki sonucu non-diagnostik veya indetermine kategoride yer alan hastalarda olmak üzere, tüm hastalarda İİAB sırasında hücre bloğu eldesinde kolayca kullanılabilir. Kullanılan kalın iğneler nedeniyle tru-cut biyopsilerde, İİAB'lerine göre daha ciddi komplikasyonların görülmesi olasıdır. Başta kanama olmak üzere vasküler yaralanmalar ve organ hasarları sık görülmemekle birlikte, ciddi sonuçlar doğurabilmektedir.[150]

İndetermine tiroid nodüllerinin tanısında, özellikle son yıllarda, moleküler testlerin çok geniş yer aldığını görülmektedir. Bu testlerde mRNA/miRNA ifadesindeki değişiklikleri ve genetik mutasyonlar/rearajmanları veya bunların kombinasyonları kullanılmaktadır. Ancak İHK belirteçlerin kullanımında olduğu gibi, benign-malign ayrımında, bunlardan herhangi birinin tek başına, potansiyel bir belirteç olarak yüksek sensitivite ve spesifite göstermediği görülmektedir. Bu nedenle artık çalışmalar, tek bir gen yerine birçok geni içerecek şekilde, DNA'yı, mRNA'yı ve miRNA'yı kapsayan paneller üzerine yoğunlaşmış durumdadır. Kullanılan moleküler testler ve validasyon çalışmalarındaki test performansları Tablo 7. 3'te özetlenmiştir.

Tablo 7.3. Moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki test performansları

Test adı	Yöntem	Bethesda Kategorisi	Hasta sayısı (n)	Prevalans (%)	Sensitivite (%)	Spesivite (%)	PPD (%)	NPD (%)
Afirma GEC[79] 2013	Mikroarray	III	129	24	90	53	38	95
		IV	81	25	90	49	37	94
		III ve IV	210	24	90	52	37	94
Afirma GSC[116] 2018	RNA sekanslama	III	114	25	93	71	51	97
		IV	76	22	88	64	42	95
		III ve IV	190	24	91	68	47	96
Thyroseq v1 [164] 2011	PCR Sanger sekanslama	III	247	14	63	99	88	94
		IV	214	27	57	97	87	86
Thyroseq v2 [24] 2014	NGS	III	96	23	91	92	77	97
Thyroseq v2 [78] 2014	NGS	IV	143	27	90	93	83	96
Thyroseq v3 [128] 2018	NGS	III	154	23	91	85	64	97
		IV	93	35	97	75	68	98
		III ve IV	247	28	94	82	66	97
ThyGenX/ ThyraMIR [122] 2015	NGS ve miRNA ifadesi	III	58	32	94	80	68	97
		IV	51	33	82	91	82	91
		III ve IV	109	32	89	85	74	94
ThyGeNEXT/ ThyraMIR [125] 2019	NGS ve miRNA ifadesi	III	92	36	97	93	85	97
		IV	86	24	86	88	60	93
		III ve IV	178	30	93	90	74	95
RosettaGx Reveal[120] 2016	miRNA	III ve IV	189	21	74	74	43	92

GEC; Gene Expression Classifier. GCS; Gene Sequencing Classifier. NGS; yeni nesil sekanslama. NPD; negatif prediktif değer. PPD; pozitif prediktif değer. PCR; polimeraz zincir reaksiyonu

Afirma Gene Expression Classifier (GEC) iki basamaklı olarak toplam 167 gene ait mRNA'yı mikroarray analizi yapan, ilk basamakta paratiroid lezyonları ile medüller karsinoma veya metastaz gibi tiroidin daha az görülen lezyonlarını ayıran, ardından tiroidin primer foliküler kökenli lezyonları içinde, indetermine nodülün natürünü belirlemeye çalışan bir moleküler testtir. [23, 79] Sistem benign veya şüpheli şeklinde sonuç vermektedir. Test için, özel solusyonu içerisinde biriktirilmiş, İİAB materyallerinden saflaştırılan mRNA kullanılmaktadır. Yapılan validasyon çalışmalarında, testin NPD'si (%94) oldukça yüksek olarak saptanmış ancak PPD'si (%37) düşüktür. [26, 79, 115] Bu test bir 'Rule-out' testi olarak

çalışmaktadır. Ancak bazı çalışmalar GEC kullanımının cerrahi oranlarında anlamlı bir değişikliği yol açmadığını, hatta Bethesda kategori IV ve III'te tanıya katkı sağlamadığını göstermiştir. [165, 166] Vakaların sadece bir kısmında histolojik korelasyon yapılabilmesi ve hastaların sınırlı sürelerde takip edilebilmesi, validasyon çalışmalarının ve dolayısıyla bu testin kısıtlamalarını oluşturmaktadır. Bazı çalışmalarda Hürthle hücreli lezyonları tanımada test performansı çok da başarılı olmadığı görülmüştür. [167, 168]

Genomik gelişmelerin ardından, bu tanısal limitasyonları aşmak için, testin yüksek NPD ve sensitivitesini korurken, spesivitesini ve PPD'sini arttırmayı amaçlayan, Afirma Gene Sequencing Classifier (GSC), GEC ile benzer özellikler taşımasının yanı sıra, özellikle indetermine ve Hürthle hücreli grupta yer alan lezyonların ayırıcı tanısına yönelik yenilikler ile dikkati çekmektedir. Yapılan validasyon çalışmalarında, testin PPD (%47) ve spesivitesinde (%68) artış ile benign vakaları saptama oranlarında artış saptanmıştır.[116-118] Testin performansının büyük oranda arttığını söylemek mümkündür.

PCR yöntemini kullanan miRNA miktarının ölçülmesi presibine dayanan bir test olan RosettaGX Reveal testinin, diğerlerinden en büyük farkı ve avantajı, rutin sitoloji incelemesi için boyanmış yaymalarla çalışabilmesidir. Diğer testler için İİAB sırasında ekstra örnek alınmalı ve bunlar özel solüsyonlar içerisinde biriktirilmelidir. Test; benign, malignite şüphesi ve medüller belirteçler açısından pozitif olmak üzere üç sonuç vermektedir, Yapılan validasyon çalışmalarında bu test, yüksek sensitivite, spesivite ve %90'nın üzerinde NPD göstermiştir.[120, 121] İyi bir 'Rule out' testi özelliğindedir. Ancak firma pazardan çekilmiştir ve günümüzde bu testi uygulamak mümkün değildir.

Gen mutasyonları veya rearanjmanları gibi bir takım somatik değişikliklerin moleküler olarak saptanması, tiroid kanserlerinin tanınmasında kullanılabilen bir diğer yöntemdir. Tek bir mutasyonun veya genetik değişikliğin saptanması malignite açısından yönlendirici olmakla birlikte, bu mutasyon veya genetik değişikliğin saptanmaması maligniteyi ekarte ettirmemektedir. Ayrıca bu yöntemler daha önce de belirtildiği gibi İİAB materyallerinin özel solüsyonlar içerisinde biriktirilmesini ve hem DNA hem de RNA ekstrakte edilmesini gerektirmektedir. Eskiden Sanger sekanslama ve real-time PCR ile yapılan bu işlemler, artık yeni nesil sekanslama (NGS) ile yapılmaktadır. Bu yöntemi kullanan ThyGenX ve bunun en yeni paneli olan ThyGeNEXT, negatif sonuç verdiği durumlarda ikinci aşama olarak miRNA ifadesini ölçen ThyraMIR paneli uygulanmaktadır. Test, pozitif, şüpheli ve negatif şeklinde sonuç vermektedir. ThyGeNEXT/ThyraMIR kombinasyonu sayesinde testin NPD, PPD ve performansı yükselmektedir.[122, 125] Özellikle NIFTP'yi tanınması ve indetermine nodüllerin yönetimine karar verme aşamasına yaptığı katkı sayesinde diğer testlerden ayrılmaktadır.[169]

Bir diğer NGS temelli DNA ve RNA analizi yapan kombine test olan ThyroSeq v2'nin, validasyonu için yapılan çalışmada, PPD %83, NPD %96 oranında saptanmıştır. [78] Test hem 'Rule in' hem de 'Rule out' test olarak kullanılabilmesi açısından önemlidir. Ancak ardından yapılan çalışmalarda, yüksek saptanan NPD ve PPD değerlerinin o kadar da yüksek olmadığı, 'Rule in' hem de 'Rule out' test olarak kullanımının sınırlı olduğu gösterilmiştir. [29, 31, 32, 127] Ayrıca ThyroSeq v2 testinin Bethesda III kategorisinde tanıya pek faydalı olmadığını, Bethesda IV kategorisinde fayda sağlayabileceğini söyleyen yayın da mevcuttur.[127] Testin doğruluğunun artırılması amacıyla, yeni eklenen genlerle birlikte piyasaya sürülen ThyroSeq v3'ün sensitivitesinde artış, spesifitesinde ise azalma dikkati çekmiştir. Yapılan validasyon çalışmalarında, test için PPD %66, NPD ise %97 saptanmıştır.[128] Bir önceki sürüme göre PPD'sinde azalma dikkati çekerken, özellikle Hürthle hücreli neoplazileri doğru tanıma oranı artmıştır. Hürthle hücreli neoplaziler, foliküler neoplazilerle birlikte moleküler testler için en çok tanı zorluğu yaratan grubu oluşturmaktadır. Diğer benzeri ticari panellerle yapılan validasyon çalışmalarında, bu yöntemin özellikle indetermine nodüllerin sitolojik tanısında sağladığı katkının sınırlı olduğu, daha ileri araştırmaların yapılması gerektiğini ortaya koymuştur. [33, 170, 171]

Validasyon çalışmalarının ardından, gerçek hayatta bu yöntemlerin kullanılması ile yeni veriler elde edilmiş ve validasyon çalışmalarındaki değerlere ulaşamadığı görülmüştür. (Bakınız Tablo 7.4)

Tablo 7. 4. İndetermine tiroid nodüllerinde moleküler testlerin prediktif değerleri

	Validasyon çalışmalarındaki değerler	'Gerçek hayatta' post-validasyon çalışmalarında gözlemlenen değerler
Rule out testler	%95 NPD	%85-90 NPD
Rule in testler	%40-90 PPD	%20-40 PPD
Afirma ve ThyroSec v2 için yapılan validasyon çalışmaları ile klinik çalışmalar karşılaştırılmıştır. [30-32, 172, 173]		

JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2020;146(9):845-850. doi:10.1001/jamaoto.2020.1851

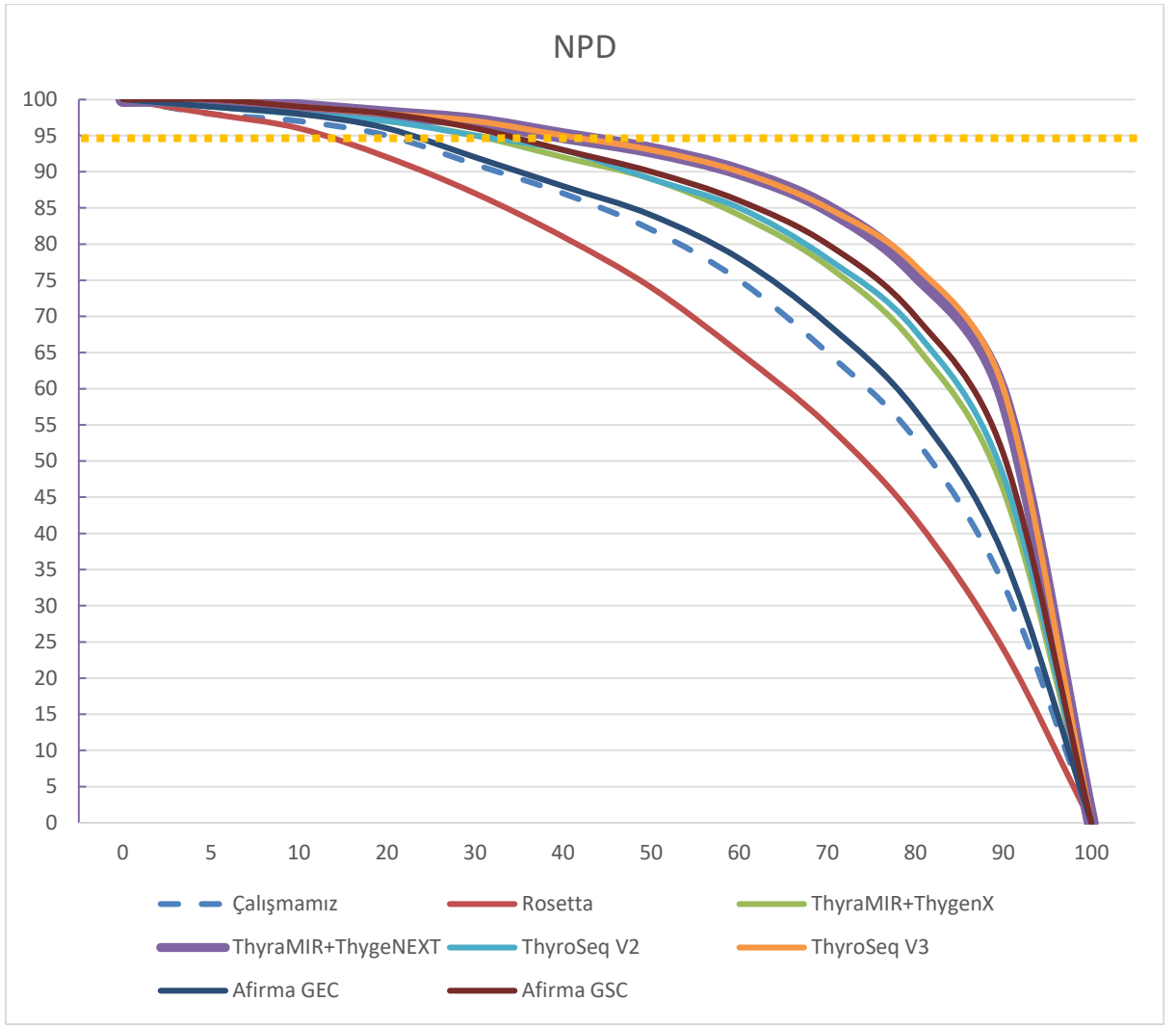
Birçok validasyon çalışmasında, negatif test sonucuna sahip vakalara genellikle tiroidektomi uygulanmadığı için, bu vakaların histopatolojik konfirmasyonu çok sınırlı sayıdadır. Bu çalışmaların bazılarında sensitivite ve spesifite değerleri hesaplanırken, histopatolojik olarak konfirmasyonu bulunmayan ve test sonucu negatif olan vakalar, gerçek negatif olarak kabul edilmektedir. Yalancı negatif vakaların gerçek oranı bilinmediğinden ve

olduğundan düşük hesaplandığından dolayı, yüksek sensitivite ve spesifite değerleri elde edilebilmektedir. Örneğin Desai ve ark. ThyroSeq v3 kullanarak yaptığı çalışmada, geniş bir vaka serisinde, cerrahi konfirmasyonu olmayan ve negatif test sonucuna sahip vakaların gerçek negatif kabul edilmesi sonucunda, malignite prevalansı %29, sensitivite değeri %93, spesifite değeri %90 ve NPD %98 iken, sadece cerrahi konfirmasyonu olan vakalar değerlendirilmeye alındığında, malignite prevalansı %55, sensitivite değeri %93, spesifite değeri %45 ve NPD %83 olarak saptanmış, spesifite ve NPD’de düşüş dikkati çekmiştir. [174]

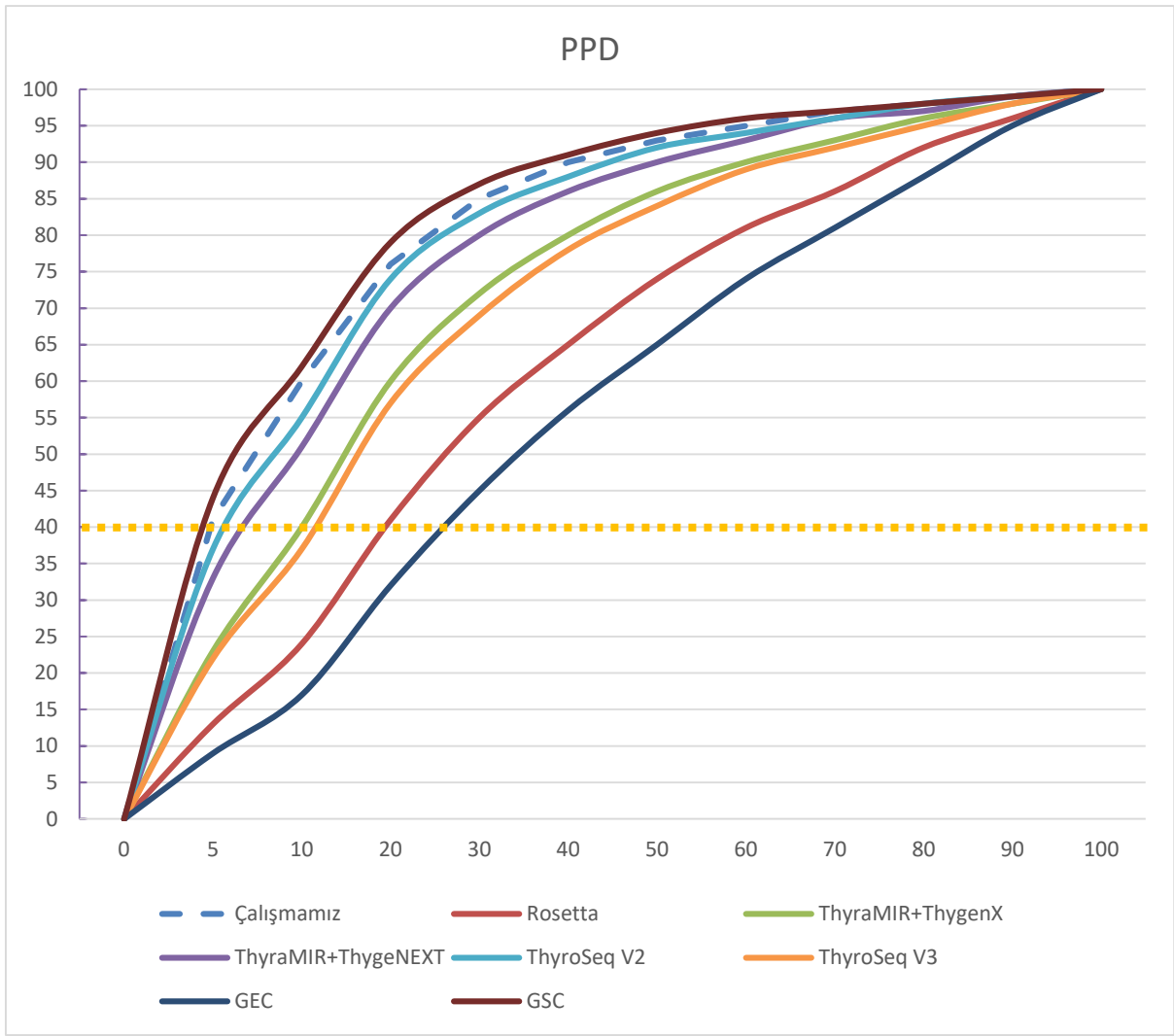
Bu moleküler testlerin validasyon çalışmalarıyla gerçek hayattaki test performansları verilerin birbirinden farklı olmasının en önemli nedeni, testlerin NPD ve PPD’lerinin, test edilen hastalığın prevalansından etkilenmesidir. Malignite prevalansının yüksek olduğu durumda PPD yükselecek, NPD düşecektir ve prevalansının düşük olduğu durumda ise tam tersi karşımıza çıkacaktır. Gerçek hayatta sıklıkla yüksek riskli vakaların opere olması nedeniyle, tümör prevalansı beklenenden daha yüksek saptanmakta, bu durum NPD’de düşüşe, PPD’de ise artışa neden olmaktadır. Bu nedenle post-validasyon (bağımsız merkezlerin) çalışmalarında NPD, validasyon çalışmalarında olduğundan daha düşük olup %85-90 civarındadır.

Tüm bunlar ışığında, malignite oranları farklı iki popülasyonda, birden fazla testin performansını sadece NPD ve PPD değerlerine bakarak kıyaslamak tam olarak doğru fikir vermeyecektir. NPD ve PPD bir koşullu olasılık teoremi olan Bayes teoremine göre hesaplanmaktadır. Bu teoreme göre teorik olarak, prevalanstaki değişimleri göz önüne alan eğriler çizmek mümkündür ve testlerin performansını bu eğriler eşliğinde kıyaslamak daha doğru olacaktır. Ayrıca validasyon çalışmaları ile post-validasyon çalışmaları arasında farkın bir diğer nedeni de validasyon çalışmalarının gerçek hayatı yeterince doğru temsil etmemesi olabilir denilmektedir. [30]

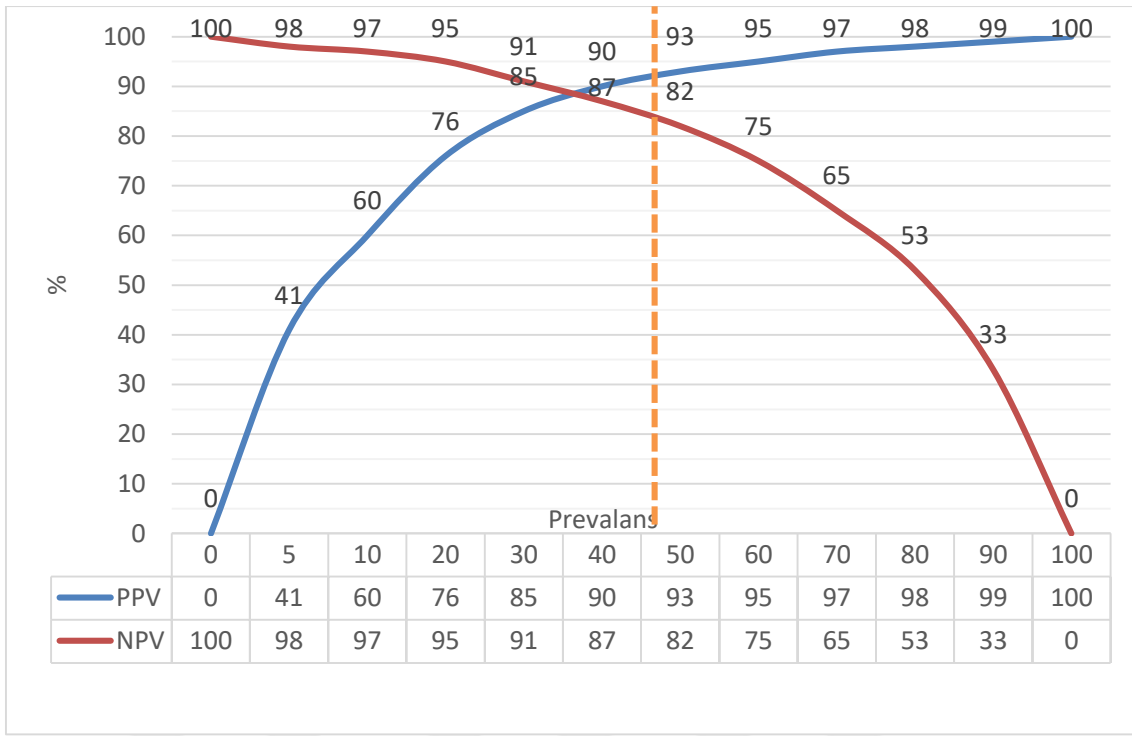
Şekil 7.3 ve 7.4’te, farklı moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki verilerine ve çalışmamızdaki verilere dayanarak Bayes teoremine göre çizilen teorik olarak doğru kabul edilen NPD ve PPD eğrileri görülmektedir.[175] Benzer prevalansta testlerin performanslarını kıyaslamak mümkün olabilmektedir.



Şekil 7.3. Çalışmamız ve başlıca moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki verilerine göre NPD-Prevalans eğrisi [34, 125, 174]

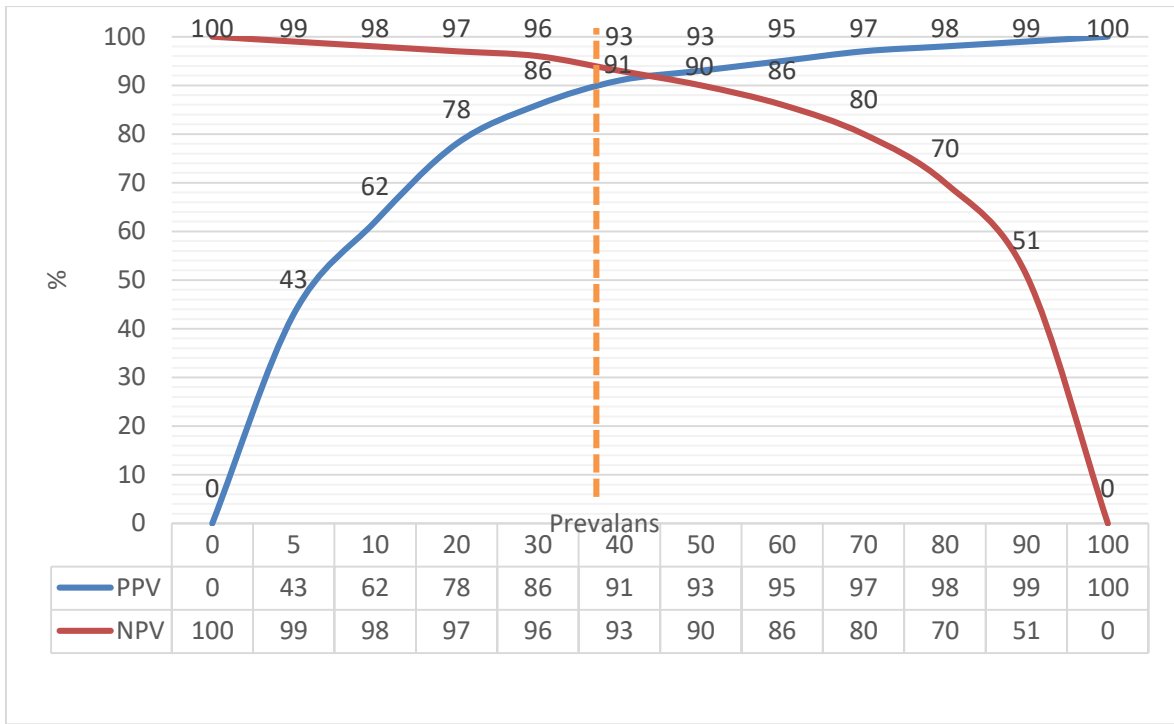


Şekil 7.4. Çalışmamız ve başlıca moleküler testlerin validasyon çalışmalarındaki verilerine göre PPD-Prevalans eğrisi [34, 125, 174]

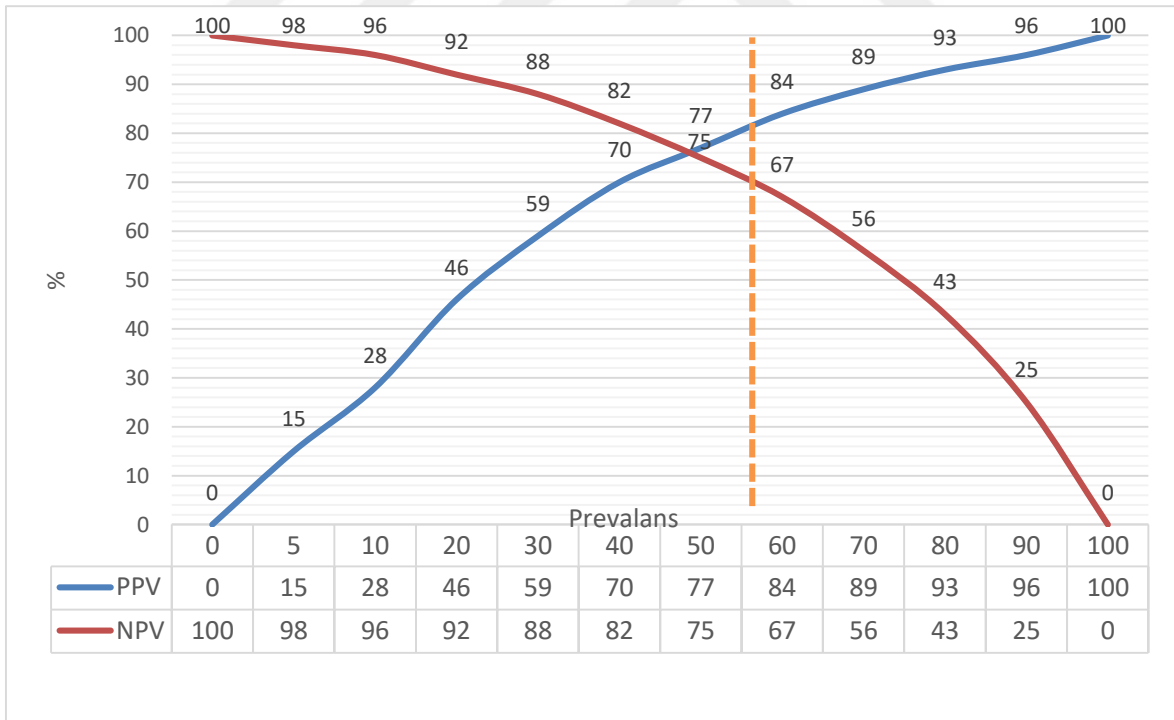


Şekil 7.5. Çalışmamızda tüm vakalarda NIFTP'nin malign kabul edildiği durumda skrolama sistemine göre NPD-Prevalans ve PPD-Prevalans eğriler. Turuncu ile işaretli çizgi o kategori için saptanan prevalansı temsil etmektedir.

Şekil 7.3-7.6'ta görüldüğü gibi, çalışmamızdaki skrolama sonuçlarına göre elde edilen eğriler, Bethesda III kategorisinde daha belirgin olmak üzere, moleküler testlere ait eğrilere paralel özelliktedir. Bethesda III ve IV'te saptanan malignite oranlarımız, TSBRS'de beklenenden daha fazla izlenmiştir. Prevalansımızın yüksek olması nedeniyle, moleküler testlerle kıyaslandığında, skrolama sonuçlarımız daha düşük NPD (%83) ve daha yüksek PPD'ye (%92) sahiptir. Ancak o kategori için beklenen prevalans aralığında (%15-30), eğri üzerinden değerlerimize baktığımızda, moleküler testlerin sonuçlarına çok benzer değerler dikkati çekmektedir. Örneğin %20 prevalansta moleküler testlerin NPD'si %92-98 aralığında yer almaktadır. Bizim testimizin NPD'si %95'dir. Aynı prevalansta moleküler testlerin PPD'si %41-79 aralığında yer almakta iken bizim testimizin PPD'si %76'dır. Prevalansın düşmesiyle PPD'de bir miktar azalma söz konusudur. Ancak iyi bir 'Rule in' test olmak için yeterli yüksek değerlere sahiptir. Ayrıca olguların büyük çoğunun benign olması nedeniyle, tiroid sitolojisinde testlerin 'Rule out' özellikleri, 'Rule in' özelliklerinden daha kıymetlidir.



Şekil 7.6. Çalışmamızda Bethesda III kategorisinde NIFTP'nin malign kabul edildiği durumda skorlamaya göre NPD-Prevalans ve PPD-Prevalans eğrileri. Turuncu ile işaretli çizgi o kategori için saptanan prevalansı temsil etmektedir.



Şekil 7.7. Çalışmamızda Bethesda IV kategorisinde NIFTP'nin malign kabul edildiği durumda skorlamaya göre NPD-Prevalans ve PPD-Prevalans eğrileri. Turuncu ile işaretli çizgiler o kategori için saptanan prevalansı temsil etmektedir.

Moleküler testlerle, Bethesda III kategorisinde, Bethesda IV ile kıyaslandığında daha düşük sonuçlar elde edilmektedir. [29, 128, 176, 177] Hatta Bethesda III kategorisinde tanıya pek katkı sağlamadığını söyleyen yayın da bulunmaktadır.[127] Skorlama sistemimiz, Bethesda III kategoride, moleküler testlere çok yakın, bu testlerle karşılaştırılabilir sonuçlar elde etmiştir.

Validasyon ve post-validasyon çalışmaların verilerin birbirinden farklı olmasının bir diğer sebebi de o popülasyonda izlenen malignitelerin çeşidi (FK, FV PTK, NIFTP vb.) olabilir. NIFTP gibi benign-malign sınıflaması kesin olmayan vakaların hangi grupta yer aldığı sonuçları az da olsa etkilemektedir. Marcadis ve ark. ThyroSeq v2 ile yaptığı çok merkezli bir çalışmada, 4 farklı merkeze ait veriler toplanmış, sensitivite (%64-100), spesifite (%22-78), PPD (%36-84) ve NPD (%86-100) açısından her merkezde farklı sonuçlar elde edilmiştir. [31] Bunun nedeninin, tek başına merkezlerin birbirinden farklı prevalanslara sahip olması ile açıklanması pek mümkün değildir. Farklı prevalansların yanı sıra, vakaların çeşitliliği ve dağılımı, Bethesda III ve IV kategorisinin heterojen olması ve burada bulunan patologların deneyimi, bu farkın muhtemel sebepleri arasındadır. Ayrıca moleküler testlerinin NPD ve PPD'si hesaplanırken, NIFTP'nin malign veya benign olarak kabul edilmesi, sonuçları değiştirmektedir. NIFTP'nin benign olarak kabul edilmesi durumunda moleküler testlerin NPD'si daha yüksek, NIFTP'nin malign kabul edilmesi durumunda ise daha düşük çıkmaktadır ki bu değerler validasyon testlerinde bahsedilenden düşüktür. Moleküler testlerde NIFTP genellikle benign veya şüpheli sonuç veren grup içerisinde yer almakta, daha az sıklıkla malign gruba girmektedir. NIFTP vakalarını benign sınıfa sokmak, hem prevalansı düşürerek, hem de yalancı negatif sonuçları azaltarak daha yüksek NPD elde edilmesine katkı sağlamaktadır. Çalışmamızda skorlama sistemine göre, bütün vakalar göz önüne alındığında, NIFTP'nin malign veya benign olarak sınıflanması arasında minimal değişiklikler saptanmış, benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bethesda III kategorisinde NIFTP malign grupta, Bethesda IV'te ise NIFTP benign grupta görece daha iyi sonuçlar vermiştir.

Özellikle moleküler testler söz konusu olduğunda, her merkez için fayda/maliyet oranı değerlendirilmesi gerekmektedir. Moleküler testlerin hiçbirisi merkezimizde veya ülkemizde yapılamamakta, yurtdışına özel solusyonlar içinde gönderilen materyallerde veya yayma preparatlarda çalışılabilmektedir. Testlerin maliyeti firmasına ve kullanılan teste göre 2000-4800 \$ arasında değişmektedir. [26, 35] Ülkemiz dışında lobektomi veya tiroidektomi operasyonun maliyeti moleküler testlere yakın veya onlardan daha fazladır. (ABD yaklaşık 4000-9500 \$)[178] Ülkemizde İHK belirteçlerinden birinin fiyatı güncel SUT verilerine göre 44 TL (6-7 \$), tiroidektominin maliyeti ise lobektomi veya total tiroidektomi olmasına göre değişmekle birlikte, 839-1105 TL(115-152 \$) aralığındadır. Bu maliyetler akla 'Moleküler testler için harcanan para, sağladığı faydayı karşılıyor mu?' sorusunu getirmektedir.

Yurtdışında moleküler test ile tiroidektominin maliyeti birbirine yakın olmakla birlikte, ülkemizde durum maalesef böyle değildir. Moleküler testlerin maliyeti, gerek İHK gerekse tiroidektominin onlarca kat üzerindedir. Ayrıca moleküler testlerin, gereksiz operasyon oranlarını düşürmediğini, tiroidektomi oranlarını değiştirmediğini, hatta lobektomi ve total tiroidektomi oranlarına bakıldığında ise total tiroidektomi oranlarını arttırdığını söyleyen çalışmalar da mevcuttur. [28, 33]

Bütün bu verilerin ışığında, İHK belirteçlerle, moleküler testlerle elde edilen sonuçlara tam olarak ulaşılammamakla birlikte, çok benzer sonuçlar elde etmek mümkündür. İHK'nın bütün patoloji laboratuvarlarında kolayca uygulanabilmesi, değerlendirmenin bütün patolojiler tarafından yapılabilmesi, maliyetinin moleküler testlerle kıyaslandığında çok çok düşük olması en önemli avantajlarıdır.

İHK çalışması yapılabilmesi için İİAB sırasında hücre bloğu elde edilmesi gerekmektedir. Ayrıca dört farklı belirtecin değerlendirilmesinde, zaman zaman gözlemciler arası veya gözlemci içi farklılıkların olması da göz ardı edilemez. Farklı merkezlerde belirteçler için farklı antikor klonlarının kullanılması, sonuçların tekrar edilebilirliğini etkileyebilir. Ancak dört belirtecin bir arada kullanılması ve skorlama sistemi sayesinde, bu etkinin göz ardı edilebilecek düzeyde olması beklenir.

Çalışmamızın kısıtlamalarına baktığımızda, (1) Bethesda III ve Bethesda IV tanısı alan hastaların sadece ¼'ü opere olmaktadır ve bunlar genellikle yüksek riskli hastalardır. Bu nedenle çalışmamızdaki malignite oranı gerçek hayatta görmeyi beklediğimizden çok daha yüksek saptanmıştır. Vakaların tamamı opere olsaydı, çalışmamızdaki malignite prevalansı düşecek, test performansımız yükselecekti. Ayrıca tüm vakalarımızın %7 kadarını, malign vakalarımızın ise %14 kadarını FK oluşturmaktadır. Tiroid malignitelerinin büyük çoğunluğunu (%90 kadarını) PTK, sadece %6-10 kadarını FK'lar oluşturmaktadır.[2] Bu rakamlar gerçek hayatla veya diğer çalışmalarla kıyaslandığında oldukça yüksektir. Bunun nedeni çalışmamızı yürüttüğümüz merkezin, 3. basamak üniversite hastanesi olması, ameliyat oranlarının yüksek olması ve az görülen antiteler açısından zengin olması olabilir. Birçok çalışmada neredeyse hiç FK bulunmamakta ya da çok sınırlı sayılarda FK vakası izlenmektedir. Foliküler karsinomaları İHK ile ayırt etmek, şimdilik pek mümkün görünmemektedir. Yüksek FK vaka sayımızın, uyumsuz vakalarımızı arttırdığı ve test performansımızı düşürdüğü göz önünde bulundurulmalıdır.

(2) Çalışmamızdaki vakalar tek sitopatolog tarafından değerlendirilmiş olup, başka bir sitopatolog tarafından değerlendirilme yapılmamıştır. Bu nedenle sonuçlarımızın tekrar edilebilirliği konusunda fikir sahibi olmamız mümkün görünmemektedir. (3) Çalışmamız retrospektif özellikte olduğundan, vakaların patoloji materyallerinde İHK boyalar tekrar

edilememiş, sadece hücre bloğuna ait İHK boyalı preparatlarda değerlendirme yapılmıştır. Bu nedenle İHK boyanma durumları açısından hücre bloğu ile patoloji materyalleri birbirleri ile karşılaştırılamamıştır. Son olarak (4) çalışmamız tek merkezli bir çalışma olup, sınırlı sayıda vakada, tek sitopatoloğun değerlendirmesi ile yapılmıştır.

Klinik ve radyolojik veriler eşliğinde, indetermine lezyonlarda, Bethesda III kategorisinde çok daha belirgin olmak üzere, İHK ve uygulanan skarlama sistemi hasta yönetiminde oldukça güçlü bir araçtır. Bethesda IV kategorisinde ise skarlamanın moleküler testlerle birlikte kullanımı fayda sağlayacaktır. İHK skarlama sistemi, gerekli durumlarda (Bethesda III) moleküler testlere alternatif olarak, gerekli olgularda (Bethesda IV) ise moleküler testler ile birlikte kullanılabilir.



8. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda, Bethesda III ve IV kategorilerinde yer alan geniş bir olgu serisinde, Galektin-3, HBME-1, CK19 ve CD56 antikorlarından oluşan bir immünsitokimya panelinin hücre bloğu materyellerinden tanısal değerinin belirlenmesi ve bu panelinin moleküler yöntemlere alternatif olup olamayacağı sorusunun yanıtının araştırılması amaçlanmıştır.

- Çalışmamıza Bethesda III tanısı alan 107 vaka ve Bethesda IV tanısı alan 92 vaka olmak üzere toplam 199 vaka dahil edilmiştir.

- Vakalara ait klinik parametreler (yaş, cinsiyet, lezyon yeri, lezyon boyutu) kaydedilmiştir.

- Cinsiyet dağılımında literatürde belirtildiği gibi kadın baskınlığı dikkati çekmiştir. (E/K:0.36)

- Hastaların ortalama yaşı 44.7, en yüksek yaş 81, en düşük yaş 9 olarak saptanmıştır.
- Vakalarda nodüllerin 98'u tiroidin sağ lobunda, 18'si istmusta, 83'u tiroidin sol lobunda yerleşim göstermektedir.

- Nodüllerin ortalama uzun çapı 21.5 mm olup, en büyük nodül uzun çapı 66 mm, en küçük ise 3 mm'dir.

- 199 vakanın 21 kadarında Galektin-3 ile anlamlı boyanma izlenmiştir. Malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyamıştır. (p=0.001) Bu vakaların histopatolojik tanısı 18'inde malign, 2'sinde ara kategoride, 1'inde ise benigndir.

- 199 vakanın 74 kadarında HBME1 ile anlamlı boyanma izlenmiştir. Malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyamıştır. (p=0.001) Bu vakaların histopatolojik tanısı 58'inde malign, 6'sında ara kategoride, 10'unda ise benigndir.

- 199 vakanın 78 kadarında CK19 ile anlamlı boyanma izlenmiştir. Malign vakalar, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık boyamıştır. (p=0.001) Bu vakaların histopatolojik tanısı 60'ında malign, 8'inde ara kategoride, 10'unda ise benigndir.

- 199 vakanın 60 kadarında CD56 ile anlamlı kabul edilen ifade kaybı izlenmiştir. Malign vakalarda, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha sık ifade kaybı dikkati çekmiştir. (p=0.001) Bu vakaların histopatolojik tanısı 39'unda malign, 6'sında ara kategoride, 15'inde ise benigndir.

- 199 vakanın 80 kadarı, skrolama sistemine göre 2 ve üzerinde puan almıştır. Malign vakalarda, benign olanlara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek skor saptanmıştır. (p=0.001) Bu vakaların histopatolojik tanısının 66'sında malign, 8'inde ara kategoride, 6'sında ise benigndir.

- Yapılan İHK skorumlama sistemine göre; Bethesda III kategoride 9 vaka, Bethesda IV kategoride 14 vaka olmak üzere toplam 23 vaka hatalı olarak sınıflandırılmıştır.
- Bethesda III kategoride 4 vaka yalancı negatif sonuç vermiştir. Bu vakaların 3 tanesi FV PTK, geriye kalan 1 tanesi ise FK'dur.
- Bethesda III kategorisinde yer alan, FV PTK tanısı almış vakaların %89'u doğru sınıflandırılırken, sadece %11 yanlış sınıflandırılmıştır.
- Bethesda III'te 4 vaka yalancı pozitif sonuç vermiştir. Bu vakaların 3 tanesi nodüler guatr, geriye kalan bir tanesi ise kronik lenfositik tiroiditistir.
- Bethesda III kategorisinde yer alan, nodüler guatr tanısı almış vakaların %93,5'i gibi büyük bir kısmı doğru sınıflandırılırken, sadece %6,5'si hatalı sınıflandırılmıştır. Kronik lenfositik tiroiditis tanısı almış vakaların ise %92 doğru, %8 ise hatalı sınıflandırılmıştır
- Bethesda IV kategoride 13 vaka yalancı negatif sonuç vermiştir. Bu vakaların, 9 tanesi ise FK, 3 tanesi iyi diferansiye karsinoma, 1 tanesi FV PTK'dır.
- Bethesda IV kategorisinde yer alan, FK tanısı almış vakaların büyük bir kısmı (%90) hatalı sınıflandırılmış, sadece %10'u doğru sınıflandırılabilmiştir.
- Bethesda IV kategorisinde yer alan, FV PTK tanısı alan vakaların %96 kadarı doğru sınıflandırılırken, sadece %4'ü hatalı sınıflandırılmıştır. İyi diferansiye karsinoma tanısı almış vakaların ancak yarısı doğru sınıflandırılmıştır.
- Ayrıca Bethesda IV'te 2 vaka yalancı pozitif sonuç vermiştir. Bu vakaların birinin tanısı foliküler adenom, diğeri ise nodüler guatrdır.
- Bethesda IV kategorisinde yer alan, nodüler guatr tanısı almış vakaların %95'i doğru sınıflandırılırken, sadece %5 hatalı sınıflandırılmıştır. Foliküler adenom tanısı almış vakaların ise %86 'sı doğru sınıflandırılırken, %14'ü hatalı sınıflandırılmıştır.
- Bethesda III kategorisinde 2 tane NIFTP, 3 tane UMPT vakası izlenirken, Bethesda IV kategorisinde 5 tane NIFTP, 5 tane UMPT vakası dikkati çekmiştir.
- Toplam 7 NIFTP vakası incelendiğinde, 5'sinin skoru 2 veya üstünde, ikisinin skoru '0' olarak saptanmış, ortalama skor 1,85 bulunmuştur. Genel olarak NIFTP vakaları malign vakalarda beklenen boyanma paternini göstermiştir.
- Toplam 8 UMPT vakası incelendiğinde, 6'sının skoru 2'nin altında iken, birinin skoru '2' ve birinin skoru '4' olarak saptanmış, ortalama skor 1 bulunmuştur. Genel olarak UMPT vakaları benign vakalarda beklenen boyanma paternini göstermiştir.
- **Belirteçlerin test performansları değerlendirilirken, gerçek hayata en uygun durum olarak NIFTP vakaları malign kabul edilmiş ve UMPT vakaları değerlendirilmeye alınmamıştır.** Buna göre;

- Galektin-3'ün sensitivite değeri %21.1, spesifite değeri %99, PPD %95, NPD %58.6 ve doğruluk oranı % 62.4'dir. Odds oranı 26.76'dır.
- HBME1'in sensitivite değeri %67.8, spesifite değeri %90.1, PPD %85.9, NPD %75.9 ve doğruluk oranı % 79.6'dır. Odds oranı 19.14'tür.
- CK19'un sensitivite değeri %72.2, spesifite değeri %90.1, PPD %86.6, NPD %78.5 ve doğruluk oranı % 81.7'dir. Odds oranı 23.66'dır.
- CD56'nın sensitivite değeri %47.8, spesifite değeri %85.2, PPD %74.1, NPD %64.8 ve doğruluk oranı % 67.6'dır. Odds oranı 5.24'tür.
- Sensitivitesi ve NPD'si en yüksek belirteç CK19'dur.
- Spesifitesi ve PPD'si en yüksek belirteç Galektin-3'tür.
- Doğruluk oranı en yüksek belirteç CK19'dur.
- Odds oranı en yüksek belirteç Galektin-3'tür.
- Skorumanın sensitivite değeri %78.9, spesifite değeri %94.1, PPD %92.2, NPD %83.4 ve doğruluk oranı % 86.9'dur. Odds oranı 59.17'dir.
- Tüm vakalar için, en iyi performansa sahip olan kombinasyon, HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyondur ve sensitivitesi %80.72, spesifitesi %84.16, doğruluk oranı %82.61, PPD %80.65 ve NPD %84.22'dir. Odds oranı 21.25'tir.
- Sensitivitesi %74.70, spesifitesi %90.10, doğruluk oranı %83.17, PPD %86 ve NPD %81.32 olmak üzere HBME1 ve Galektin-3 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyon, ikinci en iyi kombinasyondur. Odds oranı 25.03'tür.
- Bethesda III kategorisi için Galektin-3 ve CK19'dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyonun sensitivitesi %91.67, spesifitesi %87.50, doğruluk oranı %89.40, PPD %81.16'dır ve %94.70 ile tüm kategorilerde elde edilen en yüksek NPD görülmektedir. Odds oranı 63'tür.
- Bethesda III kategorisi için HBME1 ve CK19 belirteçlerinin birlikte boyanması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyonun, spesifite %96.88 ve PPD %93.83 ile en yüksek spesifite ve PPD'sine sahip olduğu görülmektedir. Odds oranı 106.78'dir.
- 'Rule-in' test olma özelliğini belirleyen PPD göz önüne alındığında, Bethesda IV kategorisinde, HBME1 ve Galektin-3'un herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyon dikkati çekmekte ve bu kombinasyonun sensitivitesi %68, spesifitesi %94.59, doğruluk oranı %79.44, PPD %94.34 ve NPD %79.44'tür. Odds oranı 37.19'dur.

- Bethesda IV'te en yüksek sensitivite ve NPD'ye HBME1 ve CK19'dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyonda ulaşılmaktadır. Bu kombinasyonun, sensitivitesi %73.33, spesifitesi %85.17, doğruluk oranı %79.40, PPD %84.23 ve NPD %75.54'tür. Odds oranı 29.14'tür.

- Tüm vakalar göz önüne alındığında, skarlama, en iyi test performans sonuçlarını göstermiştir. Ancak sınırlı imkana sahip olunması durumunda, CK19 belirteci tek başına oldukça yol göstericidir. Ayrıca HBME1 ve CK19 belirteçlerinden herhangi biriyle boyanma olması durumunda pozitif kabul edilen kombinasyon, günlük hayatta kullanılabilecek bir diğer alternatiftir.

- Bethesda III için, skarlama sisteminin test performansı açısından daha dengeli dağılım gösterdiği, hem PPD hem NPD'nin hem de doğruluk oranlarının eş zamanlı yüksek olduğu saptanmış ve bu kategori için en ideal test yöntemidir.

- Bethesda III kategorisinde sınırlı imkana sahip olunan durumlarda, tek başına CK19 belirteci veya Galektin-3 ve CK19'dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyon, skarlama iyi birer alternatiftir.

- Bethesda IV'te özellikle sensitivite ve NPD açısından kombinasyondan elde edilen değerler; spesifite, PPD ve doğruluk oranı açısından ise skarlama elde edilen veriler daha yüksektir.

- Bethesda IV kategoride özellikle sınırlı imkana sahip olunan durumlarda, HBME1 belirteci tek başına; HBME1 ve CK19'dan herhangi birinin pozitif olduğu kombinasyon, skarlama bir alternatif olabilir. Ancak NPD değeri ve doğruluk oranı diğer kategorilerdeki kadar yüksek olmadığından dikkatli olunmalıdır.

- İndetermine nodüllerin tanısından son zamanlar sıklıkla kullanılan, yüksek NPD ve PPD sahip moleküler testlerin validasyon çalışmalarının ardından, gerçek hayatta bu yöntemlerin kullanılması ile yeni veriler elde edilmiş ve moleküler testlerin test performansının validasyon çalışmalarındaki değerlere ulaşmadığı görülmüştür.

- Birçok validasyon çalışmasında, vakaların histopatolojik konfirmasyonu çok sınırlı sayıda olup, sensitivite ve spesifite değerleri hesaplanırken, histopatolojik olarak konfirmasyonu bulunmayan ve test sonucu negatif olan vakalar, gerçek negatif olarak kabul edilmektedir. Yalancı negatif vakaların gerçek oranı bilinmediğinden ve olduğundan düşük hesaplandığından dolayı, yüksek sensitivite ve spesifite değerleri elde edilmektedir.

- NPD ve PPD'nin, test edilen hastalığın prevalansından etkilenmesi, moleküler testlerin validasyon çalışmalarıyla gerçek hayattaki test performansları verilerin birbirinden farklı olmasının en önemli nedenidir.

- Hastalığın prevalansının yüksek olduğu durumda PPD yükselecek, NPD düşecektir ve prevalansının düşük olduğu durumda ise tam tersi karşımıza çıkacaktır.
- Malignite oranları farklı iki popülasyonda, birden fazla testin performansını sadece NPD ve PPD'sine bakarak kıyaslamak doğru değildir.
- Çalışmamızda Bethesda III ve IV'te saptanan malignite oranlarımız, TSBRS'de beklenenden daha fazla izlenmiştir. Prevalansımızın yüksek olması sonucunda, moleküler testlerle kıyaslandığında, skarlama ile, daha düşük NPD ve daha yüksek PPD elde edilmektedir.
- NPD ve PPD bir koşullu olasılık teoremi olan Bayes teoremine göre hesaplanmaktadır ve bu teoreme göre teorik olarak prevalanstaki değişimleri göz önüne alan eğriler çizmek mümkündür. Bu eğriler eşliğinde testlerin performanslarını kıyaslamak daha doğrudur.
- Çalışmamızın sonuçlarına göre elde edilen eğriler, Bethesda III kategorisinde daha belirgin olmak üzere, moleküler testlere ait eğrilere paralel özelliktedir. Bu da İHK skarlama sisteminin moleküler testlere benzer performans gösterdiğini işaret etmektedir.
- Skarlama sistemi %10 ve daha üstü prevalanslarda, iyi bir 'Rule in' test olmak için yeterli PPD değerlerine sahiptir (PPD: %60-100) ve bu durum gerçek hayatla örtüşmektedir.
- İndetermine tiroid nodüllerinin büyük bir kısmının benign olması nedeniyle (%70-80) testlerin 'Rule out' özellikleri, 'Rule in' özelliklerinden daha kıymetlidir.
- Skarlama sistemi özellikle Bethesda III kategorisinde %5-40 prevalansta, tüm vakalara değerlendirildiğinde %5-30 prevalansta, iyi bir 'Rule out' test için yeterli NPD değerlerine sahiptir (sırasıyla NPD: %93-99, %91-98), bu durum gerçek hayatla örtüşmektedir.
- Bethesda IV kategorisi için %5-20 prevalansta yeterli NPD değerlerine ulaşılmakta (NPD: %92-98) ancak bu durum Bethesda IV'un gerçek hayatta beklenen prevalansı ile pek uyumlu değildir.
- Moleküler testler ve tüm 'Rule out' testler düşünüldüğünde, benign vakaların büyük çoğunun opere olmaması, yalancı negatif vaka sayılarının olduğundan az hesaplanmasına neden olmaktadır. Kısıtlı vaka serilerinde ve takip süreleri kısa çalışmalarda, malign vakaların atlanıyor olması mümkündür.
- Moleküler testlerde Hürthle hücreli tümörler genellikle yanlış sonuç vermektedir. Çalışmamızda 5 adet Hürthle hücreli adenom bulunmaktadır ve skarlama sistemine göre tamamı doğru sınıflanmıştır.
- Moleküler testlerden 'Rule In' olanlar için ise preoperatif RAS mutasyonu ya da PAX8/PPARG füzyonu gibi moleküler değişikliklerin saptanmasının etkinliği şüphelidir. Benign lezyonlarda da RAS mutasyonu, RET/PTK, PAX8/PPARG füzyonunun saptandığı

bilinen bir durumdur. Buna karşılık olarak bazı malign vakalarda araştırılan mutasyonlardan hiçbirini gösterilememektedir. Mutasyon olmaması maligniteyi kesin olarak ekarte ettirememektedir.

- Özellikle Bethesda III ve Bethesda IV kategorisinde sık izlenen malignitelerden FK, FV PTK ile daha nadir izlenen az diferansiye ve anaplastik tiroid kanserleri ve foliküler adenomlarda moleküler testler daha az yardımcıdır. RAS mutasyonu; FK'da %30-50, FV-PTK'larda %30-44, az diferansiye tiroid kanserlerinde %20-50, anaplastik tiroid kanserlerinde %10-50, foliküler adenomlarda %25-30 oranında saptanmaktadır.

- İHK skorum sistemi FV PTK vakalarını %92 oranında büyük bir doğrulukla ayırt edebilmiştir.

- Moleküler testler oldukça pahalı yöntemlerdir. Ülkemizde gerekli altyapı sınırlı merkezde bulunmaktadır. Ancak kullanılan panelleri tamamı ticari olduğunda, bu testler ülkemizde yapılamamaktadır.

- Moleküler testler açısından fayda/maliyet oranı değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle İHK ile karşılaştırıldığında, moleküler testler onlarca kat fazla maliyete sahiptir.

- İndetermine nodüllerde moleküler testler ile özellikle negatif sonuç veren vakalar, genellikle opere edilmediğinden, bu vakaların gerçek malignite oranı, dolayısıyla testin gerçek performansı tam olarak bilinmemektedir.

- Bazı moleküler testlerde malign veya benign dışında arada yer alan sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu durumda bazı vakalar için bir bakıma en başa dönmek anlamına gelmekte ve belirsizlik sürmektedir.

- Testlerin performansı, prevalansın farklı olması ve birtakım diğer sebepler nedeniyle merkezden merkeze farklılık göstermektedir. Moleküler testlerin hasta yönetimindeki yeri hala sınırlıdır.

- Moleküler testler için özel solusyonlar içerisinde biriktirilmiş ve saklanmış materyaller yurtdışına yollanmalıdır. Bu durum ekstra girişim ve maliyete neden olmaktadır.

- İHK belirteçlerle, moleküler testlerle elde edilene çok benzer sonuçlar elde etmek mümkündür. İHK'nın bütün patoloji laboratuvarlarında kolayca uygulanabilmesi, değerlendirmenin bütün patologlar tarafından yapılabilmesi, maliyetinin moleküler testlerle kıyaslandığında çok çok düşük olması en önemli avantajlarıdır.

- İHK çalışması yapılabilmesi için İİAB sırasında hücre bloğu elde edilmek zorunda olunması kısıtlılıklarından biridir. Bir diğer kısıtlama ise özellikle Bethesda IV kategorisinde karşımıza çıkan foliküler karsinomaların İHK ile ayırt edilememesidir.

- Tiroid malignitelerinin büyük çoğunluğunu (%90 kadarını) PTK, sadece %6-10 kadarını FK'lar oluşturmaktadır. Skoring sistemi klasik PTK vakalarının tamamını, FV PTK vakalarını %92 oranında büyük bir doğrulukla ayırt edebilmiştir.

- Dört farklı belirtecin değerlendirilmesinde, zaman zaman gözlemciler arası veya gözlemci içi farklılıkların olması, farklı merkezlerde belirteçler için farklı antikor klonlarının ve eşik değerlerinin kullanılması, sonuçların tekrar edilebilirliğini etkileyebilir.

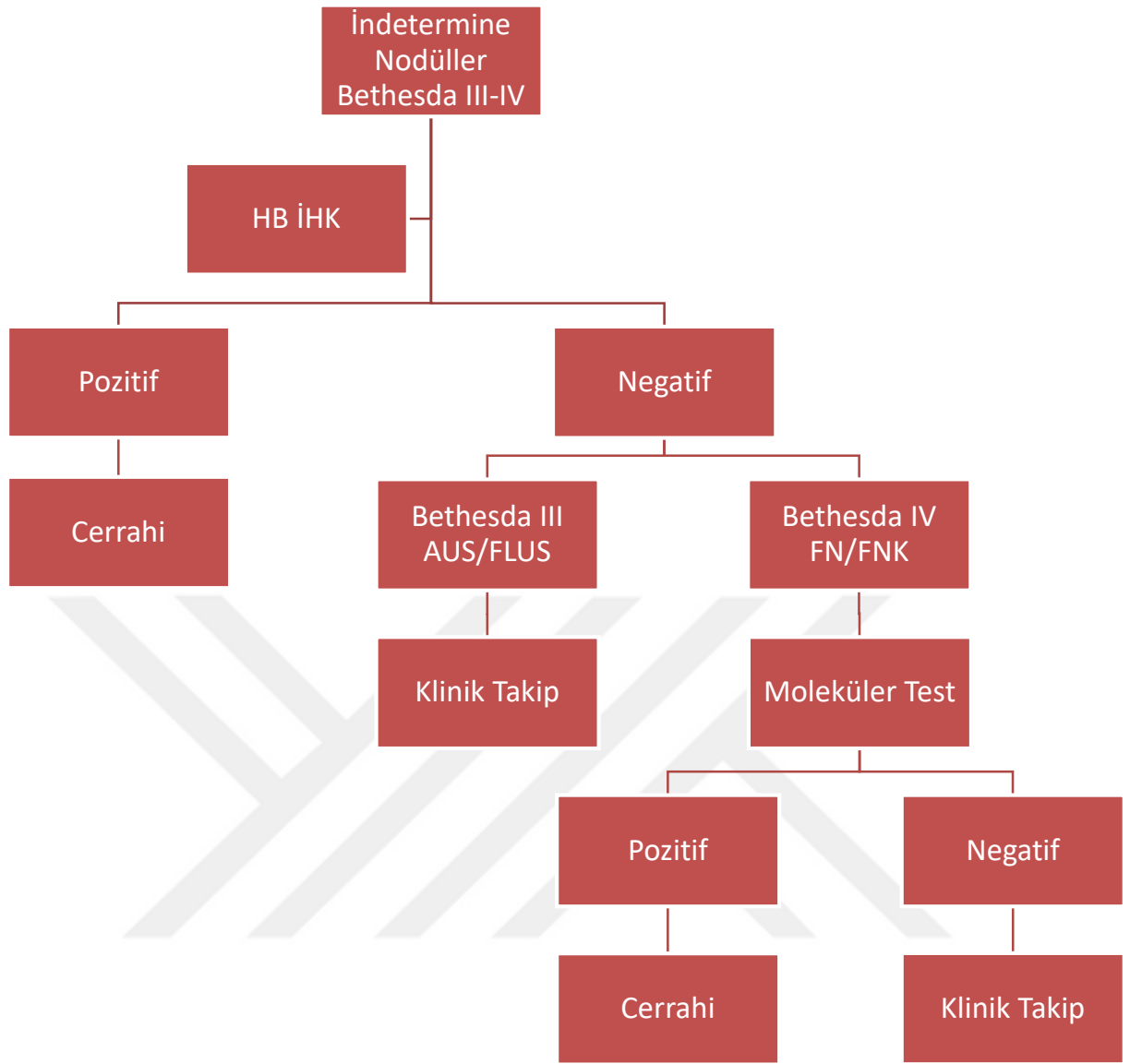
- Belirteçlerin performanslarının tek başlarına değerlendirilmemesi, dört belirtecin bir arada kullanılması ve skoring sistemi sayesinde, bu etkinin göz ardı edilebilecek düzeyde olması beklenir.

- Skoring sistemi ile indetermine vakalara, Bethesda III kategorisinde %93 oranında, Bethesda IV kategorisinde %82 oranında, Bethesda III ve IV bir arada ise %87 oranında doğru tanı verilebilmiştir.

- Sonuç olarak skoring sistemi, tiroid sitolojisinin %20-40'ını oluşturan indetermine kategorisini, %2.6-5.2 aralığına kadar düşürme potansiyeli taşımaktadır.

- Klinik ve radyolojik veriler eşliğinde, indetermine lezyonlarda, Bethesda III kategorisinde çok daha belirgin olmak üzere, İHK ve uygulanan skoring sistemi hasta yönetiminde oldukça güçlü bir araçtır. Bethesda IV kategorisinde ise özellikle skoring sonucu negatif vakalarda moleküler testlerle birlikte kullanımı fayda sağlayacaktır. (Tablo 8.1)

- İHK skoring sistemi, gerekli durumlarda (Bethesda III) moleküler testlere alternatif olarak, gerekli olgularda (Bethesda IV) ise moleküler testler ile birlikte/kombine kullanılabilir.



Şekil 8.1. İndetermine tiroid nodüller için önerilen tanı algoritması

9. KAYNAKÇA

1. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/thyro.html> 2021 [
2. Osamura RY. WHO classification of tumours of endocrine organs: IARC; 2017. 65-144 p.
3. <https://www.thyroid.org/thyroid-cancer/>. 2021.
4. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, ve ark. 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):1-133.
5. Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Second edition ed: Springer; 2018.
6. Wu HH, Inman A, Cramer HM. Subclassification of “atypia of undetermined significance” in thyroid fine-needle aspirates. *Diagnostic cytopathology*. 2014;42(1):23-9.
7. Kakudo K, Kameyama K, Miyauchi A, Nakamura H. Introducing the reporting system for thyroid fine-needle aspiration cytology according to the new guidelines of the Japan Thyroid Association. *Endocrine journal*. 2014;61(6):539-52.
8. Olson MT, Clark DP, Erozan YS, Ali SZ. Spectrum of risk of malignancy in subcategories of ‘atypia of undetermined significance’. *Acta cytologica*. 2011;55(6):518-25.
9. Valderrabano P, Khazai L, Thompson ZJ, Leon ME, Otto KJ, Hallanger-Johnson JE, ve ark. Cancer risk stratification of indeterminate thyroid nodules: a cytological approach. *Thyroid*. 2017;27(10):1277-84.
10. Ustun B, Chhieng D, Van Dyke A, Carling T, Holt E, Udelsman R, ve ark. Risk stratification in follicular neoplasm: a cytological assessment using the modified Bethesda classification. *Cancer cytopathology*. 2014;122(7):536-45.
11. Macias CA, Arumugam D, Arlow RL, Eng OS, Lu S-E, Javidian P, ve ark. A risk model to determine surgical treatment in patients with thyroid nodules with indeterminate cytology. *Annals of surgical oncology*. 2015;22(5):1527-32.
12. Rago T, Scutari M, Latrofa F, Loiacono V, Piaggi P, Marchetti I, ve ark. The large majority of 1520 patients with indeterminate thyroid nodule at cytology have a favorable outcome, and a clinical risk score has a high negative predictive value for a more cumbersome cancer disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(10):3700-7.

13. Margari N, Giovannopoulos I, Pouliakis A, Mastorakis E, Gouloumi AR, Panayiotides IG, ve ark. Application of immunocytochemistry on cell block sections for the investigation of thyroid lesions. *Acta cytologica*. 2018;62(2):137-44.
14. Jain D, Mathur S, Iyer V. Cell blocks in cytopathology: a review of preparative methods, utility in diagnosis and role in ancillary studies. *Cytopathology*. 2014;25(6):356-71.
15. Bizzarro T, Martini M, Marrocco C, D'Amato D, Traini E, Lombardi CP, ve ark. The role of CD56 in thyroid fine needle aspiration cytology: a pilot study performed on liquid based cytology. *PloS one*. 2015;10(7):e0132939.
16. Zhang L, Krausz T, DeMay RM. A pilot study of galectin-3, HBME-1, and p27 triple immunostaining pattern for diagnosis of indeterminate thyroid nodules in cytology with correlation to histology. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology*. 2015;23(7):481.
17. Fadda G, Rossi ED, Raffaelli M, Pontecorvi A, Sioletic S, Morassi F, ve ark. Follicular thyroid neoplasms can be classified as low-and high-risk according to HBME-1 and Galectin-3 expression on liquid-based fine-needle cytology. *European journal of endocrinology*. 2011;165(3):447.
18. Baloch Z, Mete O, Asa SL. Immunohistochemical biomarkers in thyroid pathology. *Endocrine pathology*. 2018;29(2):91-112.
19. Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry E-Book: Theranostic and Genomic Applications*: Elsevier Health Sciences; 2017.
20. Dunderović D, Lipkovski JM, Boričić I, Soldatović I, Božić V, Cvejić D, ve ark. Defining the value of CD56, CK19, Galectin 3 and HBME-1 in diagnosis of follicular cell derived lesions of thyroid with systematic review of literature. *Diagnostic pathology*. 2015;10(1):1-18.
21. Ferraz C. Can current molecular tests help in the diagnosis of indeterminate thyroid nodule FNAB? *Archives of endocrinology and metabolism*. 2018;62(6):576-84.
22. Rao SN, Bernet V. Indeterminate thyroid nodules in the era of molecular genomics. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2020;8(9):e1288.
23. Macerola E, Basolo F. Current methodologies for molecular screening of thyroid nodules. *Gland surgery*. 2018;7(Suppl 1):S1.
24. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, ve ark. Impact of the multi-gene 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(11):1217-23.

25. Kumar N, Gupta R, Gupta S. Molecular testing in diagnosis of indeterminate thyroid cytology: trends and drivers. *Diagnostic Cytopathology*. 2020;48(11):1144-51.
26. Nishino M. Molecular cytopathology for thyroid nodules: a review of methodology and test performance. *Cancer cytopathology*. 2016;124(1):14-27.
27. Nishino M, Nikiforova M. Update on molecular testing for cytologically indeterminate thyroid nodules. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2018;142(4):446-57.
28. Valderrabano P, Khazai L, Thompson ZJ, Leon ME, Otto KJ, Hallanger-Johnson JE, ve ark. Impact of oncogene panel results on surgical management of cytologically indeterminate thyroid nodules. *Head & neck*. 2018;40(8):1812-23.
29. Valderrabano P, Leon ME, Centeno BA, Otto KJ, Khazai L, McCaffrey JC, ve ark. Institutional prevalence of malignancy of indeterminate thyroid cytology is necessary but insufficient to accurately interpret molecular marker tests. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(5):621-9.
30. Valderrabano P, Hallanger-Johnson JE, Thapa R, Wang X, McIver B. Comparison of postmarketing findings vs the initial clinical validation findings of a thyroid nodule gene expression classifier: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2019;145(9):783-92.
31. Marcadis AR, Valderrabano P, Ho AS, Tepe J, Swartzwelder CE, Byrd S, ve ark. Interinstitutional variation in predictive value of the ThyroSeq v2 genomic classifier for cytologically indeterminate thyroid nodules. *Surgery*. 2019;165(1):17-24.
32. Taye A, Gurciullo D, Miles BA, Gupta A, Owen RP, Inabnet III WB, ve ark. Clinical performance of a next-generation sequencing assay (ThyroSeq v2) in the evaluation of indeterminate thyroid nodules. *Surgery*. 2018;163(1):97-103.
33. Morris LG. Molecular Profiling of Thyroid Nodules—Are These Findings Meaningful, or Merely Measurable?: A Review. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2020;146(9):845-50.
34. Vargas-Salas S, Martínez JR, Urrea S, Domínguez JM, Mena N, Uslar T, ve ark. Genetic testing for indeterminate thyroid cytology: review and meta-analysis. *Endocrine-related cancer*. 2018;25(3):R163-R77.
35. Sciacchitano S, Lavra L, Ulivieri A, Magi F, De Francesco GP, Bellotti C, ve ark. Comparative analysis of diagnostic performance, feasibility and cost of different test-methods for thyroid nodules with indeterminate cytology. *Oncotarget*. 2017;8(30):49421.
36. Mills S. *Histology for pathologists*: Lippincott Williams & Wilkins; 2019.

37. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Trkiye_Kanser_statistikleri_2016.pdf 2016 [
38. Bejarano PA, Nikiforov YE, Swenson ES, Biddinger PW. Thyroid transcription factor-1, thyroglobulin, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in thyroid neoplasms. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2000;8(3):189-94.
39. Torregrossa L, Faviana P, Camacci T, Materazzi G, Berti P, Minuto M, ve ark. Galectin-3 is highly expressed in nonencapsulated papillary thyroid carcinoma but weakly expressed in encapsulated type; comparison with Hector Battifora mesothelial cell 1 immunoreactivity. *Human pathology*. 2007;38(10):1482-8.
40. Casey MB, Lohse CM, Lloyd RV. Distinction between papillary thyroid hyperplasia and papillary thyroid carcinoma by immunohistochemical staining for cytokeratin 19, galectin-3, and HBME-1. *Endocrine pathology*. 2003;14(1):55-60.
41. Rosai J, LiVolsi VA, Sobrinho-Simoes M, Williams E. Renaming papillary microcarcinoma of the thyroid gland: the Porto proposal. *International journal of surgical pathology*. 2003;11(4):249-51.
42. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nature Reviews Endocrinology*. 2011;7(10):569.
43. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(3):184-99.
44. Cohen Y, Xing M, Mambo E, Guo Z, Wu G, Trink B, ve ark. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003;95(8):625-7.
45. Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer research*. 2003;63(7):1454-7.
46. Agrawal N, Akbani R, Aksoy BA, Ally A, Arachchi H, Asa SL, ve ark. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell*. 2014;159(3):676-90.
47. Seethala R, Asa S, Bullock M. Protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the thyroid gland 2017. 2018.
48. Prasad ML, Pellegata NS, Huang Y, Nagaraja HN, de la Chapelle A, Kloos RT. Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME1 and cytokeratin-19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Modern pathology*. 2005;18(1):48-57.
49. Jeong S, Hong H, Kwak J, Lee E. Analysis of RAS mutation and PAX8/PPAR γ rearrangements in follicular-derived thyroid neoplasms in a Korean population: frequency and ultrasound findings. *Journal of endocrinological investigation*. 2015;38(8):849-57.

50. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW, Tallini G, ve ark. RAS point mutations and PAX8-PPAR γ rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(5):2318-26.
51. Vuong HG, Kondo T, Oishi N, Nakazawa T, Mochizuki K, Inoue T, ve ark. Genetic alterations of differentiated thyroid carcinoma in iodine-rich and iodine-deficient countries. *Cancer medicine*. 2016;5(8):1883-9.
52. Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocrine-related cancer*. 2016;23(3):R143-R55.
53. Liu Z, Zhou G, Nakamura M, Koike E, Li Y, Ozaki T, ve ark. Encapsulated follicular thyroid tumor with equivocal nuclear changes, so-called well-differentiated tumor of uncertain malignant potential: a morphological, immunohistochemical, and molecular appraisal. *Cancer science*. 2011;102(1):288-94.
54. Hofman V, Lassalle S, Bonnetaud C, Butori C, Loubatier C, Ilie M, ve ark. Thyroid tumours of uncertain malignant potential: frequency and diagnostic reproducibility. *Virchows Archiv*. 2009;455(1):21-33.
55. Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, Baloch ZW, Basolo F, Thompson LD, ve ark. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors. *JAMA oncology*. 2016;2(8):1023-9.
56. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R, ve ark. 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(8):1256-64.
57. Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, ve ark. Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2003;21(17):3226-35.
58. Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, ve ark. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(11):5399-404.
59. Bishop JA, Sharma R, Westra WH. PAX8 immunostaining of anaplastic thyroid carcinoma: a reliable means of discerning thyroid origin for undifferentiated tumors of the head and neck. *Human pathology*. 2011;42(12):1873-7.

60. Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, Rivera M, Ghossein R. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms. *Modern Pathology*. 2008;21(2):192-200.
61. Malaguarnera R, Vella V, Vigneri R, Frasca F. p53 family proteins in thyroid cancer. *Endocrine-related cancer*. 2007;14(1):43-60.
62. Boltze C, Roessner A, Landt O, Szibor R, Peters B, Schneider-Stock R. Homozygous proline at codon 72 of p53 as a potential risk factor favoring the development of undifferentiated thyroid carcinoma. *International journal of oncology*. 2002;21(5):1151-4.
63. Kunstman JW, Juhlin CC, Goh G, Brown TC, Stenman A, Healy JM, ve ark. Characterization of the mutational landscape of anaplastic thyroid cancer via whole-exome sequencing. *Human molecular genetics*. 2015;24(8):2318-29.
64. Dvorakova S, Vaclavikova E, Sykorova V, Vcelak J, Novak Z, Duskova J, ve ark. Somatic mutations in the RET proto-oncogene in sporadic medullary thyroid carcinomas. *Molecular and cellular endocrinology*. 2008;284(1-2):21-7.
65. Moura M, Cavaco B, Pinto A, Domingues R, Santos J, Cid M, ve ark. Correlation of RET somatic mutations with clinicopathological features in sporadic medullary thyroid carcinomas. *British journal of cancer*. 2009;100(11):1777-83.
66. Ciampi R, Mian C, Fugazzola L, Cosci B, Romei C, Barollo S, ve ark. Evidence of a low prevalence of RAS mutations in a large medullary thyroid cancer series. *Thyroid*. 2013;23(1):50-7.
67. Hiltzik D, Carlson DL, Tuttle RM, Chuai S, Ishill N, Shaha A, ve ark. Poorly differentiated thyroid carcinomas defined on the basis of mitosis and necrosis: a clinicopathologic study of 58 patients. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2006;106(6):1286-95.
68. Bai S, Baloch ZW, Samulski TD, Montone KT, LiVolsi VA. Poorly differentiated oncocyctic (Hürthle cell) follicular carcinoma: an institutional experience. *Endocrine pathology*. 2015;26(2):164-9.
69. Gasparre G, Porcelli AM, Bonora E, Pennisi LF, Toller M, Iommarini L, ve ark. Disruptive mitochondrial DNA mutations in complex I subunits are markers of oncocyctic phenotype in thyroid tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(21):9001-6.
70. Gasparre G, Bonora E, Tallini G, Romeo G. Molecular features of thyroid oncocyctic tumors. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010;321(1):67-76.
71. Máximo V, Botelho T, Capela J, Soares P, Lima J, Taveira A, ve ark. Somatic and germline mutation in GRIM-19, a dual function gene involved in mitochondrial metabolism

and cell death, is linked to mitochondrion-rich (Hürthle cell) tumours of the thyroid. *British Journal of Cancer*. 2005;92(10):1892-8.

72. Nakamura N, Erickson LA, Jin L, Kajita S, Zhang H, Qian X, ve ark. Immunohistochemical separation of follicular variant of papillary thyroid carcinoma from follicular adenoma. *Endocrine pathology*. 2006;17(3):213-23.

73. Nikiforova MN, Biddinger PW, Caudill CM, Kroll TG, Nikiforov YE. PAX8-PPARGgamma rearrangement in thyroid tumors: RT-PCR and immunohistochemical analyses. *Am J Surg Pathol*. 2002;26(8):1016-23.

74. Afkhami M, Karunamurthy A, Chiosea S, Nikiforova MN, Seethala R, Nikiforov YE, ve ark. Histopathologic and Clinical Characterization of Thyroid Tumors Carrying the BRAF(K601E) Mutation. *Thyroid*. 2016;26(2):242-7.

75. Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: a meta-analysis. *Acta Cytol*. 2012;56(4):333-9.

76. Straccia P, Rossi ED, Bizzarro T, Brunelli C, Cianfrini F, Damiani D, ve ark. A meta-analytic review of the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: Has the rate of malignancy in indeterminate lesions been underestimated? *Cancer Cytopathol*. 2015;123(12):713-22.

77. 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(2):97-110.

78. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, ve ark. 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(23):3627-34.

79. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, Cibas ES, Chudova D, Diggans J, ve ark. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(8):705-15.

80. Twining CL, Lupo MA, Tuttle RM. Implementing key changes in the American Thyroid Association 2015 thyroid nodules/differentiated thyroid cancer guidelines across practice types. *Endocrine Practice*. 2018;24(9):833-40.

81. Hoda SA, Hoda RS. Diagnostic Histopathology of Tumors. *American Journal of Clinical Pathology*. 2020;155(1):148-9.

82. Nambirajan A, Jain D. Cell blocks in cytopathology: an update. *Cytopathology*. 2018;29(6):505-24.

83. Zhou X-H, McClish DK, Obuchowski NA. Statistical methods in diagnostic medicine: John Wiley & Sons; 2009.
84. Michael CW, Kameyama K, Kitagawa W, Azar N. Rapid on-site evaluation (ROSE) for fine needle aspiration of thyroid: benefits, challenges and innovative solutions. *Gland Surgery*. 2020;9(5):1708.
85. Chamorro FMM, Calle JA, Stein JE, Merchancano L, Briñez AMM, Wilches AAP. Experience of the Implementation of rapid on-site evaluation in ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules. *Current problems in diagnostic radiology*. 2018;47(4):220-4.
86. Pastorello RG, Destefani C, Pinto PH, Credidio CH, Reis RX, Rodrigues TdA, ve ark. The impact of rapid on-site evaluation on thyroid fine-needle aspiration biopsy: A 2-year cancer center institutional experience. *Cancer cytopathology*. 2018;126(10):846-52.
87. Zhu W, Michael CW. How important is on-site adequacy assessment for thyroid FNA? An evaluation of 883 cases. *Diagnostic cytopathology*. 2007;35(3):183-6.
88. Sanchez A, Bocklage T. Precision cytopathology: expanding opportunities for biomarker testing in cytopathology. *Journal of the American Society of Cytopathology*. 2019;8(2):95-115.
89. Yoon RG, Baek JH, Lee JH, Choi YJ, Hong MJ, Song DE, ve ark. Diagnosis of thyroid follicular neoplasm: fine-needle aspiration versus core-needle biopsy. *Thyroid*. 2014;24(11):1612-7.
90. Sung JY, Na DG, Kim KS, Yoo H, Lee H, Kim J-h, ve ark. Diagnostic accuracy of fine-needle aspiration versus core-needle biopsy for the diagnosis of thyroid malignancy in a clinical cohort. *European radiology*. 2012;22(7):1564-72.
91. Suh CH, Baek JH, Lee JH, Choi YJ, Kim KW, Lee J, ve ark. The role of core-needle biopsy in the diagnosis of thyroid malignancy in 4580 patients with 4746 thyroid nodules: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2016;54(2):315-28.
92. Xu X-C, El-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *The American journal of pathology*. 1995;147(3):815.
93. Saggiorato E, Cappia S, De Giuli P, Mussa A, Pancani G, Caraci P, ve ark. Galectin-3 as a presurgical immunocytochemical marker of minimally invasive follicular thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001;86(11):5152-8.
94. Gasbarri A, Martegani MP, Del Prete F, Lucante T, Natali PG, Bartolazzi A. Galectin-3 and CD44v6 isoforms in the preoperative evaluation of thyroid nodules. *Journal of Clinical Oncology*. 1999;17(11):3494-502.

95. Inohara H, Honjo Y, Yoshii T, Akahani S, Yoshida Ji, Hattori K, ve ark. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 1999;85(11):2475-84.
96. Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Modern pathology*. 2001;14(4):338-42.
97. Sack MJ, Astengo-Osuna C, Lin B, Battifora H, LiVolsi VA. HBME-1 immunostaining in thyroid fine-needle aspirations: a useful marker in the diagnosis of carcinoma. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1997;10(7):668-74.
98. Kwaspen F, Smedts F, Broos A, Bulten H, Debie W, Ramaekers F. Reproducible and highly sensitive detection of the broad spectrum epithelial marker keratin 19 in routine cancer diagnosis. *Histopathology*. 1997;31(6):503-16.
99. Sethi K, Sarkar S, Das S, Mohanty B, Mandal M. Biomarkers for the diagnosis of thyroid cancer. *Journal of experimental therapeutics & oncology*. 2010;8(4).
100. Sahoo S, Hoda SA, Rosai J, DeLellis RA. Cytokeratin 19 immunoreactivity in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: a note of caution. *American journal of clinical pathology*. 2001;116(5):696-702.
101. Kragsterman B, Grimelius L, Wallin G, Werga P, Johansson H. Cytokeratin 19 expression in papillary thyroid carcinoma. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999;7(3):181.
102. Raphael SJ, Apel RL, Asa SL. Brief report: detection of high-molecular-weight cytokeratins in neoplastic and non-neoplastic thyroid tumors using microwave antigen retrieval. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1995;8(8):870-2.
103. Gratsa A, Rooprai H, Rogers J, Martin K, Pilkington G. Correlation of expression of NCAM and GD3 ganglioside to motile behaviour in neoplastic glia. *Anticancer research*. 1997;17(6B):4111-7.
104. El Demellawy D, Nasr A, Alowami S. Application of CD56, P63 and CK19 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. *Diagnostic pathology*. 2008;3(1):1-12.
105. Scarpino S, Di Napoli A, Melotti F, Talerico C, Cancrini A, Ruco L. Papillary carcinoma of the thyroid: low expression of NCAM (CD56) is associated with downregulation of VEGF-D production by tumour cells. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2007;212(4):411-9.

106. Park WY, Jeong SM, Lee JH, Kang HJ, Sin DH, Choi KU, ve ark. Diagnostic value of decreased expression of CD56 protein in papillary carcinoma of the thyroid gland. *Basic and Applied Pathology*. 2009;2(2):63-8.
107. Cho H, Kim JY, Oh YL. Diagnostic value of HBME-1, CK19, Galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathology international*. 2018;68(11):605-13.
108. Pyo J-S, Kim D-H, Yang J. Diagnostic value of CD56 immunohistochemistry in thyroid lesions. *The International journal of biological markers*. 2018;33(2):161-7.
109. Abouhashem NS, Talaat SM. Diagnostic utility of CK19 and CD56 in the differentiation of thyroid papillary carcinoma from its mimics. *Pathology-Research and Practice*. 2017;213(5):509-17.
110. Shioda T, Fenner MH, Isselbacher KJ. msg1, a novel melanocyte-specific gene, encodes a nuclear protein and is associated with pigmentation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(22):12298-303.
111. Fenner MH, Parrish JE, Boyd Y, Reed V, MacDonald M, Nelson DL, ve ark. MSG1 (melanocyte-specific gene 1): mapping to chromosome Xq13. 1, genomic organization, and promoter analysis. *Genomics*. 1998;51(3):401-7.
112. Tastekin E, Keskin E, Can N, Canberk S, Mut A, Erdogan E, ve ark. CD56, CD57, HBME1, CK19, Galectin-3 and p63 immunohistochemical stains in differentiating diagnosis of thyroid benign/malign lesions and NIFTP. *Polish journal of pathology: official journal of the Polish Society of Pathologists*. 2019;70(4):286-94.
113. Cheifetz RE, Davis NL, Robinson BW, Berean KW, LeRiche JC. Differentiation of thyroid neoplasms by evaluating epithelial membrane antigen, Leu-7 antigen, epidermal growth factor receptor, and DNA content. *The American journal of surgery*. 1994;167(5):531-4.
114. Ghali VS, Jimenez EJ, Garcia RL. Distribution of Leu-7 antigen (HNK-1) in thyroid tumors: its usefulness as a diagnostic marker for follicular and papillary carcinomas. *Human pathology*. 1992;23(1):21-5.
115. Kloos RT. Molecular profiling of thyroid nodules: current role for the Afirma gene expression classifier on clinical decision making. *Molecular imaging and radionuclide therapy*. 2017;26(Suppl 1):36.
116. Patel KN, Angell TE, Babiarz J, Barth NM, Blevins T, Duh Q-Y, ve ark. Performance of a genomic sequencing classifier for the preoperative diagnosis of cytologically indeterminate thyroid nodules. *JAMA surgery*. 2018;153(9):817-24.

117. Angell TE, Heller HT, Cibas ES, Barletta JA, Kim MI, Krane JF, ve ark. Independent comparison of the Afirma genomic sequencing classifier and gene expression classifier for cytologically indeterminate thyroid nodules. *Thyroid*. 2019;29(5):650-6.
118. Harrell RM, Eyerly-Webb SA, Golding AC, Edwards CM, Bimston DN. Statistical comparison of Afirma GSC and Afirma GEC outcomes in a community endocrine surgical practice: early findings. *Endocrine Practice*. 2019;25(2):161-4.
119. Li M-h, Fu S-b, Xiao H-s. Genome-wide analysis of microRNA and mRNA expression signatures in cancer. *Acta pharmacologica Sinica*. 2015;36(10):1200-11.
120. Lithwick-Yanai G, Dromi N, Shtabsky A, Morgenstern S, Strenov Y, Feinmesser M, ve ark. Multicentre validation of a microRNA-based assay for diagnosing indeterminate thyroid nodules utilising fine needle aspirate smears. *Journal of clinical pathology*. 2017;70(6):500-7.
121. Benjamin H, Schnitzer-Perlman T, Shtabsky A, VandenBussche CJ, Ali SZ, Kolar Z, ve ark. Analytical validity of a microRNA-based assay for diagnosing indeterminate thyroid FNA smears from routinely prepared cytology slides. *Cancer cytopathology*. 2016;124(10):711-21.
122. Labourier E, Shifrin A, Busseniers AE, Lupo MA, Manganelli ML, Andruss B, ve ark. Molecular testing for miRNA, mRNA, and DNA on fine-needle aspiration improves the preoperative diagnosis of thyroid nodules with indeterminate cytology. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(7):2743-50.
123. Hsiao SJ, Nikiforov YE. Molecular approaches to thyroid cancer diagnosis. *Endocrine-related cancer*. 2014;21(5):T301-T13.
124. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Klopper JP, Zhu Z, ve ark. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(6):2092-8.
125. Lupo MA, Walts AE, Sistrunk JW, Giordano TJ, Sadow PM, Massoll N, ve ark. Multiplatform molecular test performance in indeterminate thyroid nodules. *Diagnostic cytopathology*. 2020;48(12):1254-64.
126. Ablordeppey KK, Timmaraju VA, Song-Yang JW, Yaqoob S, Narick C, Mireskandari A, ve ark. Development and analytical validation of an expanded mutation detection panel for next-generation sequencing of thyroid nodule aspirates. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2020;22(3):355-67.
127. Valderrabano P, Khazai L, Leon ME, Thompson ZJ, Ma Z, Chung CH, ve ark. Evaluation of ThyroSeq v2 performance in thyroid nodules with indeterminate cytology. *Endocrine-related cancer*. 2017;24(3):127-36.

128. Steward DL, Carty SE, Sippel RS, Yang SP, Sosa JA, Sipos JA, ve ark. Performance of a multigene genomic classifier in thyroid nodules with indeterminate cytology: a prospective blinded multicenter study. *JAMA oncology*. 2019;5(2):204-12.
129. Abram M, Huhtamella R, Kalfert D, Hakso-Mäkinen H, Ludvíková M, Kholová I. The Role of Cell Blocks and Immunohistochemistry in Thyroid Atypia of Undetermined Significance/Follicular Lesion of Undetermined Significance Bethesda Category. *Acta Cytologica*. 2021;1-7.
130. Abu-Sinna E, Hasan M, El-Deftar M, Amer S, Abdelsalam L, Nakhla J. Galectin-3 and HBME-1 expression on agarose cell blocks from fine-needle aspirates of follicular cell-derived thyroid tumors. *Journal of cytology*. 2018;35(1):27.
131. Jang MH, Jung KC, Min HS. The diagnostic usefulness of HMGA2, survivin, CEACAM6, and SFN/14-3-3 δ in follicular thyroid carcinoma. *Journal of pathology and translational medicine*. 2015;49(2):112.
132. Park YJ, Kwak SH, Kim DC, Kim H, Choe G, Park DJ, ve ark. Diagnostic value of galectin-3, HBME-1, cytokeratin 19, high molecular weight cytokeratin, cyclin D1 and p27kip1 in the differential diagnosis of thyroid nodules. *Journal of Korean medical science*. 2007;22(4):621.
133. Scognamiglio T, Hyjek E, Kao J, Chen Y-T. Diagnostic usefulness of HBME1, galectin-3, CK19, and CITED1 and evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma. *American journal of clinical pathology*. 2006;126(5):700-8.
134. Barut F, Kandemir NO, Bektas S, Bahadir B, Keser S, Ozdamar SO. Universal markers of thyroid malignancies: galectin-3, HBME-1, and cytokeratin-19. *Endocrine pathology*. 2010;21(2):80-9.
135. Nechifor-Boila A, Catana R, Loghin A, Radu TG, Borda A. Diagnostic value of HBME-1, CD56, Galectin-3 and Cytokeratin-19 in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumors of uncertain malignant potential. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55(1):49-56.
136. Trimboli P, Guidobaldi L, Amendola S, Nasrollah N, Romanelli F, Attanasio D, ve ark. Galectin-3 and HBME-1 improve the accuracy of core biopsy in indeterminate thyroid nodules. *Endocrine*. 2016;52(1):39-45.
137. Song S, Kim H, Ahn S-H. Role of immunohistochemistry in fine needle aspiration and core needle biopsy of thyroid nodules. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. 2019;12(2):224.

138. Wiseman SM, Melck A, Masoudi H, Ghaidi F, Goldstein L, Gown A, ve ark. Molecular phenotyping of thyroid tumors identifies a marker panel for differentiated thyroid cancer diagnosis. *Annals of surgical oncology*. 2008;15(10):2811-26.
139. Liu YY, Morreau H, Kievit J, Romijn JA, Carrasco N, Smit JW. Combined immunostaining with galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, Hector Battifora mesothelial-1, cytokeratin-19, peroxisome proliferator-activated receptor- γ , and sodium/iodide symporter antibodies for the differential diagnosis of non-medullary thyroid carcinoma. *European Journal of Endocrinology*. 2008;158(3):375-84.
140. El Demellawy D, Nasr AL, Babay S, Alowami S. Diagnostic utility of CD56 immunohistochemistry in papillary carcinoma of the thyroid. *Pathology-Research and Practice*. 2009;205(5):303-9.
141. Zhu X, Sun T, Lu H, Zhou X, Lu Y, Cai X, ve ark. Diagnostic significance of CK19, RET, galectin-3 and HBME-1 expression for papillary thyroid carcinoma. *Journal of clinical pathology*. 2010;63(9):786-9.
142. Shahebrahimi K, Madani SH, Fazaeli AR, Khazaei S, Kanani M, Keshavarz A. Diagnostic value of CD56 and nm23 markers in papillary thyroid carcinoma. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2013;56(1):2.
143. Nechifor-Boila A, Borda A, Sassolas G, Hafdi-Nejjari Z, Borson-Chazot F, Lifante JC, ve ark. Immunohistochemical markers in the diagnosis of papillary thyroid carcinomas: The promising role of combined immunostaining using HBME-1 and CD56. *Pathology-Research and Practice*. 2013;209(9):585-92.
144. Papotti M, Rodriguez J, De Pompa R, Bartolazzi A, Rosai J. Galectin-3 and HBME-1 expression in well-differentiated thyroid tumors with follicular architecture of uncertain malignant potential. *Modern Pathology*. 2005;18(4):541-6.
145. Varghese S, Martin AK, Russell D, McMahon L, Fiscella J, editors. Comparison of immunohistochemistry staining performed on cell blocks versus surgical blocks from the same tumor. *LABORATORY INVESTIGATION*; 2017: NATURE PUBLISHING GROUP 75 VARICK ST, 9TH FLR, NEW YORK, NY 10013-1917 USA.
146. Vance J, Durbin K, Manglik N, Gilani SM. Diagnostic utility of cell block in fine needle aspiration cytology of thyroid gland. *Diagnostic cytopathology*. 2019;47(12):1245-50.
147. Horton M, Been L, Starling C, Traweek ST. The utility of cellient cell blocks in low-cellularity thyroid fine needle aspiration biopsies. *Diagnostic cytopathology*. 2016;44(9):737-41.

148. Li J, Li H, Yang Y, Zhang X, Qian L. The KWAK TI-RADS and 2015 ATA guidelines for medullary thyroid carcinoma: Combined with cell block-assisted ultrasound-guided thyroid fine-needle aspiration. *Clinical endocrinology*. 2020;92(5):450-60.
149. Jiang K, Zhou J, Lei J, Liu Y, Li J, Su X, ve ark. Cell block is a valuable adjunct to conventional smear for thyroid fine needle aspiration: 2395 cases with histological correlation. *Cytopathology*. 2018;29(6):525-30.
150. Birgi E, Ergun O, Türkmenoğlu TT, Tatar İG, Durmaz HA, Hekimoğlu B. The contribution of vacuum-assisted modified Menghini type needle to diagnosis of US-guided fine needle aspiration biopsy of the thyroid. *Diagnostic and Interventional Radiology*. 2016;22(2):173.
151. Wuertz FG, Kresnik E, Malle P, Hyden M, Lind P, Rogatsch H, ve ark. Fine-needle aspiration with immunohistochemistry using a modified scrape cell block technique for the diagnosis of thyroid and parathyroid nodules. *Acta cytologica*. 2016;60(2):118-30.
152. Srebotnik Kirbiš I, Strojani Fležar M. Cell count-based triaging of cytology samples for cell block preparation. *Cytopathology*. 2017;28(3):216-20.
153. Shidham VB, Layfield LJ. Cell-blocks and immunohistochemistry. *CytoJournal*. 2021;18.
154. Ahn S-H. Usage and Diagnostic Yield of Fine-Needle Aspiration Cytology and Core Needle Biopsy in Thyroid Nodules: A Systematic Review and Meta-Analysis of Literature Published by Korean Authors. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. 2021;14(1):116.
155. Pantanowitz L, Thompson LD, Jing X, Rossi ED. Is thyroid core needle biopsy a valid compliment to fine needle aspiration? *Journal of the American Society of Cytopathology*. 2020.
156. Suh C, Baek J, Park C, Choi Y, Lee J. The role of core needle biopsy for thyroid nodules with initially indeterminate results on previous fine-needle aspiration: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Neuroradiology*. 2017;38(7):1421-6.
157. Novoa E, Gürtler N, Arnoux A, Kraft M. Role of ultrasound-guided core-needle biopsy in the assessment of head and neck lesions: a meta-analysis and systematic review of the literature. *Head & neck*. 2012;34(10):1497-503.
158. Hakala T, Kholová I, Sand J, Saaristo R, Kellokumpu-Lehtinen P. A core needle biopsy provides more malignancy-specific results than fine-needle aspiration biopsy in thyroid nodules suspicious for malignancy. *Journal of clinical pathology*. 2013;66(12):1046-50.
159. Yoon JH, Kwak JY, Moon HJ, Kim E-K. Ultrasonography-guided core needle biopsy did not reduce diagnostic lobectomy for thyroid nodules diagnosed as atypia of

undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance. *Ultrasound quarterly*. 2019;35(3):253-8.

160. Shidham VB. CellBlockistry: Chemistry and art of cell-block making—A detailed review of various historical options with recent advances. *Cytojournal*. 2019;16.

161. Kim MJ, Kim E-K, Park SI, Kim BM, Kwak JY, Kim SJ, ve ark. US-guided fine-needle aspiration of thyroid nodules: indications, techniques, results. *Radiographics*. 2008;28(7):1869-86.

162. Nasrollah N, Trimboli P, Guidobaldi L, Modica DDC, Ventura C, Ramacciato G, ve ark. Thin core biopsy should help to discriminate thyroid nodules cytologically classified as indeterminate. A new sampling technique. *Endocrine*. 2013;43(3):659-65.

163. Nasrollah N, Trimboli P, Rossi F, Amendola S, Guidobaldi L, Ventura C, ve ark. Patient's comfort with and tolerability of thyroid core needle biopsy. *Endocrine*. 2014;45(1):79-83.

164. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, Carty SE, LeBeau SO, Ferris RL, ve ark. Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(11):3390-7.

165. Roychoudhury S, Klein M, Souza F, Gimenez C, Laser A, Shaheen Cocker R, ve ark. How “suspicious” is that nodule? Review of “suspicious” Afirma gene expression classifier in high risk thyroid nodules. *Diagnostic cytopathology*. 2017;45(4):308-11.

166. McIver B, Castro MR, Morris JC, Bernet V, Smallridge R, Henry M, ve ark. An independent study of a gene expression classifier (Afirma) in the evaluation of cytologically indeterminate thyroid nodules. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(11):4069-77.

167. Duick DS, Klopper JP, Diggans JC, Friedman L, Kennedy GC, Lanman RB, ve ark. The impact of benign gene expression classifier test results on the endocrinologist–patient decision to operate on patients with thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytopathology. *Thyroid*. 2012;22(10):996-1001.

168. Harrell RM, Bimston DN. Surgical utility of Afirma: effects of high cancer prevalence and oncocytic cell types in patients with indeterminate thyroid cytology. *Endocrine practice*. 2014;20(4):364-9.

169. Sistrunk JW, Shifrin A, Frager M, Bardales RH, Thomas J, Fishman N, ve ark. Clinical impact of testing for mutations and microRNAs in thyroid nodules. *Diagnostic cytopathology*. 2019;47(8):758-64.

170. Le Mercier M, D'Haene N, De Nève N, Blanchard O, Degand C, Rorive S, ve ark. Next-generation sequencing improves the diagnosis of thyroid FNA specimens with indeterminate cytology. *Histopathology*. 2015;66(2):215-24.
171. Fuller MY, Mody D, Hull A, Pepper K, Hendrickson H, Olsen R. Next-generation sequencing identifies gene mutations that are predictive of malignancy in residual needle rinses collected from fine-needle aspirations of thyroid nodules. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2018;142(2):178-83.
172. Jug RC, Datto MB, Jiang XS. Molecular testing for indeterminate thyroid nodules: performance of the Afirma gene expression classifier and ThyroSeq panel. *Cancer cytopathology*. 2018;126(7):471-80.
173. Marti JL, Avadhani V, Donatelli LA, Niyogi S, Wang B, Wong RJ, ve ark. Wide inter-institutional variation in performance of a molecular classifier for indeterminate thyroid nodules. *Annals of surgical oncology*. 2015;22(12):3996-4001.
174. Desai D, Lepe M, Baloch ZW, Mandel SJ. ThyroSeq v3 for Bethesda III and IV: An institutional experience. *Cancer Cytopathology*. 2021;129(2):164-70.
175. Santos MTd, Buzolin AL, Gama RR, Silva ECAd, Dufloth RM, Figueiredo DLA, ve ark. Molecular classification of thyroid nodules with indeterminate cytology: Development and validation of a highly sensitive and specific new miRNA-based classifier test using fine-needle aspiration smear slides. *Thyroid*. 2018;28(12):1618-26.
176. 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;32(2):187-91.
177. Bellevicine C, Migliatico I, Sgariglia R, Nacchio M, Vigliar E, Pisapia P, ve ark. 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 cytopathology*. 2020;128(2):107-18.
178. Labourier E. Utility and cost-effectiveness of molecular testing in thyroid nodules with indeterminate cytology. *Clinical Endocrinology*. 2016;85(4):624-31.