

"ÖNEMİ BELİRSİZ ATİPİ/ÖNEMİ BELİRSİZ FOLİKÜLER LEZYON"  
"FOLİKÜLER NEOPLAZİ/FOLİKÜLER NEOPLAZİ KUŞKUSU"  
"MALİGNİTE KUŞKUSU" TANILI  
TİROİD İNCE İĞNE ASPİRASYON MATERYALLERİNDE  
MORFOLOJİK DEĞERLENDİRME VE BRAF MUTASYON ANALİZİ

Gülay Aydođdu, Pınar Fırat, Yasemin Özlük, Dilek Yılmazbayhan

- 
- İnce iğne aspirasyon (İİA) sitolojisi tiroid nodüllerinin değerlendirmesinde standart olarak kullanılan, duyarlılık ve özgüllük oranları oldukça yüksek bir tanı yöntemidir (%83, %92).
  - Günümüzde tiroid İİA materyallerinin değerlendirmesinde 6 tanı kategorisine sahip Bethesda Sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır.
-

# Tiroid sitolojisi raporlamasında Bethesda Sistemi (2007)

TANI KATEGORİSİ	MALİGNİTE RİSKİ	GENEL KLİNİK YAKLAŞIM
I- Yetersiz		İİA tekrarı
II- Benign	0-3	Klinik izlem
<b>III- Önemi belirsiz atipi/foliküler lezyon (AUS/FLUS)</b>	5-15	İİA tekrarı
<b>IV- Foliküler neoplazi/Foliküler neoplazi kuşkusu (FN/FNK)</b>	15-30	Lobektomi
<b>V- Malignite kuşkusu (MK)</b> *Papiller karsinom kuşkusu *Medüller karsinom kuşkusu *Metastatik karsinom kuşkusu *Lenfoma kuşkusu *Diğer	60-75	Subtotal tiroidektomi ya da lobektomi
VI- Malign	97-99	Subtotal tiroidektomi

**%5-42**

# AMAÇ

- Bethesda Sistemi'nin **maligniteyi öngörmedeki rolünün** belirlenmesi
- İndetermine kategorilerde tanı alan ve izleminde malignite saptanan olguları daha güvenle saptamak için detaylı sitolojik inceleme yapılarak, **malignite tanısına yönelmemizi sağlayabilecek sitomorfolojik kriterlerin belirlenmesi**

# AMAÇ

- Kategorilerde tanı doğruluğunu arttırabilmek amacı ile üzerinde çalışılan ek testler incelemeler
- BRAF nokta mutasyonu genel olarak papiller karsinom olgularında en sık karşılaşılan ve oldukça yüksek özgüllüğe sahip moleküler değişiklik (%30-70)
- BRAF mutasyon analizi uygulayarak, serimizde mutasyon oranının belirlenmesi ve sitolojik tanıya katkısının araştırılması

---

# GEREÇ VE YÖNTEM

- İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda, Ocak 2009- Aralık 2010 tarihleri arasında, tiroid ince iğne aspirasyonu ile “kuşkulu sitolojik bulgular”, AUS/FLUS, FN/FNK veya MK tanısı alan ve ardından tiroidektomi uygulanan tüm olgular (110 hastaya ait 113 olgu) çalışma materyali olarak belirlendi.
  - “Benign”, “malign” veya “tanısal olmayan materyal” olarak değerlendirilen tiroid İİA'lar çalışmaya dahil edilmedi.
-

# GEREÇ VE YÖNTEM

- Bu olgulara ait preparatlar arşivden çıkarılarak **mikroskopik olarak tekrar değerlendirildi** ve Bethesda Sistemi'ne göre yeniden tanı verildi. Altı aspirasyon “papiller karsinom”, 4 aspirasyon “benign sitolojik bulgular” tanısı alarak çalışmadan çıkarıldı. İki aspirasyon yetersiz bulunduğundan, 3 aspirasyon da aynı nodüle ait tekrarlayan aspirasyonlar olduğundan çalışma dışı bırakıldı.
- Sonuç olarak çalışma kapsamına 98 hastaya ait 98 tiroid İİA materyali alındı.

# GEREÇ VE YÖNTEM

- Olgular **yaş, cinsiyet, nodül çapı** ve malign tümörleri saptamada önemi olan **11 sitomorfolojik kriter** yönünden incelendi.
- Ayrıca tiroidektomi sonucu papiller karsinom ve “malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör (MPBİDT) tanısı alan olguların İİA materyallerine BRAF mutasyon analizi yapıldı.



# BULGULAR

- 98 olgudan oluşan çalışma grubumuzda yer alan ve tiroidektomi sonucu benign tanı alan hastaların 27'si kadın (%35), 7'si erkek (%35), malign veya MPBİDT tanısı alan hastaların ise 51'i kadın (%65), 13'ü erkektir (%65).
- **Cinsiyet dağılımı** değerlendirildiğinde her iki grupta da kadın hasta sayısının erkek hastaların dört katı olduğu, ancak benign ve malign tanıların her iki cinsiyette de **aynı oranda** görüldüğü belirlendi ( $p=0.974$ ).

---

## BULGULAR

- Benign grupta tanı alan hastaların **yaş ortalaması** 43.17, malign veya MPBİDT tanısı alan hastaların ise 45.16 olarak belirlendi; yaş ortalamaları açısından benign ve malign grup arasında **anlamlı bir fark saptanmadı** ( $p=0.609$ ).
-

# BULGULAR

- Dört gruba ayırarak değerlendirmeye aldığımız **tümör çaplarının**, benign ve malign grup arasında belirgin bir **fark göstermediği**, genel ortalamaya baktığımızda ise tümör çaplarının her iki grupta da birbirine yakın değerlerde (19 ve 17 mm) olduğu gözlemlendi ( $p=0,455$ ).

- Otuzdört'ü AUS/FLUS, 21'i FN/FNK, 43'ü MK kategorisinde yer alan olguların;
  - ▶ 62'sinin malign (61 papiller karsinom, 1 medüller karsinom),
  - ▶ 2'sinin MPBİDT,
  - ▶ 34'ünün benign (18'i multinodüler hiperplazi, 9'u nodüler hiperplazi, 4'ü tiroidit, 3'ü adenom)

BETHESDA KATEGORİSİ	MALİGN (n=62) (Tiroidektomi)	BENİGN (n=34) (Tiroidektomi)	TOPLAM (n=96)*	p değeri
AUS/FLUS	12 (%37.5)	20 (%62.5)	32 (%100)*	0,000
FN/FNK	13 (%62)	8 (%38)	21 (%100)	
MK	37 (%86)	6 (%14)	43 (%100)	

Tablo 1. Kategorilere göre dağılım ve tiroidektomi sonrası malignite oranları

\* Tiroidektomide malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye tümör tanısı verilen 2 olgu histopatolojik olarak malign/benign ayırımı yapılamamış olduğundan malignite oranları belirlenirken hesaplamaların dışında bırakılmıştır.

# BULGULAR

- Kategorilerin **artan bir risk skalası** oluşturduğu görüldü; malignite ile ilişkileri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.00$ ).
- Kategorilere göre belirlenen malignite oranlarının literatürde bildirilen oranlara göre yüksek olduğu belirlendi.

- 
- İstanbul Tıp Fakültesinin bir referans merkezi olması; histolojik takipleri bulunan ve çalışmaya dahil edilen hasta popülasyonunun klinik ve radyolojik olarak yüksek risk grubunda oluşu
  - AUS/FLUS tanısı alan olgularda aspirasyon tekrarı yapılmadan direkt tiroidektomi
  - İİA tekniğine bağlı olarak, büyük bölümü kan ve fibrin tabakaları ile örtülü, yetersizlik sınırında (%50) ve hiposellüler nitelikli (%9,1) örneklerde karşılaşılan değerlendirme güçlüğü
  - Tanıda indetermine kategoriler arasında bir kayma oluşu, yanlış pozitif tanılardan korunmak amacıyla teknik zorluklar da taşıyan olgulara bir alt kategoride tanı verilmesi
  - Histopatolojik değerlendirmede yaşanan gözlemciler arası farklılıklar olabileceği
-

# BULGULAR

- Papiller karsinom tanısı alan 61 olgunun 44'ü (%72) foliküler varyant (FVPK), 17'si (%28) diğer varyantlar (9'u klasik varyant, 4'ü onkositik varyant, 1'i Warthin benzeri varyant, 1'i solid varyant, 1'i makrofoliküler varyant, 1'i anaplastik tipe transformasyon gösteren papiller karsinom)
- Yüksek FVPK oranı papiller karsinomun sitolojik değerlendirmesinde tanı güçlüğüne en sık FVPK'da yaşandığını ve bu olguların genellikle indetermine kategoride tanı aldığını doğrular niteliktedir.

---

■ FVPK'da neden tanı güçlüğü yaşanmakta ?

- sitomorfolojik kriterlerin çoğunun foliküler paternli diğer lezyonlar için geçerli oluşu,
- ayırım için tanımlanan sitomorfolojik kriterlerin yorumlanmasında enstitüler ve araştırmacılar arası değişkenliğin yüksek oluşu,
- kesin tanı için histopatolojik değerlendirmeye ihtiyaç duyulması ve benzer güçlüklerin burada da mevcut olması

**Yüksek FVPK oranının malignite oranlarının beklenenden yüksek bulunmasına katkıda bulunmuş olduğu düşünüldü.**

---



**A- Hipokromazi**

-Yok: 0

-Var: 1

**B- Oval nükleus**

-Yok: 0

-Var: 1

**C- Nükleer yarık**

-Yok: 0

-Var: 1

**D- Üst üste yığılma**

-Yok: 0

-Var: 1

**E- Nükleer psödoinklüzyon**

-Yok: 0

-Var: 1

**F- Nükleer köşelenme**

-Yok: 0

-Var: 1

**G- İzole iri hücreler**

-Yok: 0

-Var: 1

**H- Nükleer boyut**

-<1 eritrosit: 0

-1-2 eritrosit: 1

->2 eritrosit, yaygın: 2

**İ- Nükleol varlığı**

-Yok: 0

-Var: 1

-Belirgin: 2

**J- Kolloid**

-Yok: 0

-Az: 1

-Çok: 2

**K- Patern analizi**

-Mikrofoliküler patern yok: 0

-Hiposellüler, mikrofolikül yapısı ~%90: 1

-Sellüler, mikrofolikül yapısı ~%50: 2

-Sellüler, mikrofolikül yapısı ~%90: 3

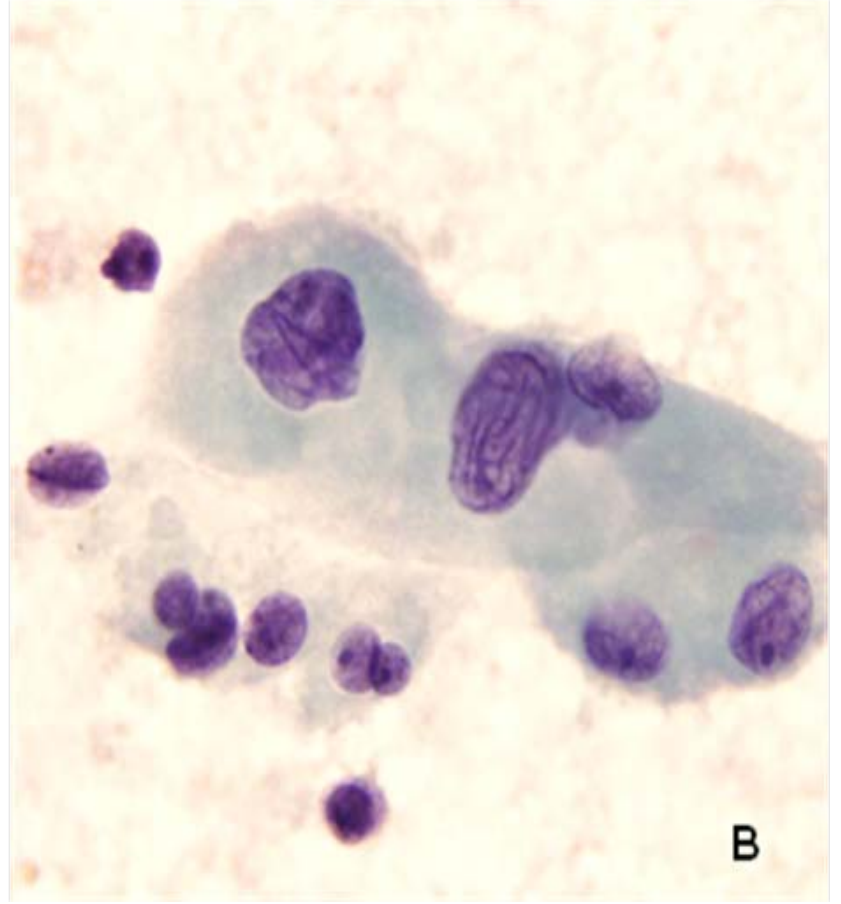
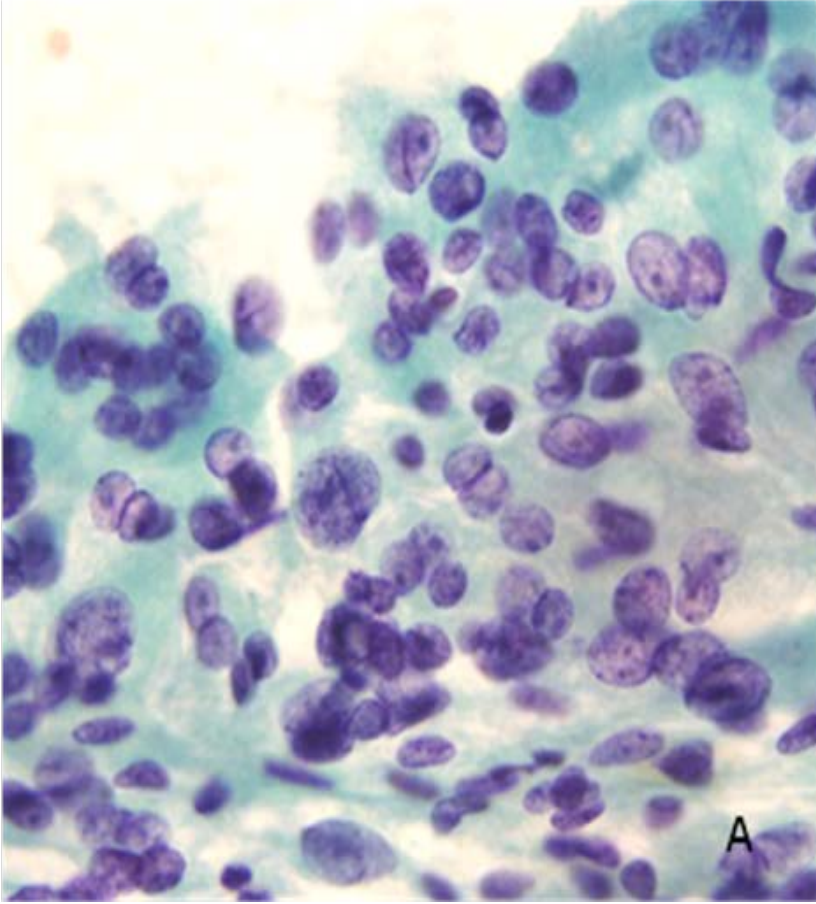
Tablo 2. Çalışmada değerlendirilen morfolojik parametreler

	<b>MALİGN (n=64)</b>	<b>BENİGN (n=34)</b>	<b>P değeri</b>
<b>NÜKLEUS BOYUTU</b> <1 eritrosit 1-2 eritrosit Yaygın >2 eritrosit	14 (%22) 41 (%64) 9 (%14)	12 (%35) 20 (%59) 2 (%6)	<b>0,231</b>
<b>İZOLE İRİ NÜKLEUS</b> (fokal >2 eritrosit) Yok Var	56 (%88) 8 (%12)	27 (%79) 7 (%21)	<b>0,290</b>
<b>NÜKLEOL</b> Yok Var Belirgin	46 (%72) 17 (%26) 1 (%2)	22 (%65) 11 (%32) 1 (%3)	<b>0,729</b>
<b>MİKROFOLİKÜLER PATERN</b> Yok ~%90 A* ~%50 B* ~%90 B*	39 (%61) 6 (%9) 10 (%16) 9 (%14)	18 (%53) 5 (%15) 4 (%12) 7 (%20)	<b>0,656</b>
<b>KOLLOİD</b> Yok Az Çok	46 (%72) 9 (%14) 9 (%14)	23 (%68) 4 (%12) 7 (%20)	<b>0,696</b>

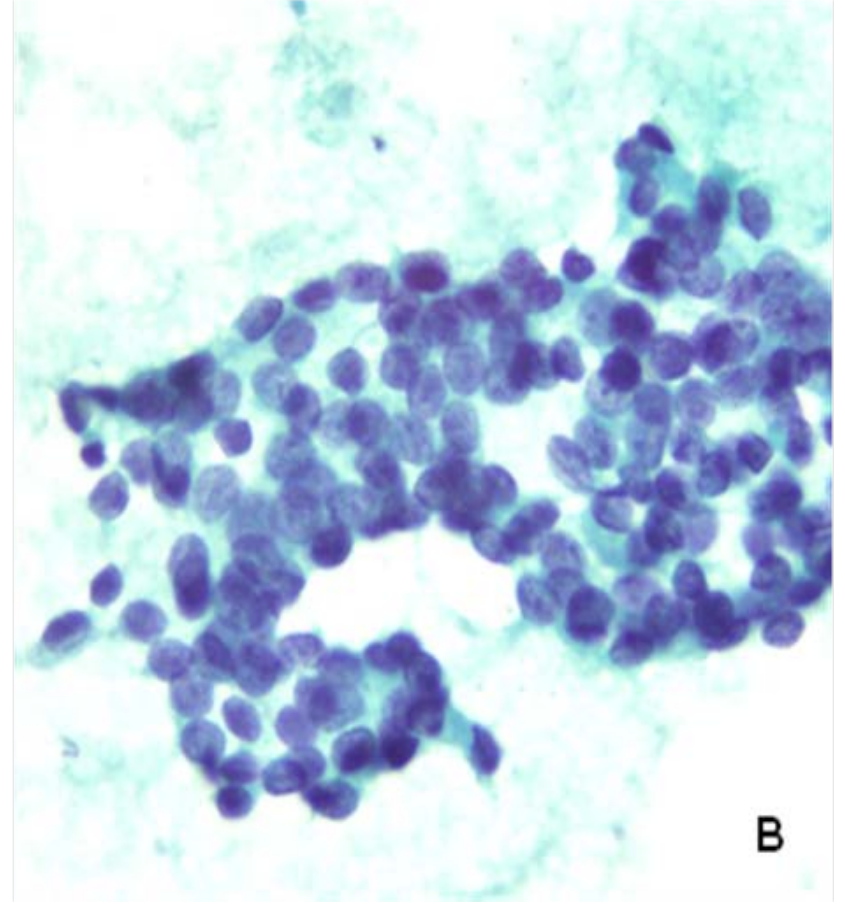
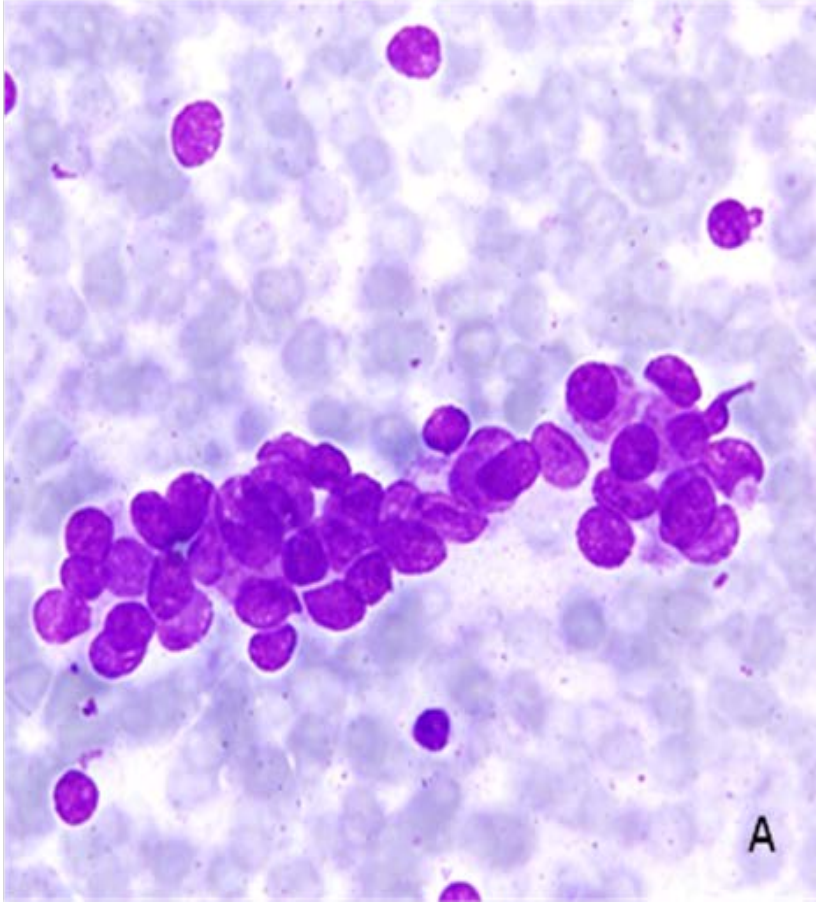
Tablo 4. Histopatolojik olarak benign ve malign gruplara ayrılan olgularda morfolojik özellikler

	<b>MALİGN (n=64)</b>	<b>BENİGN (n=34)</b>	<b>P değeri</b>
<b>HİPOKROMAZİ</b> Yok Var	16 (%25) 48 (%75)	14 (%41) 20 (%59)	<b>0,078</b>
<b>OVAL NÜKLEUS</b> Yok Var	15 (%23) 49 (%77)	14 (%41) 20 (%59)	<b>0,056</b>
<b>NÜKLEER YARIKLANMA</b> Yok Var	25 (%39) 39 (%61)	27 (%79) 7 (%21)	<b>0,000</b>
<b>NÜKLEER ÜST ÜSTE YIĞILMA</b> Yok Var	19 (%30) 45 (%70)	21 (%62) 13 (%38)	<b>0,002</b>
<b>NÜKLEER KÖŞELENME</b> Yok Var	48 (%75) 16 (%25)	32 (%94) 2 (%6)	<b>0,016</b>
<b>PSÖDOİNKLÜZYON</b> Yok Var	53 (%83) 11 (%17)	34 (%39) 0 (%0)	<b>0,007</b>

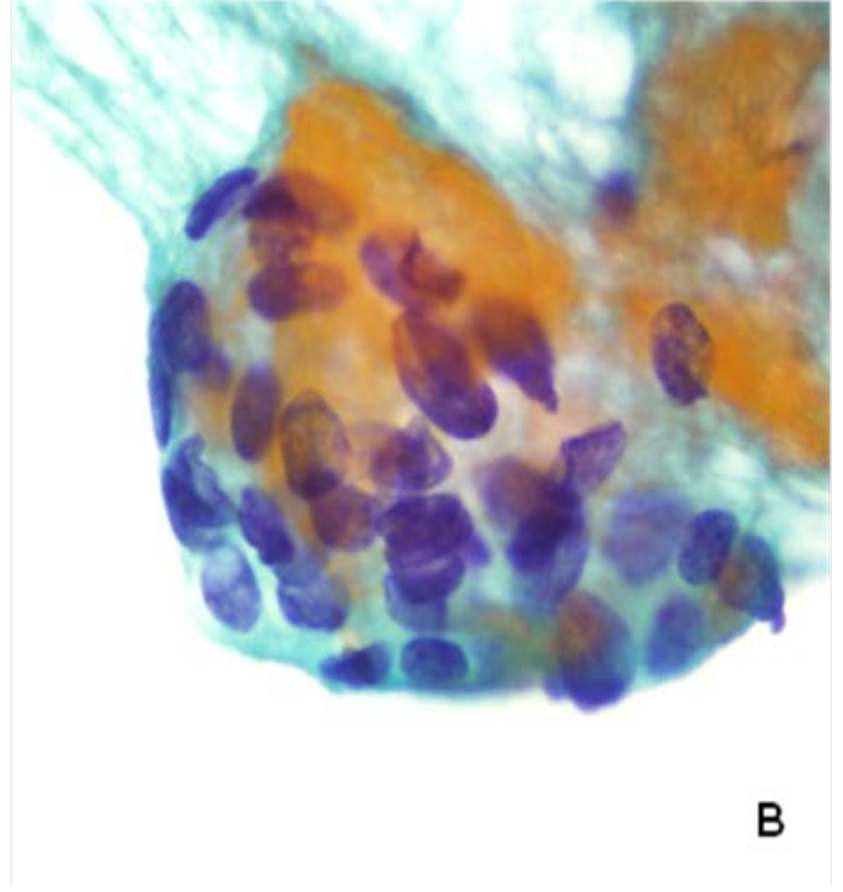
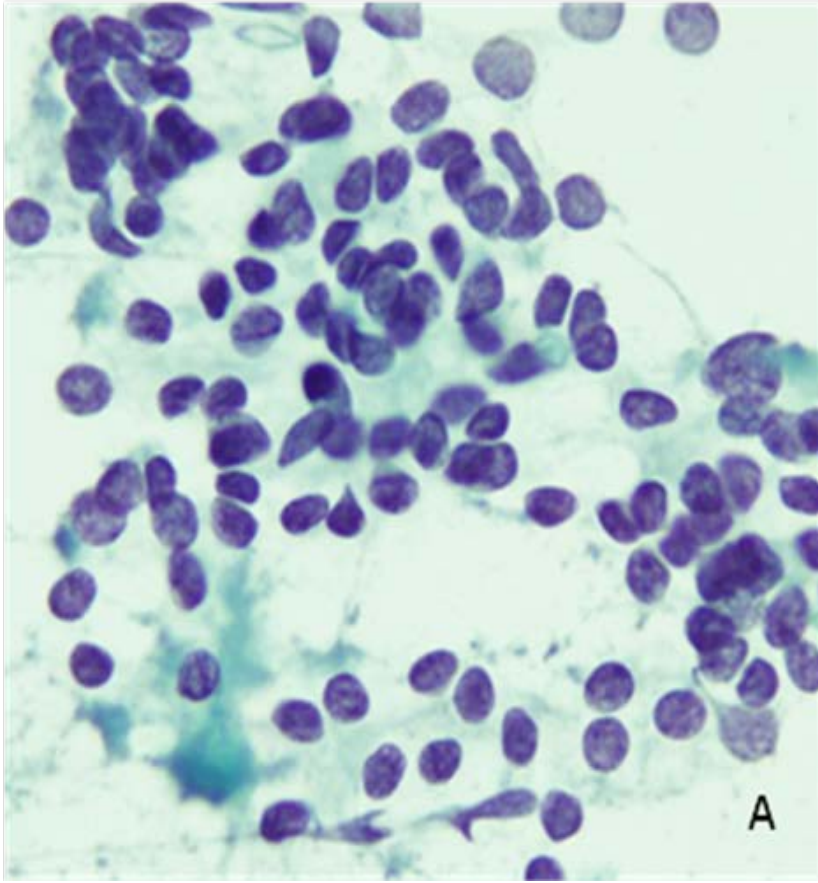
Tablo 3. Histopatolojik olarak benign ve malign gruplara ayrılan olgularda morfolojik özellikler



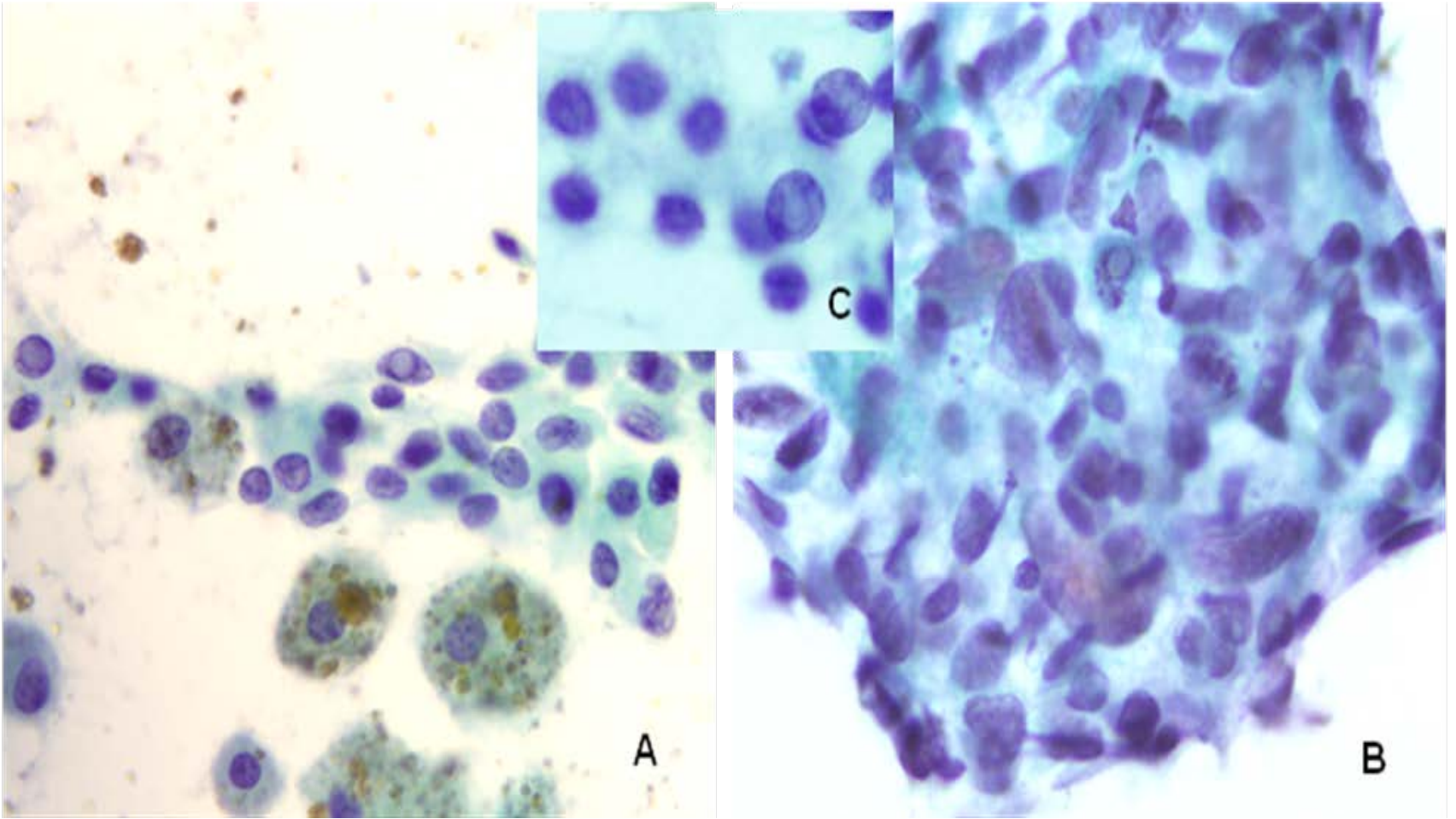
**Resim 1. Nükleer yarıklar.** Sitolojik Tanı: A, B- Foliküler Neoplazi, Hürthle Hücreli Tip. Patoloji Tanısı: A, B- Papiller Karsinom (PAP x1000).



**Resim 2. Nükleer üst üste yığılma.** Sitolojik Tanı: A- Malignite Kuşkusu, B- Önemi Belirsiz Foliküler Lezyon. Patoloji Tanısı: A- Papiller Karsinom, B- MPBİDT (A- MGG x1000, B- PAP x400).



**Resim 3. Nükleer köşelenme.** Sitolojik Tanı: A- Foliküler Neoplazi Kuşkusunu, B- Önemi Belirsiz Atipi. Patoloji Tanısı: A, B- Papiller Karsinom (A- PAP x400, B- PAP x1000).



**Resim 4. Nükleer psödoinklüzyon/psödoinklüzyon benzeri yapılar.** Sitolojik Tanı: A- Malignite Kuşkusu, B- Malignite Kuşkusu, C- Foliküler Neoplazi. Patoloji Tanısı: A,B,C- Papiller Karsinom (A- PAP x400, B- PAP x1000, C- PAP x1000).

	DUYARLILIK (%)	ÖZGÜLLÜK (%)	PÖD (%)	NÖD (%)	TD (%)
NÜKLEER YARIKLANMA	61	79	85	52	67
NÜKLEER ÜST ÜSTE YIĞILMA	<b>70</b>	62	78	53	67
NÜKLEER KÖŞELENME	25	94	89	40	49
PSÖDOİNKLÜZYON	17	<b>100</b>	100	39	46

**Tablo 5. Nükleer yarıklanma, nükleer üst üste yığılma, nükleer köşelenme ve psödoinklüzyonun duyarlılık, özgüllük, PÖD, NÖD ve TD oranları**



	Odds oranı	%95 Güven aralığı	P değeri
Nükleer yarıklanma	3,2	1,1-9,2	<b>0,030</b>
Nükleer üst üste yığılma	2,9	1,1-7,8	<b>0,029</b>

**Tablo 6. Multivaryans lojistik regresyon analizi sonucunda bağımsız değişken olarak belirlenen morfolojik parametreler**

- Sadece bu **kriterlerden birinin saptanması** durumunda bile patologun **malignite ihtimalinin** var olduğunu bilerek değerlendirmeyi derinleştirmesi gerektiği düşünöldü

# BULGULAR

- İstatistiksel olarak anlamlı bulunan bu dört parametrenin her birine '1' değeri verilerek oluşturulan skor skalasında;
- toplam skoru sadece 1 olan olguların bile malign olma olasılığının, skoru 0 olan olgulara göre anlamlılık gösterecek derecede yüksek olduğu ( $p=0,0001$ ),
- skorun 3 olması halinde en az MK (özgüllük %85),
- 4 olması halinde ise 'malign' tanısı verilebileceği (özgüllük %97)

**İndetermine kategoride yer alan olgularda skarlama sisteminin kullanılmasının tanı doğruluğunu ve güvenilirliğini arttırabileceği sonucuna varıldı.**

---

# BULGULAR

- Olgularımızın büyük bölümünü (%72) oluşturan FVPK ile çalışmada değerlendirilen sitomorfolojik parametreler karşılaştırıldığında hücresellik oranı göz önüne alınmaksızın dahi, **mikrofoliküler patern varlığının FVPK ile anlamlı ilişki gösterdiği** belirlendi ( $p=0,027$ ).
-

---

# BULGULAR

- BRAF mutasyon analiz sonuçları değerlendirildiğinde;
    - **malign grupta** yer alan olguların **%10.1'inde** (6/61),
    - FVPK'lı olgularda bu oranın %6.9, diğer varyantlarda % 18.7,
    - **papiller gelişim sergileyen olgular** (8 klasik varyant, 1 Warthin benzeri varyant) dikkate alındığında ise **%33**
-

- 
- Olgularımızın büyük bölümünü yüksek oranda mutasyon göstermesi beklenen klasik varyant papiller karsinomlar (%30-70) yerine, **düşük mutasyon oranlarına sahip (%5-15) FVPK'ların** oluşması
  - Literatürde mutasyon analizlerinin sitolojik ve histolojik materyallerde eşdeğer sonuçlar verdiği bildirilmesine karşın, çalışmada sitolojik materyallerin kullanılmış olması (bu olasılığın kesin olarak ekarte edilebilmesi için aynı testin, olgulara ait tiroidektomi spesimenleri üzerinde de çalışılması gerekmektedir)
-

# BULGULAR

- BRAF mutasyonunun sitomorfolojik parametreler ile ilişkisini değerlendirmek amacı ile yaptığımız istatistiksel analizde nükleer yarıklanma ve psödoinklüzyonunun BRAFV600E mutasyonunu ile anlamlı bir ilişki gösterdiği saptandı ( $p=0,038$ ,  $p=0,019$ ).
- İnküzyon varlığının BRAFV600E mutasyonunu öngörmede bağımsız risk faktörü olduğu ortaya konuldu ( $p=0,035$ ).

- 
- BRAFV600E mutasyonu belirlenen olguların 6'sı da MK kategorisinde tanı almasına rağmen, **sitolojik tanı kategorisi ile mutasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı**; bu durumun pozitif olgu sayısının azlığı ve tanı kategorilerinin üç gruba ayrılmış olması ile ilişkili olabileceği düşünüldü.
-

- 
- BRAF mutasyon oranı düşük (%13.9), malignite oranı yüksek (%86) bir MK kategorisine sahip olduğumuzdan ve bu kategoride tanı alan olgulara doğrudan cerrahi tedavi uygulandığından,
  - Sitolojik atipinin fokal veya belirsiz olduğu AUS/FLUS ve FN/FNK kategorisinde yer alan olguların hiçbirinde mutasyon belirlenmediğinden, **mutasyon analizinin tanıya belirgin katkı sağlamadığı** düşünüldü.
-



# SONUÇLAR

- AUS/FLUS, FN/FNK ve MK kategorileri malignite olasılığı açısından giderek artan bir risk skalası oluşturmaktadır.
- Psödoinklüzyon, yarıklanma, nükleer üst üste yığılma ve nükleer köşelenme malignite varlığını belirlemede öne çıkan morfolojik bulgulardır.
- Malignite riski açısından oldukça uyarıcı olan bu kriterler kullanılarak oluşturulacak bir skora sistemine tanı doğruluğunu arttırmada faydalı olabilir.
- Malignite oranları yüksek serimizde BRAF mutasyon analizlerinin tanıya katkısı oldukça sınırlıdır.

# SONUÇLAR

İndetermine grupta yer alan olguların büyük bölümünü FVPK oluşturduğundan malignite riskini öngörmede, **detaylı morfolojik değerlendirme ve Bethesda kategorizasyonu** hala en güvenilir sonuçları veren yöntemdir.

---

**TEŞEKKÜRLER...**

---