

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İstanbul Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı



Tiroid Medüller Karsinomunda Prognostik Belirteçler
UZMANLIK TEZİ

Dr. Gözde KILIÇ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gülçin YEGEN

İSTANBUL
2022



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İstanbul Tıp Fakóltesi
Patoloji Anabilim Dalı

Tiroid Medüller Karsinomunda Prognostik Belirteçler
UZMANLIK TEZİ

Dr. Gözde KILIÇ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gülçin YEGEN

İSTANBUL

2022

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) koordinasyon birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 38060).

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
KISALTMALAR	VIII
TABLO LİSTESİ	IX
RESİM LİSTESİ	X
GRAFİK LİSTESİ.....	XI
BÖLÜM I	1
I. ÖZET	1
II. ABSTRACT	3
BÖLÜM II.....	5
I. GİRİŞ	5
II. GENEL BİLGİLER	6
TİROİD MEDÜLLER KARSİNOMU	6
A. Epidemiyoloji	6
B. Etiyoloji	7
C. Lokalizasyon, Klinik Özellikler ve Görüntüleme Bulguları	7
D. Patogenez.....	8
E. Makroskopik Özellikler.....	9
F. Histopatolojik Özellikler.....	9
G. İmmünohistokimyasal Özellikler.....	12
H. Histolojik Paternler.....	13
İ. Sitolojik Özellikler.....	17
J. Medüller Trioid Karsinomunda Evreleme.....	19
K. Diagnostik Moleküler Patoloji.....	20
L. Prognostik Faktörler.....	21

M. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler ile İlgili Bilgiler.....	23
M.1. Bcl-1.....	23
M.2. Ki67.....	24
M.3. p27.....	25
BÖLÜM III.....	26
GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
I. Çalışma Olgularının Belirlenmesi ve Hazırlanması.....	26
II. Olguların Histomorfolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi.....	26
III. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	30
III.A. Bcl-1 ile immünohistokimyasal boyama.....	30
III.B. Ki67 ile immünohistokimyasal boyama.....	30
III.C. p27 ile immünohistokimyasal boyama.....	31
IV.İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	32
IV.A.Bcl-1.....	32
IV.B.Ki67.....	32
IV.C.p27	32
V. İstatiksel Değerlendirme	32
BÖLÜM IV	33
BULGULAR	33
I. Demografik Özellikler	33
II. Histopatolojik Özellikler	35
III. Lokal-Bölgesel Nüksüz Sağkalım, Uzak Metastazsız Sağkalım ve Genel Sağkalım Özellikleri.....	38
IV. İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları	45
IV.A. Bcl-1	45
IV.B. Ki67	46
IV.C. p27	47

V. Çok Değişkenli Cox Regresyon Analizi.....	48
BÖLÜM V.....	49
TARTIŞMA	49
BÖLÜM VI	54
SONUÇLAR	54
BÖLÜM VII.....	56
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ	69



KISALTMALAR

MTK: Medüller Tiroid Karsinomu

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

H&E: Hematoksilen Eozin

CDK: Siklin Bağımlı Kinaz

GS: Genel Sağkalım

LNS: Lokal-bölgesel Nüksüz Sağkalım

UMS: Uzak Metastazsız Sağkalım



TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Medüller Tiroid Karsinomu Sınıflaması.....	7
Tablo 2: Primer tümör sınıflaması (T)	19
Tablo 3: Bölgesel lenf nodu sınıflaması (pN).....	19
Tablo 4: Uzak metastaz sınıflaması (M).....	20
Tablo 5: Evreleme grupları.....	20
Tablo 6: Histomorfolojik parametreler ve değerlendirme kriterleri.....	27
Tablo 7: İmmünohistokimyasal belirteçlere ait bilgiler.....	31
Tablo 8: Demografik, klinik ve histopatolojik özellikler.....	33
Tablo 9: Genel sağkalıma etki eden faktörler (Çok değişkenli Cox regresyon analiz sonuçları).....	48
Tablo 10: Uzak metastazsız sağkalıma etki eden faktörler (Çok değişkenli Cox regresyon analiz sonuçları).....	48

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Medüller tiroid karsinomu (MTK) H&E x100.....	10
Resim 2: Medüller tiroid karsinomu nükleer özellikleri H&E x400.....	11
Resim 3: Medüller tiroid karsinomu, psödoinklüzyon (beyaz ok) ve pleomorfizm H&E x400.....	11
Resim 4: Medüller tiroid karsinomu, nested (ada) patern H&E x100.....	12
Resim 5: A. Kalsitonin immünohistokimyası x100, B. CEA immünohistokimyası x100.....	13
Resim 6: Papiller patern H&E x100.....	15
Resim 7: Asiner patern H&E x400.....	15
Resim 8: İğsi hücreli patern H&E x200.....	16
Resim 9: Onkositik patern H&E x400.....	16
Resim 10: Melanotik patern H&E x400.....	17
Resim 11: Medüller tiroid karsinomu sitolojik özellikler x400.....	18
Resim 12: İnfiltratif sınır- Ekstratiroidal yayılım H&E x40.....	27
Resim 13: Kapsül invazyonu H&E x40.....	28
Resim 14: A. Belirgin fibrozis varlığı H&E x100, B. Amiloid birikimi H&E x200.....	28
Resim 15: Yaygın nekroz H&E x200.....	29
Resim 16: Nekroz ve mitoz (beyaz ok) H&E x400.....	29
Resim 17: Bcl-1 immünohistokimyasal incelemesi, nükleer boyanma x400.....	45
Resim 18: Ki67 immünohistokimyası A. Yüksek proliferasyon indeksi x400, B. Düşük proliferasyon indeksi x400.....	46
Resim 19: p27 immünohistokimyası A: Tümör hücrelerinde nükleer ekspresyon, B: Tümör hücrelerinde nükleer ekspresyon kaybı.....	47

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Lenf nodu metastazı ve genel sağkalım ilişkisi.....	41
Grafik 2: Uzak metastaz ve genel sağkalım ilişkisi.....	42
Grafik 3: Nekroz ve genel sağkalım ilişkisi.....	42
Grafik 4: Ki67 proliferasyon indeksi ve genel sağkalım ilişkisi.....	42
Grafik 5: Tümör gradı (yüksek-düşük) ile genel sağkalım ilişkisi.....	43
Grafik 6: Ekstratiroidal yayılım ile genel sağkalım ilişkisi.....	43
Grafik 7: Cerrahi sınır pozitifliği ile genel sağkalım ilişkisi.....	43
Grafik 8: Fibrozis varlığı ile genel sağkalım ilişkisi.....	44
Grafik 9: Multifokalite ile genel sağkalım ilişkisi.....	44
Grafik 10: Lenfatik invazyon varlığı ile genel sağkalım ilişkisi.....	44



BÖLÜM I

I. ÖZET

Amaç: Medüller tiroid karsinomu (MTK), tiroid tümörlerinin %2'sini oluşturan bir nöroendokrin tümördür. Hastalığın klinik seyri genellikle agresiftir ve tek tedavi yöntemi total tiroidektomi ile santral boyun lenf nodu disseksiyonudur. Agresif cerrahi tedaviye rağmen hastalarda nüks ve metastaz insidansı oldukça yüksektir. Sistemik terapi ve postoperatif takip stratejilerine yardımcı olabilmesi için ek prognostik faktörlerin daha fazla çalışma ile araştırılması gerekmektedir.

Bcl-1 geni ve p27 molekülünün ekspresyon durumu ile Ki-67 hücre proliferasyon indeksinin birçok tümörde metastaz potansiyeli ve prognozla ilişkili olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda medüller tiroid karsinomunda immünohistokimyasal olarak bcl-1, p27 ve Ki-67 proliferasyon indeksi ekspresyon durumlarının lenf nodu ve uzak metastaz ile ilişkisini ortaya koymak amaçlanmaktadır. Ayrıca yaş, cinsiyet, tümör boyutu, tümör sınırları, mitoz oranı, nekroz varlığı, desmoplastik reaksiyon, amiloid varlığı, kapsül invazyonu, lenfatik ve vasküler invazyon, ekstrasitroidal yayılım gibi bazı histomorfolojik ve demografik bulguların metastaz ile ilişkisini değerlendirmek hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşiv kayıtlarından 2000-2020 yılları arasında medüller tiroid karsinomu nedeniyle opere olmuş hasta kayıtlarına ulaşıldı. Bu kayıtlar içerisinde düzenli klinik takipleri olan ve bloklarına ulaşılabilen vakalar seçilerek, 95 vakadan oluşan çalışma grubu oluşturuldu. Bu hastalara ait tümörü temsil eden formalin fikse parafin bloklardan hazırlanan kesitler üzerinde Bcl-1, Ki67 ve p27 antikorları ile immünohistokimyasal incelemeler gerçekleştirildi. Hematoksilen-Eozin boyalı kesitlerde histopatolojik parametreler değerlendirildi. Çalışma grubuna dahil edilen olgulara ait nüks ve metastaz durumları ile sağkalımlarıyla ilgili güncel bilgiler ilgili kliniklerin hasta dosyalarından elde edildi.

Bulgular: Çalışma grubundaki 95 vakadan 51'inde lenf nodu metastazı, 22'sinde lokal-bölgesel nüks, 17'sinde ise uzak metastaz izlenmiş olup, 13 vakada hastalık sebebiyle ölüm tespit edildi. DSÖ 2022 Endokrin Sistem Tümör Sınıflaması'nda önerilen MTK derecelendirme sistemi kullanılarak yapılan derecelendirmede, vakaların 61'i (%64,2) düşük dereceli, 34'ü (%35,8) yüksek dereceli olarak belirlendi. Derecenin prognostik olarak anlamlı olduğu tespit

edildi. Nekroz içeren vakalarda lenf nodu metastazı ve uzak metastazın daha sık, sağkalımın ise daha düşük olduğu görüldü.

Lenf nodu metastazı ile erkek cinsiyet, tümör çapının 4 cm'den büyük olması, cerrahi sınır pozitifliği, fibrozis, ekstratiroidal yayılım, yüksek derece, nekroz, lenfatik invazyon, vasküler invazyon ve uzak metastaz arasında anlamlı ilişki saptandı.

Ki67 proliferasyon indeksi $\geq 5\%$ olan vakalarda, $<5\%$ olan vakalara göre lenf nodu metastazı ve uzak metastazın daha sık olup, Ki67 değerinin 5% 'in üzerinde olmasının sağkalımı anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edildi. Bcl-1 immünohistokimyası ile lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı. P27 immünohistokimyasal incelemesi ile tümör hücrelerinde heterojen, zayıf-fokal reaksiyon izlendi ve antikor rutin pratikte kullanılabilecek güvenilirlikte bulunmadı.

Sonuç: Fibrozis, ekstratiroidal yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, nekroz, lenfatik invazyon görülen vakalarda genel sağkalım daha düşüktür. Yaş, tümör çapı ve amiloid varlığı ile sağkalım arasında ilişki bulunmamıştır. Erkek hastalarda ve vasküler invazyon görülen vakalarda, sağkalım daha düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Vakalar yüksek ve düşük dereceli olarak iki gruba ayrıldığında, derecelendirmenin sağkalımı öngördüğü tespit edilmiştir. Nekroz varlığı, çok değişken analizde genel sağkalımı öngörmede tek bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur. Ki67 değerinin 5% 'in üzerinde olmasının sağkalımı anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir. Bcl-1 immünohistokimyası ile lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. P27 antikor rutin pratikte kullanılabilecek güvenilirlikte bulunmamıştır.

II. ABSTRACT

Aim: Medullary thyroid carcinoma (MTC) is a neuroendocrine tumor that accounts for 2% of thyroid tumors. The clinical course of the disease is usually aggressive and the only treatment method is total thyroidectomy and central neck lymph node dissection. Despite aggressive surgical treatment, the incidence of recurrence and metastasis is quite high. Additional prognostic factors need to be investigated further in order to aid systemic therapy and postoperative follow-up strategies.

It is known that the expression status of the Bcl-1 gene and p27 molecule and the Ki-67 cell proliferation index are associated with metastasis potential and prognosis in many tumors.

In our study, it is aimed to reveal the relationship between the immunohistochemical expression status of bcl-1, p27 and Ki-67 proliferation index and lymph node and distant metastasis in medullary thyroid carcinoma. In addition, the relationship between metastasis and some histomorphological and demographic findings such as age, gender, tumor size, tumor margins, mitosis rate, presence of necrosis, desmoplastic reaction, amyloid, capsule invasion, lymphatic and vascular invasion, and extrathyroidal extension will be evaluated.

Materials and methods: The digital archive records of Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Pathology is searched for the cases that were diagnosed as medullary thyroid carcinoma cases, between the years 2000 and 2020. From these records, cases with regular clinical follow-ups and whose blocks could be accessed were selected, and a study group consisting of 95 patients was formed. Immunohistochemical analyzes were performed with Bcl-1, Ki67 and p27 antibodies on the sections prepared from the formalin fixed paraffine embedded tumor blocks. Histopathological parameters were re-evaluated in hematoxylin-eosin stained sections. Follow up data of the cases were retrieved from the medical records of relevant clinics.

Results: Lymph node metastasis was observed in 51 of 95 cases in the study group, local-regional recurrence was observed in 22, distant metastasis was observed in 17 cases, and death due to disease was detected in 13 cases. According to the grading system referred in the WHO 2022 Endocrine System Tumor Classification, 61 (64.2%) of the cases were determined as low grade and 34 (35.8%) as high grade. The grade was found to be prognostically

significant. It was observed that lymph node metastases and distant metastases were more frequent and survival was lower in cases with necrosis.

A significant correlation was found between lymph node metastasis and male gender, tumor diameter greater than 4 cm, positive surgical margins, fibrosis, extrathyroidal extension, high grade, necrosis, lymphatic invasion, vascular invasion, and distant metastasis.

It was observed that lymph node metastasis and distant metastasis were more frequent in cases with a Ki67 proliferation index of $\geq 5\%$ than in cases with a Ki67 proliferation index of $< 5\%$. It was also significantly associated with reduced survival. No significant correlation was found between Bcl-1 immunohistochemistry and lymph node metastasis, distant metastasis and survival. Heterogeneous, weak-focal reaction was obtained in tumor cells with P27 immunohistochemical examination, and the antibody was not found to be reliable to be used in routine practice.

Conclusion: The overall survival is lower in cases with fibrosis, extrathyroidal extension, positive surgical margins, necrosis, and lymphatic invasion. No correlation was found between age, tumor size, presence of amyloid and survival. Although survival was lower in male patients and in cases with vascular invasion, it was not statistically significant. When the cases were divided into two groups as high and low grade, grading was found to predict survival. It was determined that a Ki67 value above 5% significantly reduce survival. In multivariate analysis, the only independent prognostic factor predicting overall survival was found to be the presence of necrosis. No significant correlation was found between Bcl-1 immunohistochemistry and lymph node metastasis, distant metastasis and survival. The p27 antibody has not been found to be safe to be used in routine practice.

BÖLÜM II

I. GİRİŞ

Tiroid kanserleri endokrin sistemin en sık maligniteleri olup, tüm dünyada yeni tanı kanser vakalarının %1,7'sini oluşturmaktadır. Kadınlarda insidansı erkeklerden 3 kat daha fazladır. İnsidans, dünya genelinde değişmekle beraber, ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde daha yüksektir¹.

Tüm tiroid malignitelerinin sadece %2'sini oluşturmalarına rağmen, medüller tiroid karsinomu (MTK) nispeten agresif biyolojik davranışı nedeniyle diğer tiroid karsinomlarına göre oldukça yüksek sayıda ölümden sorumludur². Palpabl tiroid nodülü ile başvuran hastalarda tanı anında klinik servikal lenf nodu tutulumunun insidansı %75 kadar yüksek olarak bildirilmiştir³. MTK'ların yaklaşık %25'i kalıtsaldır ve germline RET mutasyonlarının aktive edilmesinin neden olduğu otozomal dominant herediter kanser sendromu Multipl Endokrin Neoplazi tip 2 (MEN2) sonucu meydana gelir. Bu vakalarda, biyokimyasal ve genetik taramalar yoluyla tiroide sınırlı hastalığın erken tespiti, prognozda önemli gelişmelerle sonuçlanmıştır⁴. Bununla birlikte, sporadik MTK'nın etiyojisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Diğer tiroid malignitelerinin aksine, harici iyonize radyasyon ile belirgin bir ilişki yoktur⁵.

Medüller tiroid karsinomunun tek tedavi yöntemi total tiroidektomi ile santral boyun lenf nodu disseksiyonudur. Agresif cerrahi tedaviye rağmen hastalarda nüks ve metastaz insidansı oldukça yüksektir. Sistemik terapi ve postoperatif takip stratejilerine yardımcı olabilmesi için ek prognostik faktörlerin daha fazla çalışma ile araştırılması gerekmektedir.

Literatürde yapılan çok sayıda çalışmada Bcl-1 geni ve p27 molekülünün ekspresyon durumu ile Ki-67 hücre proliferasyon indeksinin birçok tümörde metastaz potansiyeli ve prognozla ilişkili olduğu bilinmektedir⁶⁻¹⁸.

Çalışmamızda medüller tiroid karsinomunda immünohistokimyasal olarak Bcl-1, p27 ve Ki-67 proliferasyon indeksi ekspresyon durumlarının lenf nodu ve uzak metastaz ile ilişkisini ortaya koymak amaçlanmaktadır. Ayrıca yaş, cinsiyet, tümör boyutu, tümör sınırları, mitoz oranı, nekroz varlığı, desmoplastik reaksiyon (fibrozis), amiloid varlığı, kapsül invazyonu, lenfatik ve vasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım gibi bazı histomorfolojik ve demografik bulguların metastaz ile ilişkisini değerlendirmek hedeflenmektedir.

II. GENEL BİLGİLER

TİROİD MEDÜLLER KARSİNOMU

A. Epidemiyoloji

Tiroid kanserleri endokrin sistemin en sık maligniteleri olup, tüm dünyada yeni tanı kanser vakalarının %1,7'sini oluşturmaktadır. Medüller tiroid karsinomu (MTK) papiller ve foliküler tiroid karsinomlarından sonra en sık görülen üçüncü tiroid karsinomudur. Son yirmi-otuz yılda tiroid kanseri insidansında belirgin bir artış olmuştur, ancak bu artıştan büyük oranda papiller karsinom sorumludur¹⁹. Medüller tiroid karsinomu insidansında belirgin bir değişiklik olmamıştır²⁰.

MTK tüm tiroid tümörlerinin yaklaşık %2'sini oluşturmakta olup, Amerika Birleşik Devletleri'nde tiroid kanseri ile ilişkili ölümlerin %8'inden sorumludur²¹. MTK'ların yaklaşık %75'i sporadik, %25'i kalıtsaldır (**Tablo 1**). Sporadik medüller tiroid karsinomunda ortalama tanı yaşı 45-55'tir ve hafif bir kadın baskınlığı vardır²¹. Kalıtsal vakalarda otozomal dominant kalıtım paterni nedeniyle cinsiyetler arasında belirgin bir fark yoktur ve genetik-biyokimyasal taramalar yapıldığı takdirde hastalar daha erken yaşta tanı alabilir²². Bu hastalar genellikle 2. ve 3. dekada prezente olurlar²³.

Kalıtsal vakalarda RET proto-onkogeninde otozomal dominant germline fonksiyon kazanımı mutasyonları söz konusudur, bu da Multipl Endokrin Neoplazi Tip 2A (MEN2A) ve MEN2B'yi gösterir^{24,25}. Bu mutasyonlar neredeyse %100 penetransa sahiptir²⁶. Daha önce familial MTK (FMTK) olarak adlandırılan herediter izole MTK ise 2015 yılında yayınlanan Amerikan Tiroid Derneği rehberlerinde MEN2A'nın bir varyantı olarak tanımlanmıştır⁴.

Tablo 1: Medüller Tiroid Karsinomu (MTK) Sınıflaması

	İnsidans	Tanı anında yaş	İlişkili endokrinopatiler
Sporadik MTK	75	5. dekad	-
Hereditör MTK	25		
-MEN2A	23	3. dekad	Feokromositoma, Paratiroid adenomu, Kutanöz liken amiloidoz
-MEN2B	2	1. dekad	Feokromositoma, Mukozal nörom

B. Etiyoloji

MTK vakalarının %25'i germline RET mutasyonu ile ilişkilidir (MEN2 sendromu). Sporadik MTK'nın etiyojisi ise bilinmemektedir. Eksternal iyonizan radyasyon, mesleki maruziyet veya sigara ile bir ilişki olduğuna dair kanıt yoktur⁵. Bir dizi çalışma, sporadik MTK ile guatr veya tiroid nodülleri arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir⁵. Bazı yazarlar kadın hastalarda MTK ile Hashimoto tiroiditi arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir, ancak bu bulgunun daha geniş prospektif çalışmalarla desteklenmesi gereklidir²⁷. Germline RET mutasyonu, ailesel MTK ile ilişkilidir²⁸.

C. Lokalizasyon, Klinik Özellikler ve Görüntüleme Bulguları

Medüller tiroid karsinomu tiroidin tüm bölgelerinde ortaya çıkabilmesine rağmen, normal C hücrelerinin dağılımını takip eder ve bu nedenle tiroid loblarının üst ve orta üçte birinin birleştiği yerde en yüksek C hücre yoğunluğunun olduğu bölgede ortaya çıkmaları daha olasıdır.

MTK tipik olarak lateral lobların üst ve orta üçte birlik kısmında soliter, palpe edilebilen, ağrısız bir tiroid nodülü olarak ortaya çıkar²⁹. Tümörün lokal olarak aşırı büyümesi ve çevre yapıların invazyonu, disfaji veya solunum sıkıntısı ile sonuçlanabilir. Tanı anında hastaların %50-70'inde lenf nodu metastazı⁴, %10-15'inde uzak metastaz³⁰ mevcuttur. Metastazın en sık görüldüğü yerler mediasten, karaciğer, akciğer ve kemiktir³¹. Bu tümörlerden salgılanan yüksek serum kalsitonin seviyeleri, flushing, diare ve/veya kilo kaybı gibi semptomlara yol açabilir³¹. Nadiren (vakaların < %1'i) bu tümörler nonsekretuar

olabilir³². Karsinoembriyonik antijen (CEA), MTK olan hastaların >%50'sinde görülen, özellikle hastaların takibinde oldukça yararlı bir serum tümör belirteçidir³¹. Stabil bir kalsitonin seviyesinin varlığında artan bir CEA seviyesi, tümörde dediferansiyasyonun bir bulgusu olabilir ve daha kötü bir prognoz ile ilişkilidir. Tersine, serum CEA'sında hızlı bir düşüş, ameliyat sonrası tam iyileşmeyi öngörür^{33,34}. Bazı tümörler serotonin, P maddesi, vazoaaktif intestinal madde, adrenokortikotropik hormon, kortikotropin salgılatıcı hormon ve katekolamin metabolitleri gibi çeşitli başka hormonlar salgırlar³¹. Bu durum paraneoplastik Cushing sendromuna yol açabilir³⁵.

Kalıtsal MTK'lı hastalar genellikle daha genç yaşta ve multifokal ve bilateral hastalık ile başvururlar. Tümör tarafından aşırı kalsitonin salgılanmasının neden olduğu diare, flushing veya kilo kaybı ile prezente olabilir veya feokromositoma ya da hiperparatiroidizm gibi ilişkili bir hastalıkla ortaya çıktıktan sonra tanı alabilirler³¹. Şu anda, kalıtsal MTK'lı hastaların çoğu, risk altındaki aile üyelerinin genetik olarak test edilmesiyle belirlenmektedir. Böylece hastalar daha genç yaşta tanı almakta ve uygun şekilde taranan bireylerde prekürsör lezyonlar ve tümörler daha erken aşamalarda saptanabilmektedir²⁶.

Preoperatif ultrasonografide tipik olarak hipoekoik, düzensiz sınırlı solid nodüller ve intranodüler vaskülarizasyon gibi spesifik olmayan malignite bulguları görülür³⁶. Fonksiyonel görüntüleme modaliteleri, özellikle 18F-FDOPA ve 18F-FDG'li PET/BT, MTK'lı hastaların ilk evrelemesi ve postoperatif takibi sırasında hastalık yaygınlığının değerlendirilmesinde çok önemli bir rol oynar³⁷. 18F-FDOPA PET/BT, okült metastatik hastalığın saptanması için özellikle hassastır ve genellikle sonrasında spesifik organ tutulumuna bağlı olarak alternatif teknikler kullanılarak hedefe yönelik görüntüleme yapılır^{37,38}.

D. Patogenez

Aktive edici RET mutasyonları, hücre büyümesini, proliferasyonunu, hayatta kalmasını ve diferansiyasyonunu destekleyen, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) yolları dahil olmak üzere multipl yolların aktivasyonu yoluyla tümör oluşumuna yol açar³⁹. RET wild tip MTK'ların çoğunda, RAS mutasyonlarının da dahil olduğu, MAPK yolağını aktive eden alternatif mekanizmalar rol alır⁴⁰⁻⁴⁵. CDKN2C geninde somatik kopya sayısı kaybı⁴⁵, mTOR yolu aktivasyonu^{46,47}, EZH2 ve SMYD3 gibi histon metiltransferazlarının artmış ekspresyonu⁴⁸ ve TERT

promotör metilasyonu ve kopya sayısı kazanımı⁴⁹ gibi epigenetik değişiklik ve diğer değişikliklerin de neoplastik progresyona katkıda bulunduğu bildirilmiştir.

E. Makroskopik Özellikler

Tümör boyutu, çap olarak submilimetrik boyutlardan tüm tiroid lobunu kaplayan boyutlara kadar değişkenlik gösterir. Sporadik MTK tipik olarak unilateral iken kalıtsal MTK genellikle bilateral ve multisentriktir²⁹. Tümörler tipik olarak iyi sınırlı, kapsülsüz, kesit yüzeyi solid özellikte, krem-sarı renkli, ortalama 2-3 cm çaplıdır. Bazen infiltratif sınırlara sahip olabilir⁵⁰. Familial sendromlu hastalara uygulanan profilaktik tiroidektomilerde, tümörler makroskopik olarak görülemeyebileceğinden tiroidin tümüyle incelenmesi gerekir.

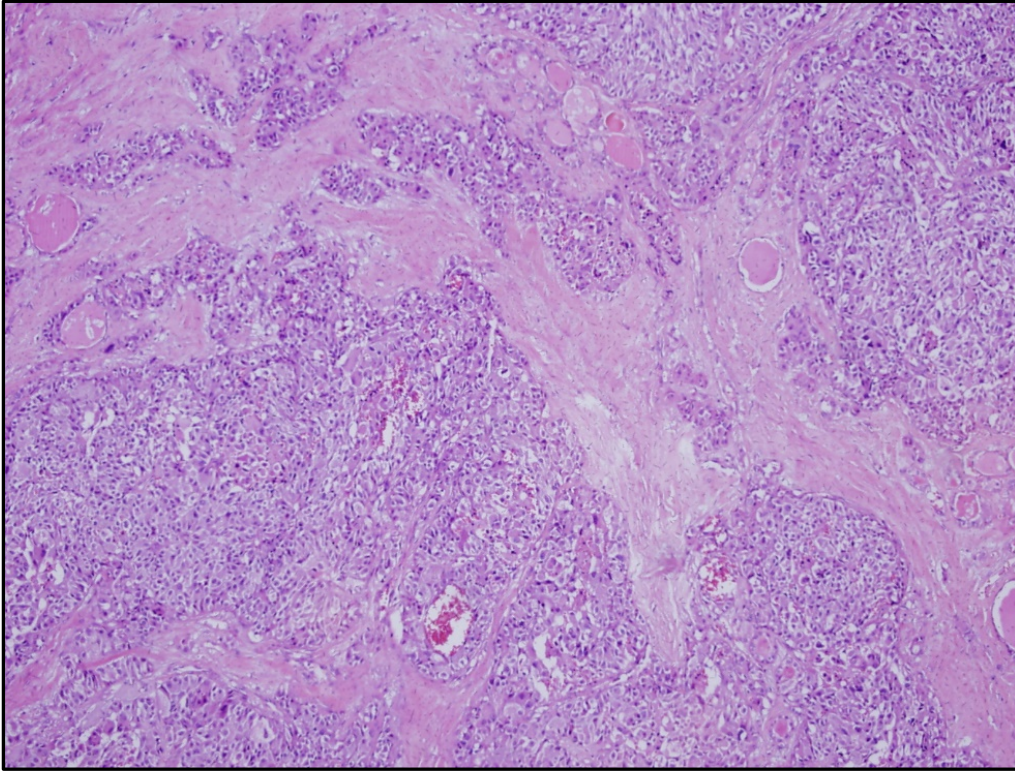
Çapı 10 mm'den küçük olan tümörler "medüller mikrokarsinom" olarak adlandırılmıştır²⁹. Bu tümörlerin çoğu başka nedenlerle çıkarılan tiroidlerde insidental olarak veya nodüler tiroid hastalığı olan hastalarda anormal kalsitonin seviyeleri varlığında saptanır²⁹. Bazı yazarlar, "mikrokarsinom" teriminin 5 mm'den küçük tümörler için kullanılmasını önermektedir, çünkü bu boyuttaki tümörlerin lenf nodu metastazı yapmadığını ve postoperatif hiperkalsitoninemiye sebep olmadığını belirtmektedirler⁵¹⁻⁵⁴.

F. Histopatolojik Özellikler

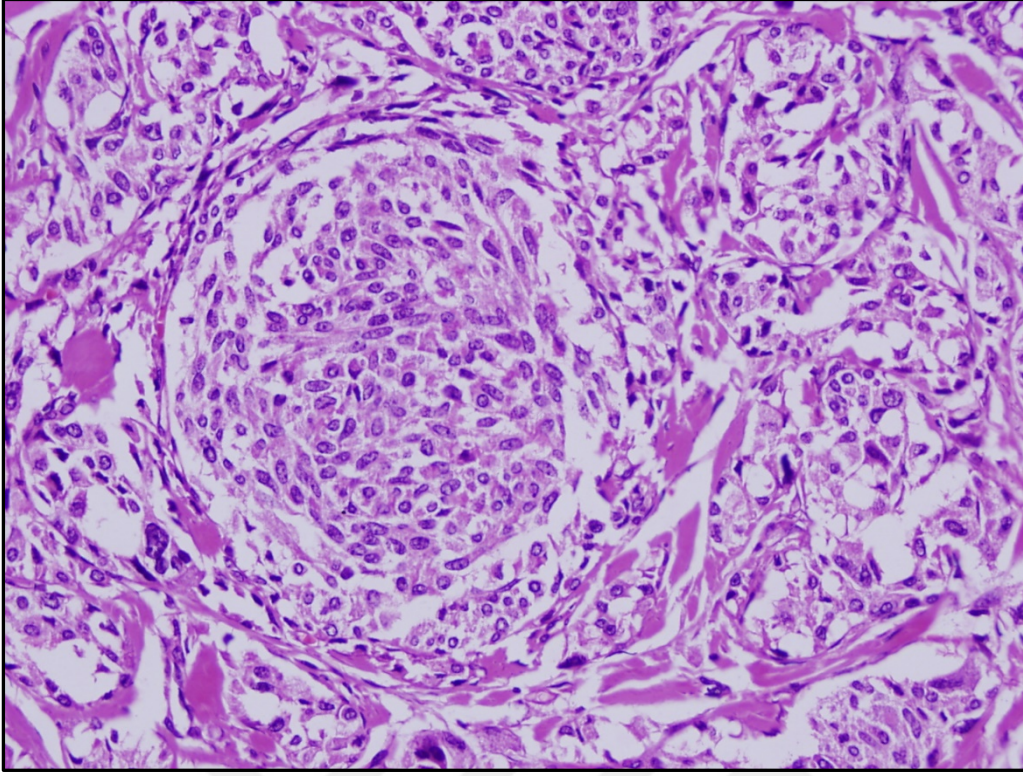
MTK'nın morfolojik spektrumu oldukça geniştir ve tiroid malignitelerinin tüm spektrumunu taklit edebilecek özellikler içerir. Tümörler tipik olarak organoid bir yapıya sahip, değişen miktarlarda fibrovasküler stroma ile ayrılmış solid, adalar halinde (nested), insuler veya trabeküler büyüme paternleri gösterir^{29,50} (**Resim 1, 4**). Hücreler genellikle poligonal özellikte, granüler amfofilik sitoplazmaya ve ince nükleer kromatine sahiptir⁵⁰ (**Resim 2**). Nükleoller genellikle belirgin değildir. Plazmasitoid, iğsi şekilli gibi çeşitli hücre tipleri görülebilir. Tek bir tümörde sıklıkla birden fazla hücre tipi görülür. Tipik olarak düşük-orta derecede nükleer atipi vardır, ancak bazı vakalarda dağınık olarak bizar nükleuslu belirgin pleomorfik hücreler (**Resim 3**) ve dev hücreler saptanabilir. Nadiren nükleer psödoinklüzyonlar (**Resim 3**) mevcut olabilir. Mitotik aktivite genellikle düşüktür ve tümör nekrozu nadiren görülür^{10,55}. Psammom benzeri cisimcikler dahil kalsifikasyon ve ossifikasyon görülebilir. Stromal amiloid birikimi vakaların %50-90'ında görülür ve Kongo kırmızısı histokimyası ile gösterilebilir^{56,57}. Spektrometrik analizler, kalsitoninin MTK'daki

amiloidin esas bileşeni olduğunu göstermiştir, ancak katakalsin, apolipoprotein E ve vitronektin gibi bir dizi amiloid ile ilişkili proteinin de bu depozitlere eşlik ettiği gösterilmiştir^{56,58,59}. Elektron mikroskobu, sıkı veya gevşek bir membranla çevrili yuvarlak, uniform korlara sahip küçük (<200 nm çap) ve orta büyüklükte (200-300 nm çap) sekretuar granülleri göstermektedir⁶⁰. Her iki granül tipi de kalsitonin içerir.

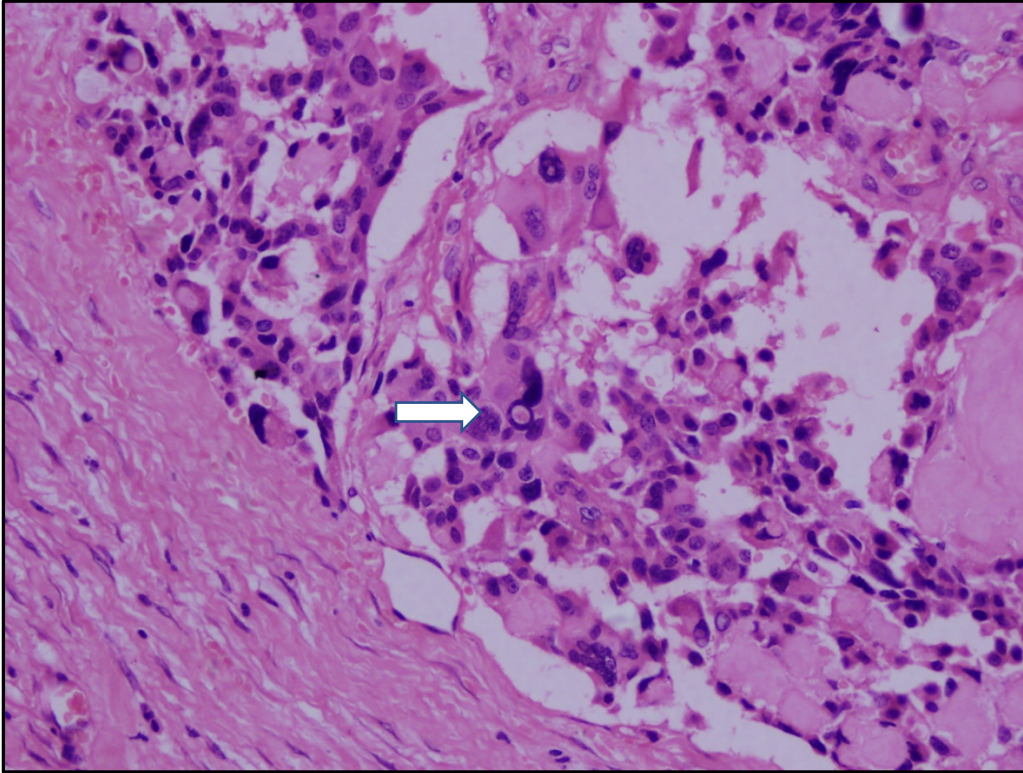
Kalıtsal MTK formlarına sahip hastaların tümörleri ile sporadik olarak ortaya çıkan tümörler histolojik olarak ayırt edilemez. MTK'nın kalıtsal formlarında C hücre hiperplazisi ile bir ilişki bildirilmiştir; bununla birlikte, bu bulgu spesifik değildir ve sıklıkla sporadik tümörlerle ilişkili olarak veya MTK dışındaki nedenlerle çıkarılan tiroidlerde de saptanmaktadır⁶¹⁻⁶³.



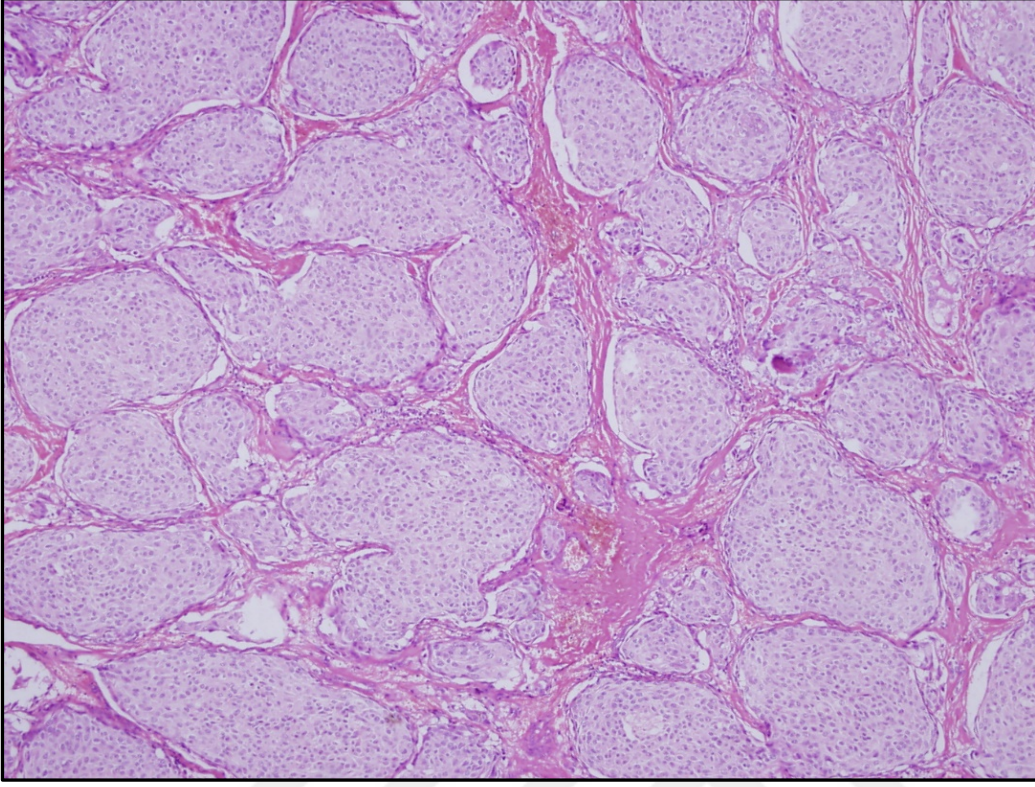
Resim 1: Medüller tiroid karsinomu (MTK) H&E x100



Resim 2: Medüller tiroid karsinomu nükleer özellikleri H&E x400



Resim 3: Medüller tiroid karsinomu, psödoinklüzyon (beyaz ok) ve pleomorfizm H&E x400

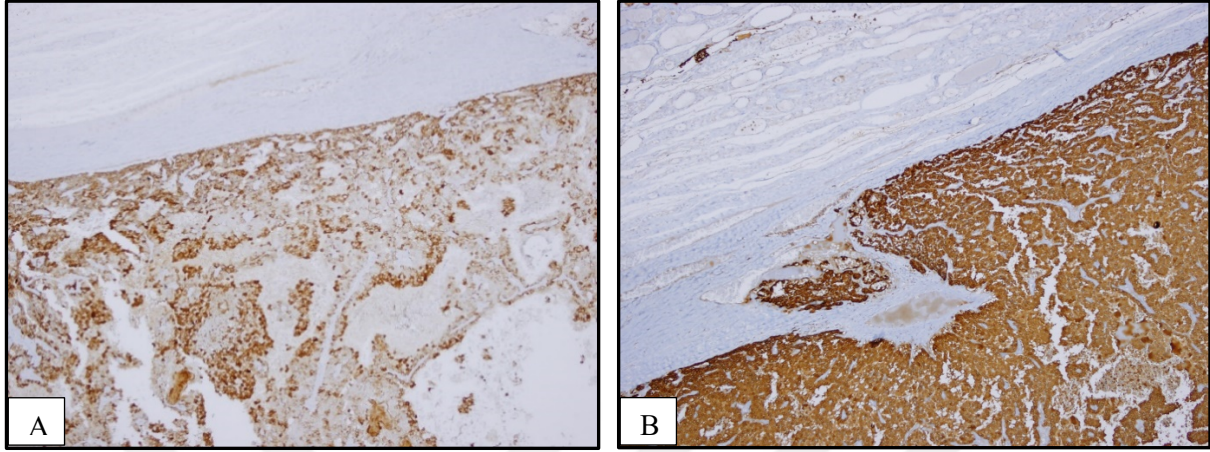


Resim 4: Medüller tiroid karsinomu, nested (ada) patern H&E x100

G. İmmünohistokimyasal Özellikler

MTK vakalarının %95'i immünohistokimyasal olarak kalsitonin ile pozitifdir, ancak reaksiyon fokal olabilir²⁹ (**Resim 5-A**). Kromogranin A, sinaptofizin, nöron spesifik enolaz (NSE) ve INSM1 gibi nöroendokrin belirteçler pozitifdir. Kalsitonin geni ile ilişkili peptit (CGRP) de vakaların büyük bir kısmında pozitifdir; kalsitonin negatif bazı vakalar CGRP'yi eksprese edebilir^{32,64}. CEA çoğu vakada eksprese edilir (**Resim 5-B**) ve kalsitoninin negatif olduğu nadir vakalarda da pozitif olabilir²⁹. Tiroid transkripsiyon faktörü 1 (TTF-1) çoğu vakada eksprese edilir, ancak genellikle reaksiyonun yoğunluğu normal foliküler hücrelerde ve tümörlerinde olduğundan daha azdır^{65,66}. Tiroglobulin MTK'da negatiftir. Ancak komşu non-neoplastik foliküllerden neoplastik hücrelerin üzerine tiroglobulin sızabilir ve özellikle küçük biyopsilerde yorumlamada güçlükler neden olabilir. Poliklonal PAX8 ile reaksiyon değişken ve zayıftır^{67,68}. Ancak, monoklonal PAX8 MTK'da negatiftir⁶⁹. Somatostatin reseptörü 2a (SSTR-2a) ve 5 (SSTR-5) alt tipleri eksprese edilebilir⁷⁰. Kalsitoninin, özellikle intermedier grad laringeal nöroendokrin tümörlerde ve çeşitli ekstratiroidal nöroendokrin tümörlerde

eksprese edilebiliyor olduğu bilgisi akılda tutulmalıdır⁷¹. TTF-1'in diffüz ve güçlü olmaması, bu tümörü MTK'dan ayırmaya yardımcı olabilir⁷¹.



Resim 5: A. Kalsitonin immünohistokimyası x100, B. CEA immünohistokimyası x100

H. Histolojik Paternler

MTK'nın çok sayıda histolojik paterni tanımlanmıştır. Bu paternlerin çoğunun prognostik önemi olmamasına rağmen, diğer tümör tipleri ile karıştırılmaması için tanınmaları önemlidir²⁹. Çoğu vakada tümörler, klasik ve değişken sitoarşitektürel morfolojileri birlikte içerir. Heterojen tümörlerde bu paternleri tanımlamak için eşik yüzde değerleri henüz belirlenmemiştir. Papiller ve psödopapiller paternleri papiller tiroid karsinomundan ayırt etmek özellikle zor olabilir. Papiller paternde, tümör hücreleri, sıklıkla hyalinize olan ve amiloid içeren gerçek fibrovasküler korlar boyunca dizilir^{72,73} (**Resim 6**). Tümör hücreleri ayrıca intranükleer psödoinklüzyonlar içerebilir, bu da papiller tiroid karsinomundan ayrımı daha da zorlaştırır⁷⁴. Tümör hücre gruplarının doku parçalanması nedeniyle artifisyel olarak stromadan ayrılmasıyla oluşan psödopapiller paterne daha sık olarak rastlanır^{73,74}.

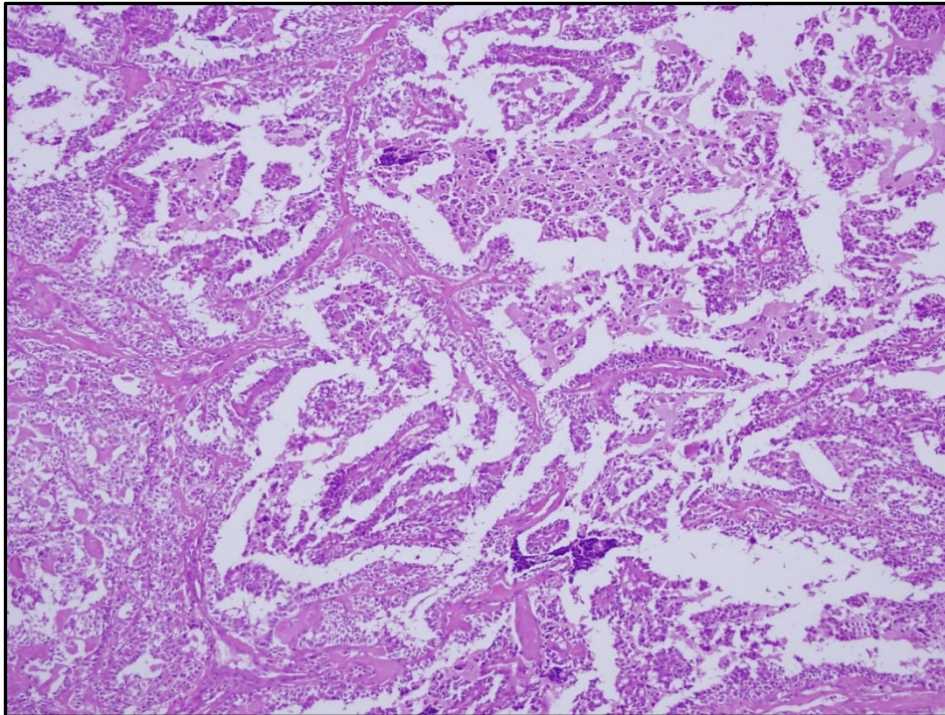
Foliküler (tübüler/glandüler) paternde, tümör hücreleri, luminal eozinofilik materyal (kalsitonin ve diğer proteinler) içerebilen foliküler yapılar halinde izlenir⁷⁵ (**Resim 7**). Foliküler karsinomun aksine, tümör hücreleri ve bu sekresyonlar kalsitonin pozitif, tiroglobulin negatiftir⁷⁵.

İğsi hücreli patern, gevşek kümeler halinde veya tek tek izlenen uzun iğsi biçimli hücrelerden oluşur⁷⁶ (**Resim 8**). Bazı tümörlerde belirgin bir anjiyosarkom benzeri görünüm izlenebilir⁷⁷. Tümörler ayrıca plazmasitoid hücreler, skuamöz hücreler, dev hücreler, berrak hücreler veya onkositik hücrelerden oluşan baskın bir popülasyon içerebilir²⁹. MTK'nın onkositik paterni sıklıkla, bol miktarda granüler eozinofilik sitoplazmaya sahip poligonal hücre tabakaları içeren Hurthle hücreli neoplazileri taklit eder⁷⁸ (**Resim 9**). Melanotik patern son derece nadirdir ve tümör ve/veya stromal hücrelerin sitoplazmasında değişken miktarlarda melanin pigmenti ile karakterizedir⁷⁹ (**Resim 10**). Amfikrin patern hem müsin hem de kalsitonin içeren hücrelerden oluşur^{80,81}.

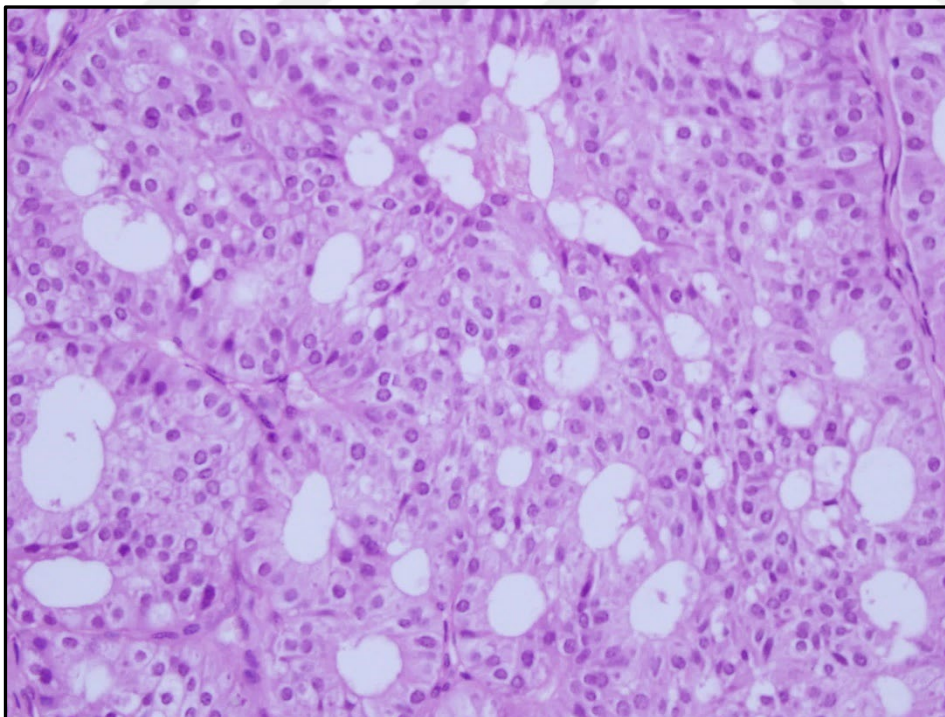
Paraganglioma-benzeri patern, "Zellballen" paterni ve olası S100-pozitif sustentaküler benzeri hücreler ile paraganglioma/feokromositomanın klasik büyüme paternine benzer⁸²⁻⁸⁸. Sitokeratin ve TTF-1'in pozitifliği, bu MTK paternini, bu belirteçlerin negatif olduğu intratiroidal paragangliomadan ayırır.

Enkapsüle patern tam bir fibröz kapsül ile karakterizedir, bu tümörler makroskopik olarak tamamen kistik görünümde olabilir^{89,90}.

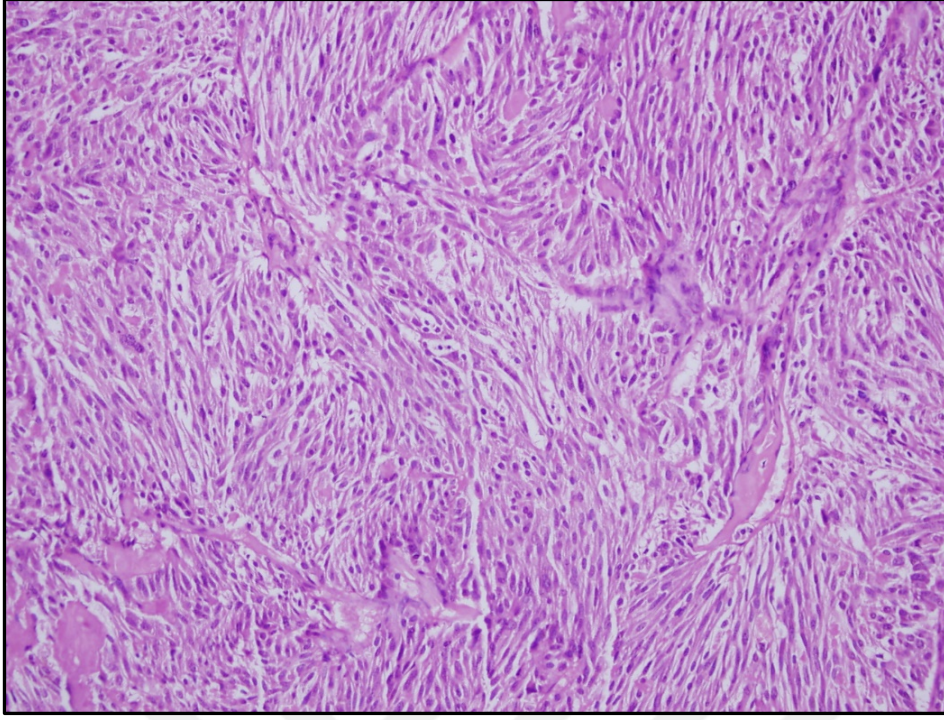
Küçük hücreli nöroendokrin karsinomu anımsatan küçük hücreli patern çok nadirdir. Özellikle tümör hücreleri kalsitonin eksprese etmediği takdirde bu tanı dikkatle konmalıdır⁹¹. Bu varyantta serum kalsitonin değeri normal veya hafif yüksek olabilir⁹². Önceleri küçük hücreli MTK olarak yorumlanan bazı tümörlerin, başka yerlerden kaynaklanan metastatik nöroendokrin karsinomları temsil ettiği gösterilmiştir^{93,94}. Ayrıca bu tümörlerin bazılarının EWSR1::FLI1 gen yeniden düzenlemeleri içermeleri sebebiyle Ewing tümör ailesi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür⁹⁵.



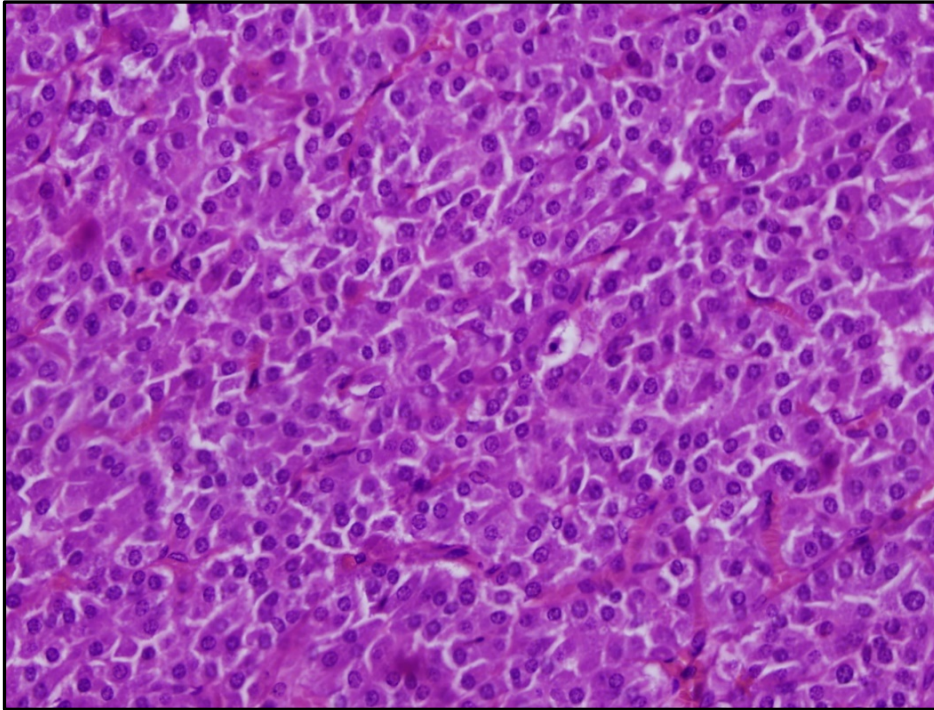
Resim 6: Papiller patern H&E x100



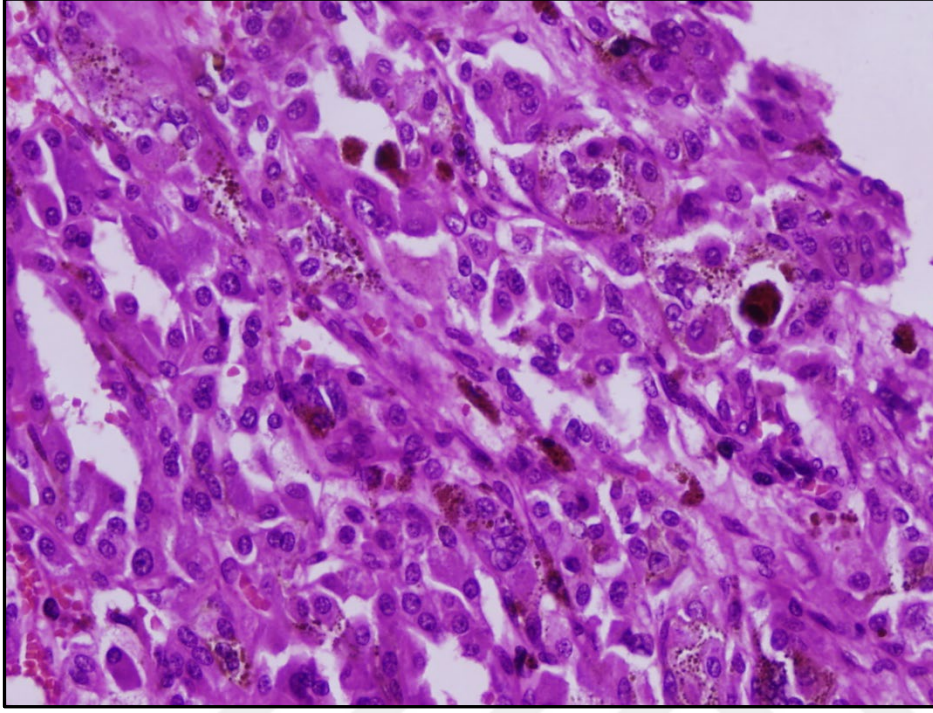
Resim 7: Asiner patern H&E x400



Resim 8: İğsi hücreli patern H&E x200



Resim 9: Onkositik patern H&E x400

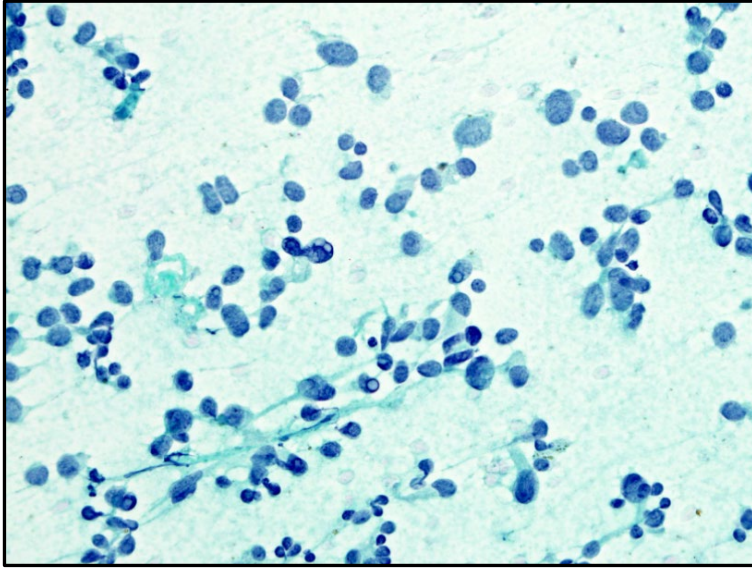


Resim 10: Melanotik patern H&E x400

İ. Sitolojik Özellikler

Yaymalar genellikle tek tek dağılmış plazmasitoid, poligonal, yuvarlak veya iğsi hücrelerle karakterize olup, oldukça hücrelidir^{96,97} (**Resim 11**). Genellikle değişken miktarlarda, birbirine gevşek şekilde tutunan doku fragmanları baskındır, bazı durumlarda binükleer hücreler ve dev hücreler görülebilir^{96,97}. Çekirdekler yuvarlak-oval şekilli, mikst ince ve kaba, 'nöroendokrin' çekirdeklere benzeyen noktalı kromatin ile karakterize olup, nadiren nükleer psödoinklüzyonlar görülür. Nükleoller göze çarpmaz. Eksantrik sitoplazmanın miktarı değişkendir ve azurofilik/kırmızı (Giemsa) granüller içerebilir. Zeminde değişken miktarlarda, nispeten yoğun ve sert kenarlı amorf mor renkli (Giemsa) veya soluk yeşil-eozinofilik (Pap) özellikte amiloid görülebilir⁹⁶. Tümör hücreleri ince granüler sitoplazmaya sahip yuvarlak veya polihedral şekilde olduğunda, ayırıcı tanıya foliküler hücre kaynaklı neoplaziler girer, ancak hücrelerin diskohezyonu MTK için ayırt

edici bir özelliktir^{90,98-100}. Metastatik nöroendokrin karsinom ve melanom da MTK'yı taklit edebilir. MTK'nın İİAB tanısı, farklı görünimleri ve diğer tiroid neoplazileri ile morfolojik olarak örtüşmesi nedeniyle zorlayıcı olabilir¹⁰¹. Tanısal doğruluk, foliküler hücre kaynaklı neoplazilere göre daha düşük orandadır¹⁰¹. 641 MTK vakasının dahil olduğu bir meta-analizde, genel sensitivitenin %56,4 olduğu bildirilmiştir¹⁰¹. Kalsitonin immünohistokimyası ve nöroendokrin belirteçler doğru tanıyı koymak için yardımcı olur. Benign ultrasonografik görünüme sahip nodüllerde, yüksek serum kalsitonin değerleri MTK'nın tanımlanmasına yardımcı olabilir^{102,103}. 140 MTK vakasının dahil olduğu retrospektif bir analizde, tanı için İİAB ve serum kalsitoninin sensitiviteyi sırasıyla %51,3 ve %98,7 olarak bildirilmiştir³⁰. Sınırdan veya yüksek serum kalsitonin değerleri olan hastalarda tiroid İİAB'sinin yıkama (wash-out) sıvısındaki kalsitonin düzeylerinin ölçümünün yüksek sensitiviteye sahip olduğu gösterilmiştir^{104,105}. Moleküler testler, İİAB'nin tanısal doğruluğunu geliştirmek için alternatif bir strateji sağlar¹⁰⁶.



Resim 11: Medüller tiroid karsinomu sitolojik özellikler x400

J. Medüller Tiroid Karsinomunda Evreleme

American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından 2017 yılında 8. baskısı yayınlanan TNM sınıflama kategori ve kriterleri Tablo 2, 3 ve 4'te, evreleme grupları Tablo 5'te özetlenmiştir.

Tablo 2: Primer tümör sınıflaması- (T)

T kategorisi	T kriteri
Tx	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümör bulgusu yok
T1	En geniş tümör çapı ≤ 2 cm, tümör tiroide sınırlı
T1a	En geniş tümör çapı ≤ 1 cm, tümör tiroide sınırlı
T1b	En geniş tümör çapı >1 cm, ≤ 2 cm, tümör tiroide sınırlı
T2	En geniş tümör çapı >2 cm, ≤ 4 cm, tümör tiroide sınırlı
T3	En geniş tümör çapı >4 cm, tümör tiroide sınırlı veya sadece strap kasları invaze eden makroskopik ekstratiroidal yayılım
T3a*	En geniş tümör çapı >4 cm, tümör tiroide sınırlı
T3b	Tümör boyutundan bağımsız sadece strap kasları (sternohyoid, sternotiroid, tirohyoid, omohyoid kasları) invaze eden makroskopik ekstratiroidal yayılım
T4	İleri hastalık
T4a	Orta düzeyde ileri hastalık, tümör boyutundan bağımsız, çevre boyun yumuşak doku, larenks, trakea, özofagus veya rekürren larengeal sinire makroskopik ekstratiroidal yayılım
T4b	Çok ileri hastalık, tümör boyutundan bağımsız, omurgaya, çevre büyük damarlara, prevertebral fasya veya karotis artere, mediastinel damarlara yayılım

*Tüm kategorilerde soliter tümör ve multifokal tümör (en büyük odağın çapı) ayrılmalıdır.

Tablo 3: Bölgesel lenf nodu sınıflaması – (pN)

N kategorisi	pN kriteri
Nx	Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N0a	Bir veya daha fazla sitolojik-histolojik olarak konfirme edilmiş benign lenf nodu
N0b	Radyolojik veya klinik olarak lokal-bölgesel lenf nodu metastazı kanıtı yok
N1	Bölgesel lenf nodlarına metastaz

N1a	Level VI veya VII lenf nodlarına metastaz (pretrakeal, paratrakeal, prelarengeal/Delphian veya üst mediasten), unilateral veya bilateral olabilir.
N1b	Unilateral, bilateral veya kontrilateral lateral lenf nodlarına (Level I, II, III, IV, V) veya retrofarengeal lenf nodlarına metastaz

Tablo 4: Uzak metastaz sınıflaması – (M)

M kategorisi	M kriteri
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 5: Evreleme grupları

T	N	M	Evreleme grubu
T1	N0	M0	I
T2	N0	M0	II
T3	N0	M0	II
T1-3	N1a	M0	III
T4a	Herhangi bir N	M0	IVA
T1-3	N1b	M0	IVA
T4b	Herhangi bir N	M0	IVB
Herhangi bir t	Herhangi bir N	M1	IVC

K. Diagnostik Moleküler Patoloji

MTK'lı hastaların yaklaşık %25'inde MEN2 saptanmaktadır, ancak aile öyküsünden bağımsız olarak tüm hastalarda RET mutasyonları için germline test yapılması önerilir⁴. Mevcut kaynaklara göre bir yaklaşım öncelikle mutasyonel hotspot'ların [ekson 10 ve 11'deki sistein kodonları (kodon 609, 611, 618, 620, 630 ve 634) ve ekzon 13, 14, 15 ve 16'daki ek RET kodon mutasyonları] sekanslanmasıdır¹⁰⁷. Diğer kurumlar, tüm RET kodlama bölgesini sekanslar veya hotspot eksonlarından başlayarak iki aşamalı bir yaklaşım kullanır.

Sporadik MTK'ların yaklaşık yarısında yalnızca somatik RET mutasyonları bildirilmiştir^{40,41,108-111}, somatik veya germline RET mutasyonları ile ilişkili MTK'ların hedefe yönelik RET inhibitörleri ile tedaviye yanıt vermesi muhtemel olduğundan, bunların tanımlanması önemlidir¹¹².

Sporadik MTK'da en sık görülen somatik RET mutasyonu, sporadik MTK'daki RET mutasyonlarının %80'inden sorumlu olan RET p.M918T mutasyonudur^{40-42,108,110,111}. Kodon 634'teki mutasyonlar, RET mutasyonlarının yaklaşık %15'ini oluşturur¹⁰⁸. İlginç bir şekilde, M918T mutasyonunun prevalansı medüller tiroid mikrokarsinomlarında belirgin oranda daha düşük¹¹¹, ilerlemiş hastalık durumunda ise önemli ölçüde daha yüksektir¹¹³, bu da RET mutasyonlarının tümör gelişiminin başlatıcılarından ziyade tümör oluşumunu tetikleyen sekonder olaylar olabileceğini düşündürmektedir¹¹⁴. Ayrıca sporadik MTK'ların yaklaşık dörtte birinde, tümör hücrelerinin belli bir kısmında kromozom 10'da anöploidi (trizomi ve tetrazomi) saptanır, bu da RET-mutant MTK'larda daha yüksek oranda görülen RET kopya sayısı değişikliklerine neden olur¹¹⁵.

MTK'da RET dışında az sayıda moleküler değişiklik bildirilmiştir. RET mutasyonlarını içermeyen tümörlerin yaklaşık %70'inde RAS mutasyonları saptanır. En sık olarak HRAS mutasyonları görülürken, KRAS mutasyonları ve nadiren de NRAS mutasyonları izlenir^{2,40-44}. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sporadik MTK'ların %17'sinde HRAS mutasyonları, %7'sinde KRAS mutasyonları ve <%1'inde NRAS mutasyonları olmak üzere toplamda %24'ünde RAS değişiklikleri saptanmıştır⁴¹. RET ve RAS mutasyonları hemen hemen her zaman birbirini dışlar; bununla birlikte, hem RET hem de RAS mutasyonlarını içeren nadir tümörler bildirilmiştir^{41,42}. Sporadik MTK'ların %20'sinden azında RET veya RAS mutasyonları saptanmaz^{41,43}, sekanslama çalışmalarında bu tümörlerin diğer rekürren mutasyonları da içermediği gösterilmiştir^{41,43,44,116,117}. Seyrek vakada RET ve ALK gen yeniden düzenlemelerinin izlendiği bildirilmiştir^{118,119}.

L. Prognostik Faktörler

Palpabl tiroid nodülü ile başvuran hastalarda, bazı serilerde tanı anında klinik servikal lenf nodu tutulumu oranı %75'e¹²⁰, uzak metastaz oranı ise %10'a ulaşmaktadır^{25,121}. Lenf nodu metastazları en sık santral bölgede (vakaların %50-75'i), ipsilateral jugulokarotid zincirde (%50-60 vakada) ve kontralateral jugulokarotid zincirde (%25-50 vakada) saptanmaktadır^{122,123}. Uzak metastazlar en sık karaciğer, akciğerler ve kemiklerde; daha az sıklıkla beyin, deri, sürrenal glandlar ve meme gibi diğer bölgelerde görülmektedir^{4,124,125}.

Beş yıllık ve 10 yıllık genel sağkalım oranları, sırasıyla %75-96 ve %64-91 olarak bildirilmekle birlikte, primer olarak hastalık evresine bağlıdır¹²⁶⁻¹²⁹. Kalıtsal MTK vakalarında, biyokimyasal veya genetik tarama yoluyla tiroide sınırlı hastalığın erken tespiti, prognozda önemli gelişmeler sağlamıştır⁴, bazı çalışmalarda genel popülasyonunkilerle karşılaştırılabilir genel sağkalım oranları bildirilmiştir¹²⁹. Yine yakın zamanda, erken evre hastalığı olan ve bölgesel lenf nodu metastazı olmayan hastaların genel popülasyona benzer sağkalım oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir¹²⁹. Sağkalımı etkilediği bilinen diğer faktörler arasında tümör boyutu, ileri yaş, erkek cinsiyet, ekstratiroidal yayılım, serum kalsitonin ve CEA seviyeleri yer almaktadır^{4,108,130-134}. Hücre tipi (iğsi, yuvarlak vs.), pleomorfizm, amiloid yaygınlığı gibi histolojik parametreler potansiyel prognostik önem açısından araştırılmış, ancak çok değişkenli analizlerde önemi kanıtlanamamıştır. Vasküler invazyonun, hastalısız sağkalım açısından olumsuz prognostik faktör olduğunu ve desmoplazinin metastatik potansiyeli öngörebilecek bir parametre olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur^{128,135,136}.

RET mutasyonlarının da MTK'da prognostik olarak önemli olduğu gösterilmiştir. Sporadik tümörlerde, RET mutasyonunun varlığının, tanı sırasında daha ileri hastalık evresi, hastalık nüksü ve daha kısa sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir^{108,113,137,138}. Spesifik olarak, ekson 15 ve 16'da (RET M918T mutasyonunun da bulunduğu) RET mutasyonlarını içeren tümörler en kötü prognozla, diğer RET mutasyonlarına sahip tümörler indolan seyirle ilişkilendirilmekte olup; RET mutasyonu olmayanlar intermedier prognoza sahip olma eğilimindedir¹⁰⁹. Bu nedenle, RET-mutant sporadik MTK ile ilişkili kötü prognoz, büyük ölçüde RET M918T mutasyonunun yüksek oranına atfedilebilir²¹. MEN2'li hastalarda, kalıtsal RET mutasyonunun spesifik lokasyonu hastalığın ortaya çıkış zamanını ve prognozu da belirler²¹. MEN2B'li hastaların büyük çoğunluğunda agresif RET M918T mutasyonu görülür ve tanı konmadığı takdirde, bu hastalar sıklıkla 21 yaşına kadar kaybedilirler²¹. MEN2A'lı hastalar genellikle 25 ila 35 yaşları arasında MTK ile prezente olurlar ve tanı anında %70'inden fazlasında lenf nodu metastazı saptanır²¹. MEN2A'da hastalığın ortaya çıkma yaşı, mevcut spesifik mutasyon tarafından belirlenir; ekson 11 RET C634 mutasyonunu içerenler, diğer tüm mutasyonlardan (genellikle ekson 10) daha erken bir yaşta başlangıç gösterir²¹. Hem sporadik hem de germline RET mutasyonları ile ilişkili MTK'lar, RET inhibitörlerine iyi yanıt vermektedir¹¹².

Diğer nöroendokrin tümörlerin aksine, yakın zamana kadar MTK için yaygın olarak kabul edilen bir histopatolojik derecelendirme şeması yoktu; ancak son zamanlarda, proliferatif aktiviteye (mitotik sayı ve Ki67 proliferatif indeksi) ve tümör nekrozuna dayalı

histolojik derecelendirme şemaları önerilmiştir^{10,55}. Orijinal çalışmalarda^{10,55} ve sonrasında yapılan validasyon kohortunda¹³⁹ derecelendirme sistemlerinin genel sağkalım⁵⁵, hastalık spesifik sağkalım^{10,139}, lokal nüksüz sağkalım^{10,55} ve uzak metastazsız sağkalım¹⁰ üzerinde önemli etkileri olduğu gösterilmiştir. Daha sonra, iki kademeli bir konsensus derecelendirme şeması geliştirilmiştir^{10,55}. Bu derecelendirme sisteminde, yüksek dereceli MTK'lar, aşağıdaki üç özellikten en az birine sahip tümörler olarak tanımlanır: 2 mm²'de mitoz sayısı ≥ 5 , Ki67 proliferasyon indeksi $\geq 5\%$ ve/veya tümör nekrozu¹⁴⁰. Ki67 ve mitoz sayılarının sürekli değişkenler olması sebebiyle, histolojik dereceye ek olarak mitotik sayı, Ki67 proliferatif indeksi ve tümör nekrozunun varlığı veya yokluğunun raporda bildirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır¹⁴⁰.

M. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler ile İlgili Genel Bilgiler

M.1. Bcl-1 (Siklin D1)

Bcl-1 veya diğer ismiyle Siklin D1 hücre proliferasyonunda rol alan, G1 fazından S fazına geçişten sorumlu, DNA replikasyonunu başlatan bir gendir. Bcl-1 geç faz G1'de en yoğun olduğu aşamaya ulaşır ve hücre döngüsü S fazına girdiğinde kaybolur. Bcl-1 sentezi, aktif olmayan hücrelerin hücre döngüsüne girmesini sağlayan büyüme faktörleri tarafından uyarılır^{15,141-145}. Aşırı Bcl-1 birikimi ile hücrelerde G1 fazının kısaldığı ve hücrelerin fizyolojik büyüme faktörlerine reaksiyon vermeyerek aşırı çoğaldığı saptanmıştır¹⁵.

Bcl-1 aşırı ekspresyonu birçok tümörde daha yüksek gradlı bir tümöre transformasyonda saptanmaktadır. Literatürde tiroid karsinomlarında Bcl-1 ekspresyonunu araştıran çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte, sonuçlar tartışmalıdır.

Wang ve arkadaşlarının çalışmasında klasik tiroid papiller karsinomu, minimal invaziv foliküler karsinom ve anaplastik karsinomların dahil olduğu 76 vakalık bir grupta Bcl-1 ekspresyonu araştırılmış, daha agresif seyreden tiroid karsinomlarında, klasik tiroid papiller karsinomu ve minimal invaziv foliküler karsinoma göre Bcl-1 aşırı ekspresyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuca göre Bcl-1 ekspresyonunun tümör progresyonu ve prognoz açısından anlamlı olabileceği sonucuna varılmıştır¹⁶.

Temmin ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada klasik, foliküler ve tall cell varyant tiroid papiller karsinomu ve medüller tiroid karsinomunun dahil olduğu 50 vakalık bir grupta ise Bcl-1 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı veya diğer histolojik-klinik parametreler arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır¹⁷.

Sporny ve arkadaşlarının çalışmasında klasik papiller karsinom, foliküler karsinom, medüller tiroid karsinomu ve anaplastik karsinomu içeren 35 vakalık bir grupta Bcl-1 ekspresyonu araştırılmış, medüller karsinomda diğer tiroid tümörlerine göre daha çok sayıda hücrede ekspresyon olduğu ve daha agresif tiroid karsinomlarında ekspresyonun arttığı sonucuna varılmıştır¹⁵.

Erovic ve arkadaşlarının çalışmasında ise 23 MTK vakasında Bcl-1 ekspresyonu araştırılmış, bulguların sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır¹⁴.

M.2. Ki67

Ki67 antikorunun, çoğalan hücrelerin tüm fazlarında (G1, S, G2 ve M) bulunan, ancak dinlenme hücrelerinde (G0) bulunmayan, kromozom 10 üzerindeki bir kromatin proteinini-nükleer antijeni tanıdığı gösterilmiştir¹⁴⁶⁻¹⁴⁸. Ki67 antijen ekspresyonu S fazında artar ve M fazında en yüksek düzeyine ulaşır¹⁴⁹. Teorik olarak, saptanabilir Ki67'ye sahip herhangi bir tümör hücresi çoğalma aşamasındadır, bu nedenle Ki67 çok hassas bir çoğalma belirteci haline gelmiştir. Ki67 üzerinde yapılan çalışmalar, kanser tanısı, derecelendirme ve prognoz için değerli bir biyobelirteç olduğunu kanıtlamıştır^{8,9,18,150}.

Ki67 hücre proliferasyon indeksi nöroendokrin tümörlerde prognozu öngörmeye uzun zamandır kullanılan önemli bir belirteçtir, ancak medüller tiroid karsinomu için yakın zamana kadar bir eşik değeri belirlenmemiştir. Son zamanlarda yapılan birkaç çalışmada, medüller tiroid karsinomunun histopatolojik olarak derecelendirilmesi amacıyla proliferatif aktiviteye (mitotik sayı ve Ki67 proliferatif indeksi) ve tümör nekrozuna dayalı histolojik derecelendirme şemaları önerilmiştir^{10,55}. Bu çalışmalarda Ki67 için prognozu en doğru şekilde öngörebilecek farklı eşik değerleri araştırılmıştır ve eşik değeri %5 olarak belirlenmiştir^{10,55,139,140}. Bu değerin, genel sağkalım, lokal nüksüz sağkalım ve uzak metastazsız sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir^{10,55,139}.

Yapılan çalışmalarda Ki67 proliferasyon indeksinin, özellikle nöroendokrin tümörlerde “hotspot” olarak tanımlanan, proliferasyonun daha yoğun olduğu bölgelerde değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır¹⁵¹.

M.3. p27

CDKN1B tarafından kodlanan p27 (Kip1), siklin bağımlı kinaz (CDK) aktivitesini düzenleyen ve hücre döngüsünün G1 fazı boyunca ilerlemeyi kontrol etmede esansiyel bir rolü olan Cip/Kip ailesinin bir CDK inhibitörüdür¹⁵². Keşfedilmesinden bu yana, apoptozun düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücre migrasyonu dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik fonksiyonda rolü olduğu gösterilmiştir^{152,153}.

Bir CDK inhibitörü olarak, p27 kaybının neoplastik süreçlerin gelişimine katkıda bulunabileceği bilinmektedir. Ayrıca p27'nin sitoplazmaya taşınmasının da p27'yi bozduğu ve karsinomun ilerlemesine katkıda bulunduğu bilinmektedir¹⁵⁴. Birçok somatik ve germline mutasyonlar tanımlanmış ve CDKN1B'nin bir dizi tümörde tümöre yatkınlık geni olarak rolü ortaya çıkarılmıştır¹⁵⁵. Bu gözlemlerle tutarlı olarak, p27 ekspresyonunun azalması veya kaybı meme kanseri, over kanseri, gastrointestinal tümörler ve akciğer karsinomları gibi tümörlerde kötü prognozla ilişkilendirilmiştir¹⁵⁶⁻¹⁵⁹.

Tiroid neoplazilerinde, normal foliküler hücrelere kıyasla azalmış p27 ekspresyonu bildirilmiştir^{6,7}. Foliküler hücrelerden kaynaklanan tiroid karsinomu ile ilgili önceki çalışmalarda azalmış p27 ekspresyonu gözlenmiştir, bu da p27 ekspresyonundaki azalmanın bu karsinomun karsinogenez süreci de dahil olmak üzere, erken fazda ilerlemesine katkıda bulunduğunu göstermektedir^{6,7}. Ayrıca, 1 cm ve daha küçük metastatik papiller karsinomlarda bile p27 ekspresyonunun sıklıkla azaldığı tespit edilmiştir^{11,13}. Bu nedenle, azalmış p27 ekspresyonunun papiller karsinom progresyonunun çeşitli aşamalarını etkilediği ileri sürülmektedir.

Ito ve arkadaşlarının çalışmasında p27 ekspresyonu 64 MTK vakasında değerlendirilmiş, p27 ekspresyonundaki azalmanın tümör boyutunun artmasına katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır, ancak yaş, cinsiyet, lenf nodu metastazı ve ekstratiroidal yayılım gibi diğer prognostik olabilecek parametrelerle arasında bir ilişki bulunamamıştır¹².

Erovic ve arkadaşlarının çalışmasında ise 23 MTK vakasında p27 ekspresyonu araştırılmış, bulguların sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır¹⁴.

BÖLÜM III

GEREÇ VE YÖNTEM

I. Çalışma Olgularının Belirlenmesi ve Hazırlanması

İTF Patoloji Anabilim Dalı hasta kayıt sisteminde, en az 1 yıl takip süresi olması dikkate alınarak, 2000-2020 yılları arasında “medüller tiroid karsinomu” tanısı almış vaka taraması yapıldı ve sistemde kayıtlı 120 vaka tespit edildi.

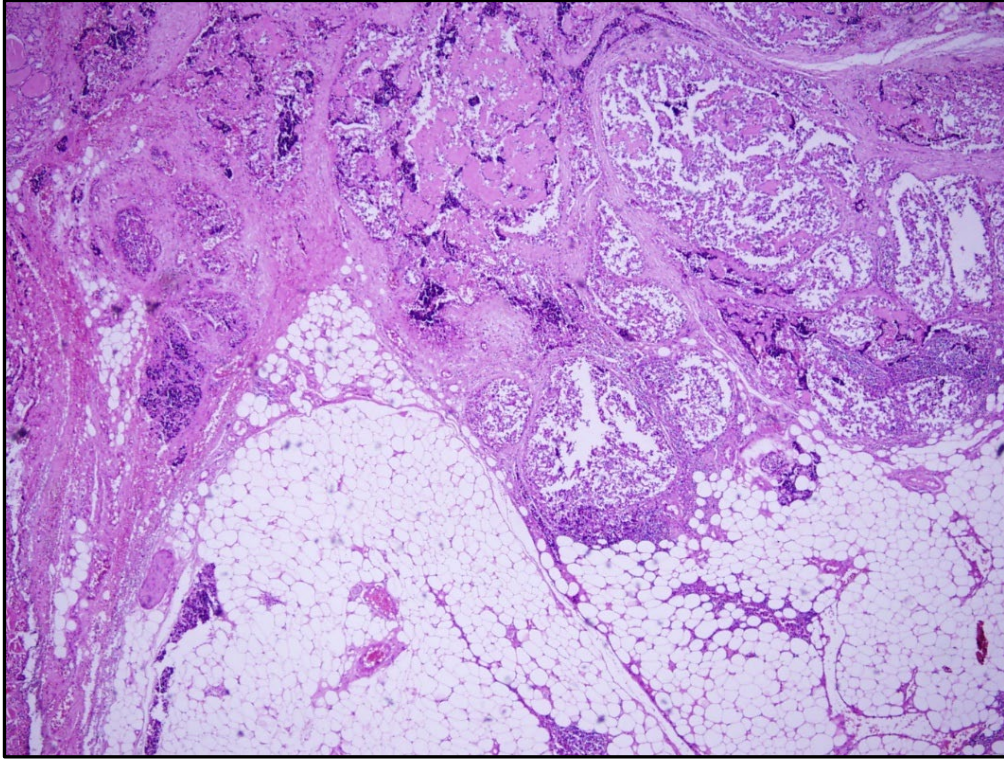
Bu olgular içerisinde blokları arşivimizde mevcut olanların tamamı çalışmaya alındı. Blokları temin edilemeyen, takip ve sağkalım bilgilerine ulaşılamayan, medüller tiroid karsinomu dışı sebeple öldüğü tespit edilen hastalar, antijenite kaybı nedeniyle immünohistokimyasal incelemenin güvenilir olarak yapılamadığı ve parafin blokta yeterli tümör hücresi bulunmayan vakalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca 2 aylık takip süresi olan, ancak lenf nodu metastazı yaptığı bilinen 1 vaka çalışma grubuna dahil edildi ve toplam 95 hastadan oluşan çalışma grubu oluşturuldu. Çalışma grubuna dahil edilen olgulara ait klinikopatolojik özelliklere, ilgili kliniklerdeki arşiv kayıtları üzerinden ulaşıldı. Rutin olarak operasyon sonrası takip edilen hastalardan, uzun süredir muayeneye gelmediği belirlenen hastalara telefon ile ulaşıldı. Bu hastalara ait nüks ve metastaz durumları, sağkalımları ilgili güncel bilgiler elde edildi.

II. Olguların Histomorfolojik Özelliklerinin Değerlendirmesi

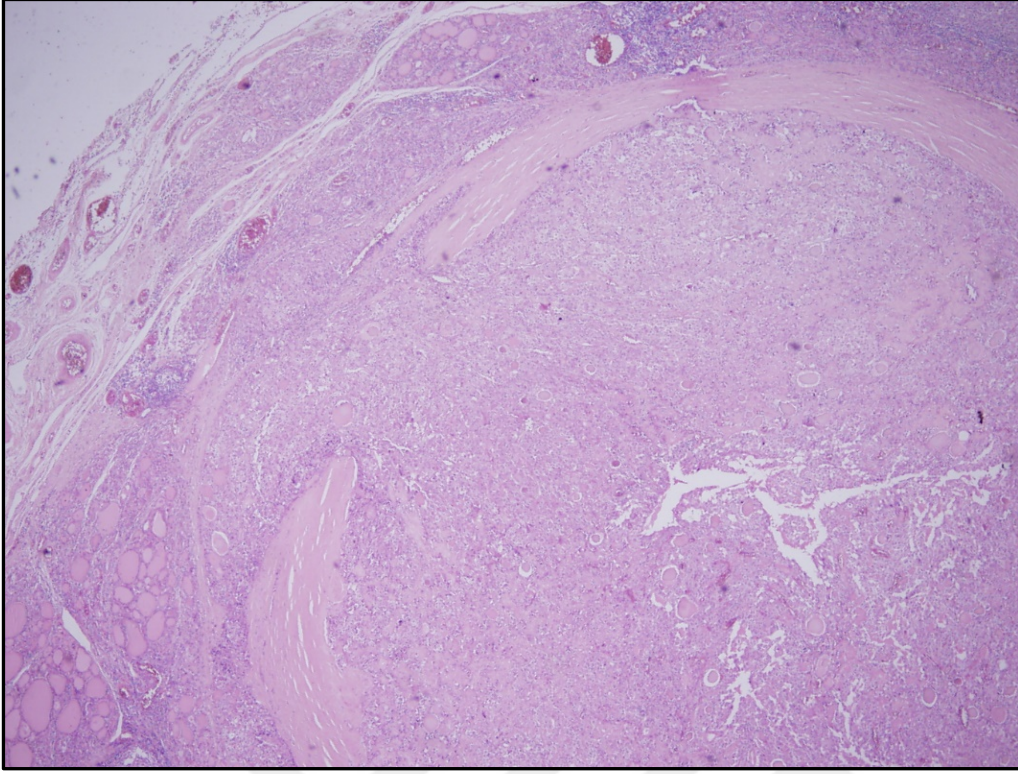
Çalışmaya dahil edilen olgulara ait arşivde mevcut tüm preparatlar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 tanı kriterleri esas alınarak tekrar değerlendirdi. Değerlendirme sırasında tümörün sınır özellikleri (ekspansif/infiltratif), kapsül ve kapsül invazyonu varlığı, amiloid ve fibrozis varlığı, ekstratiroidal yayılım, mitoz sayısı, nekroz, lenfatik ve vasküler invazyon varlığı kaydedildi (**Tablo 6**). Mitoz sayısı, proliferatif indeksin en yoğun olduğu bölgede 2 mm²'lik bir alanda (birbirini takip eden 10 Büyük Büyütme Alanı) değerlendirildi.

Tablo 6: Histomorfolojik olarak değerlendirilen parametreler ve değerlendirme kriterleri

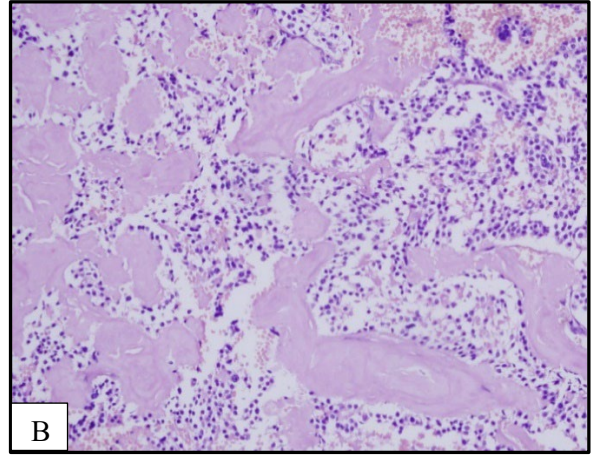
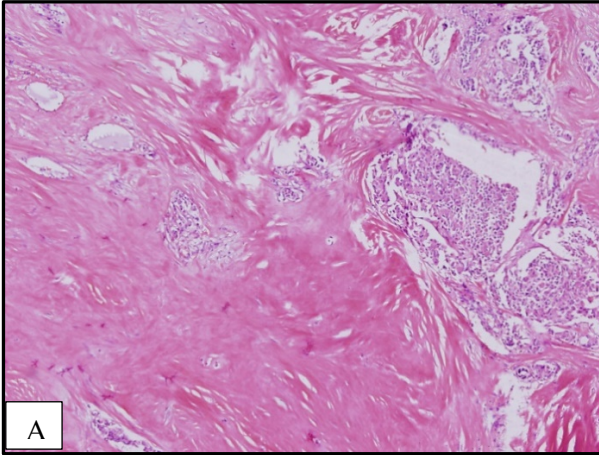
Değerlendirilen Parametre		
Sınır özellikleri	Ekspansif/ İnfiltratif	Resim 12
Ekstratiroidal yayılım varlığı	Var/Yok	Resim 12
Kapsül varlığı	Var/ Yok	Resim 13
Kapsül var ise kapsül invazyonu	Var/ Yok	Resim 13
Fibrozis	Var/Yok	Resim 14-A
Amiloid	Var/Yok	Resim 14-B
Mitoz sayısı/2mm ²		Resim 16
Nekroz	Var/Yok	Resim 15
Lenfatik invazyon	Var/Yok	
Vasküler invazyon	Var/Yok	



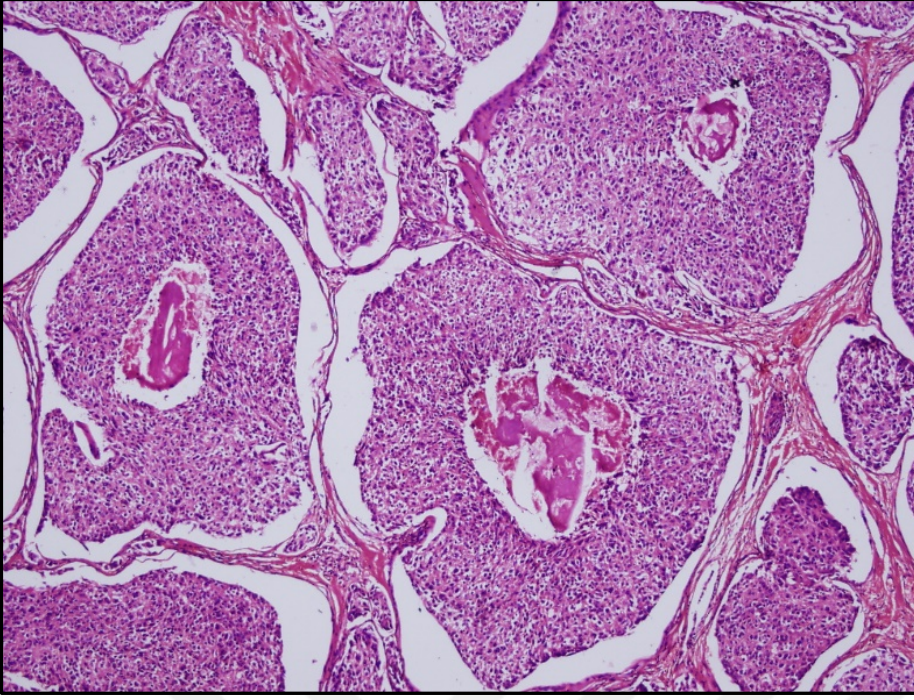
Resim 12: İnfiltratif sınır- Ekstratiroidal yayılım H&E x40



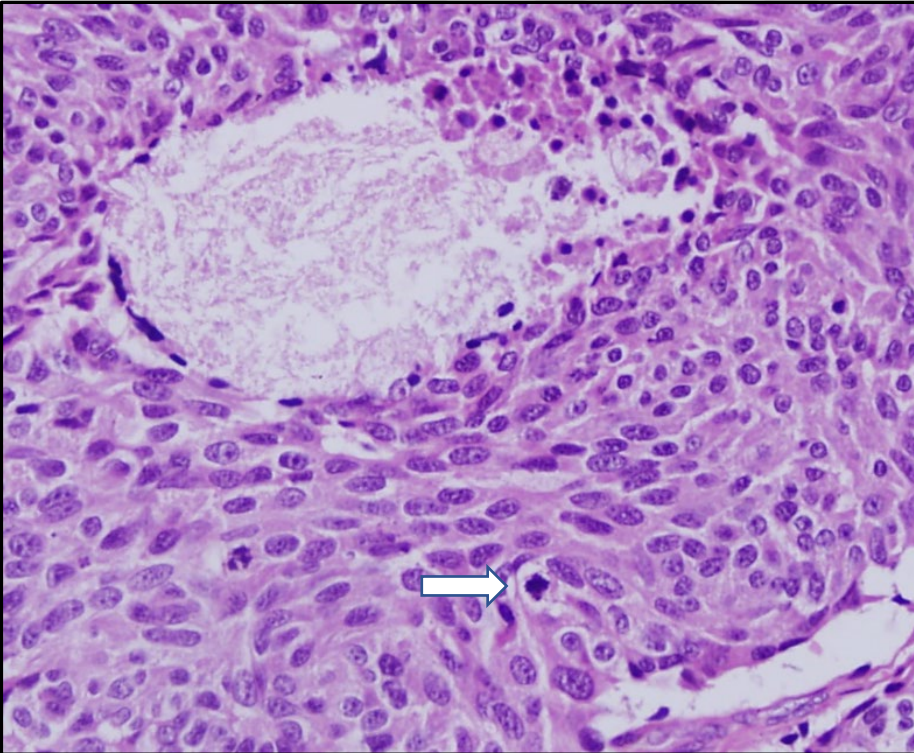
Resim 13: Kapsül invazyonu H&E x40



Resim 14: A. Belirgin fibrozis varlığı H&E x100, B. Amiloid birikimi H&E x200



Resim 15: Yaygın nekroz H&E x200



Resim 16: Nekroz ve mitoz (beyaz ok) H&E x400

III. İmmünohistokimyasal Yöntem

Kullanılacak antikorların validasyonu için pozitif kontrol örnekleri belirlendi. Bcl-1, Ki67 ve p27 antikorları için tonsil dokusu içeren parafin bloklar kontrol bloğu olarak seçildi. Bu kontrol bloğu kullanılarak antikorlar için ideal yöntem, dilüsyon oranları ve inkübasyon süreleri belirlendi (**Tablo 7**).

Parafin bloklardan, her lamda iki parafin bloğa ait birer kesit olacak şekilde, immünohistokimyasal inceleme için üç adet 3-5 µm kalınlığında kesitler, ticari olarak temin edilen pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu preparatlar 56 °C etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin bu şekilde yapışması sağlandı. Preparatlar immünohistokimyasal yöntemin uygulanacağı güne kadar üstü kapalı olarak oda sıcaklığında bekletildi.

Bir gece etüvde bekletilen lamlar Ventana Medical System-Benchmark XT/ISH Staining modüle yerleştirildi ve aşağıdaki prosedürler uygulandı:

III.A. Bcl-1 ile immünohistokimyasal boyanma

1. Deparafinizasyon
2. EDTA ile pH 8'de antijen geri kazanım yöntemi
3. Yüz yirmi dakika boyunca 37 derecede primer antikor inkübasyonu
4. İki kez 8 dakika boyunca amplifier A ve B
5. Dört dakika boyunca asetat buffer içinde bakır sülfat çözeltisi
6. H&E ile zıt boyama

III.B. Ki67 ile immünohistokimyasal boyanma

1. Deparafinizasyon
2. EDTA ile pH 8'de antijen geri kazanım yöntemi
3. Yüz yirmi dakika boyunca 37 derecede primer antikor inkübasyonu
4. İki kez 8 dakika boyunca amplifier A ve B

5. Dört dakika boyunca asetat buffer içinde bakır sülfat çözeltisi
6. H&E ile zıt boyama

III.C. P27 ile immünohistokimyasal boyanma

1. Deparafinizasyon
2. EDTA ile pH 8’de antijen geri kazanım yöntemi
3. Yüz yirmi dakika boyunca 37 derecede primer antikor inkübasyonu
4. Dört dakika boyunca asetat buffer içinde bakır sülfat çözeltisi
5. H&E ile zıt boyama

Makineden çıkarılan preparatlar deterjanlı suyla çalkalanıp, saf alkolde üç kez, üçer dakika boyunca bekletildi. Ardından ksilen içerisinde de üç kez, üçer dakika bekletildikten sonra ‘Safe Mount’ kapatma maddesi ile kapatıldı. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlere ait teknik özellikler **Tablo 7**’de gösterilmiştir.

Tablo 7: İmmünohistokimyasal belirteçlere ait bilgiler

Antikor ve Klon	Üretici	Sulandırma oranı	İnkübasyon süresi ve sıcaklığı
Cyclin D1 Bcl-1 (SP4)- Rabbit Monoclonal antibody	CellMarque	1/200	120 dakika, 37 derece
Ki67 (MIB1)- Mouse Monoclonal Antibody	DAKO	1/100	120 dakika, 37 derece
P27/Kip1 (SX53G8)- Mouse Monoclonal Antibody	CellMarque	RTU	120 dakika, 37 derece

IV. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

IV.A. Bcl-1

Bcl-1 için tümör hücrelerinde nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her vaka için pozitiflik gözlenen tümör hücre yüzdesi belirlendi.

IV.B. Ki67

Ki-67 için tümör hücrelerinde nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi²¹. Her vaka için proliferasyonun en yoğun olduğu bölgede 500 tümör hücresi sayıldı ve pozitiflik gözlenen tümör hücre yüzdesi belirlendi. Ki67 eşik değeri %5 olarak kabul edildi¹⁴⁰, istatistiksel analizler Ki67 değeri $\geq$ %5 ve $<$ %5 olan vakalar karşılaştırılarak yapıldı.

IV.C. P27

P27 ile tümör hücrelerinde nükleer boyanma varlığına göre değerlendirme yapıldı. Nükleer boyanma olmaması ekspresyon kaybı olarak değerlendirildi.

V. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın biyoistatistiksel çözümlerinde Statistical Package for Social Sciences (SPSS Sürüm: 22.0) paket programı kullanıldı. Kategorik değişkenlerin kıyaslanmasında Ki-kare testi kullanıldı. Gruplar arasında sayısal verilerin karşılaştırılmasında Student t-test kullanıldı. Kümülatif sağkalım eğrileri Kaplan-Meier metoduyla oluşturuldu, hastanın son muayene veya ölüm tarihine kadar hesaplandı. Genel sağkalım (GS), tanı anından bağımsız lokal-bölgesel nüksüz sağkalım (LNS) ve uzak metastazsız sağkalımda (UMS) tek değişkenli analizde anlamlı bulunan faktörler Cox regresyon analiz testine tabi tutularak, bağımsız olup olmadıkları araştırıldı. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık sınırı $p \leq 0,05$ olarak alındı.

BÖLÜM IV

BULGULAR

I. Demografik Özellikler

Çalışma grubuna ait demografik, klinik ve histopatolojik özellikler **Tablo 8**'de özetlenmiştir. Hastaların tanı anındaki yaşları 2-76 aralığında değişmekte olup ortalaması 44.9'dur (medyan 49). Vakaların 50'si (%52,6) erkek, 45'i (%47,4) kadındır.

Ameliyat şekilleri 92 (%96,8) hastada bilateral total tiroidektomi, 3 (%3,2) hastada lobektomidir. Bu 3 hastanın ikisine daha sonra tamamlayıcı tiroidektomi yapılmıştır. Altmış yedi (%70,5) hastaya ilk ameliyatı sırasında lenf nodu disseksiyonu yapılmış, bir hastaya operasyon sonrası lenf nodu disseksiyonu eklenmiştir.

Vakaların 30'unda (%58,8) tanı anında, 7'sinde (%13,7) takipte, 14'ünde (%27,5) tanı anında ve takipte olmak üzere 51 hastada (%53,6) servikal lenf nodu metastazı tespit edilmiştir. Bu hastaların 7'sinde (%13,7) ayrıca mediastinel lenf nodu, 1'inde (%2) submandibuler bölge lenf nodu metastazı saptanmıştır. Lenf nodu metastazı olmayan vakalarda uzak metastaz tespit edilmemiştir. Toplam 17 (%17,9) vakada uzak organ metastazı saptanmıştır. Uzak organ metastazları kemik, akciğer ve karaciğere olmuştur.

Vaka grubumuzda 13 (%13,7) hasta hastalık sebebiyle ölmüştür. Bu hastaların tümünde lenf nodu metastazı, 12'sinde uzak metastaz saptanmıştır.

Tablo 8: Demografik, klinik ve histopatolojik özellikler

Özellikler	Vaka sayısı (n)	Sıklık (%)
Yaş		
≥ 50	47	%49,5
<50	48	%50,5
Cinsiyet		
Kadın	45	%47,4
Erkek	50	%52,6
Tümör çapı		
<4 cm	81	%85,2
>4 cm	14	%14,8
Sınır Özellikleri		

İnfiltratif	63	%66,3
Ekspansif	23	%24,2
Kapsül varlığı	9	%9,5
Cerrahi sınır pozitifliği		
Pozitif	21	%22,1
Negatif	74	%77,9
Ekstratiroidal yayılım varlığı		
Var	25	%26,3
Yok	70	%73,7
Fibrosis Varlığı		
Var	67	%70,5
Yok	28	%29,5
Amiloid Varlığı		
Var	55	%57,9
Yok	40	%42,1
Tümörün yaygınlığı		
Unifokal	56	%58,9
Multifokal	39	%41,1
Nekroz Varlığı		
Var	8	%8,4
Yok	87	%91,6
Ki67 oranı		
<%5	62	%65,3
≥%5	33	%34,7
Derece		
Düşük	61	%64,2
Yüksek	34	%35,8
Lenfatik invazyon		
Var	31	%32,6
Yok	64	%67,4
Vasküler invazyon		
Var	15	%15,8
Yok	80	%84,2
Lenf nodu metastazı		
Var	51	%53,7
Yok	44	%46,3
Uzak Metastaz		
Var	17	%17,9
Yok	78	%82,1

II. Histopatolojik Özellikler

Vakalara ait arşivimizde bulunan tüm preparatlar histomorfolojik özellikleri açısından tekrar değerlendirildi, kinikopatolojik parametreler ile karşılaştırıldı.

Vaka grubumuzda tek odaklı vakalarda tümör çapı minimum 0,3 cm, maksimum 5,5 cm, ortalama 2,21 cm; multifokal vakalarda en büyük odağın tümör çapı minimum 0,4 cm, maksimum 7,5 cm, ortalama 2,12 cm'dir. On dört vakada tümör çapı 4 cm'den büyüktür. Dört cm ve daha büyük boyutlu tümör çapına sahip 14 vakanın 13'ünde (%92,9) lenf gangliyonu metastazı saptanmıştır. Dört cm ve daha büyük boyutlu tümörlerin metastaz yapma olasılığı, 4 cm'den küçüklere göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$). Tümör çapının 4 cm'den büyük olması ile fibrozis ($p=0,048$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,004$), lenfatik invazyon ($p=0,006$) ve venöz invazyon ($p=0,027$) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Ancak bu grubun genel, lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,367$).

Çalışma grubunda tümör çapı 1 cm'den küçük 25 vaka, 0,5 cm'den küçük 8 vaka tespit edilmiştir. Boyutu 0,5 cm'den küçük vakaların 1'inde lenf nodu metastazı saptanmıştır. 0,5 cm'den küçük boyutlu tümörlerin metastaz yapma olasılığının, 0,5 cm'den büyüklere göre anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p=0,014$).

Vaka grubu cinsiyet yönünden değerlendirildiğinde, lenf nodu metastazı saptanan 51 hastanın 34'ü (%67,7) erkek, 17'si (%33,3) kadındır. Lenf nodu metastazı ve cinsiyet ilişkisine bakıldığında, erkek cinsiyetin, lenf nodu metastazı riski için anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0,003$) [OR: 1,909, %95CI (1,220-2,988)]. Ayrıca erkek cinsiyet ile daha büyük tümör çapı ($p=0,036$), fibrozis ($p<0,001$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,024$), lenfatik invazyon ($p=0,040$), venöz invazyon ($p=0,021$) ve uzak metastaz ($p=0,006$) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Genel sağkalım erkeklerde daha düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,060$).

Vaka grubu 50 yaşından büyükler ve küçükler olarak iki gruba ayrılıp, diğer parametrelerle ilişkisi değerlendirildiğinde, 50 yaşın altındaki bireylerde multifokalite olasılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,002$). Diğer parametrelerle anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tüm vakaların 39'u multifokal, 56'sı unifokaldir. Multifokalite görülen hastalar sıklıkla 50 yaş altındadır ($p=0,002$). Bu hasta grubunda 1 vakada hastalığa bağlı ölüm görülmüş, genel sağkalımın anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır ($p=0,008$).

Vakalar sınır özellikleri açısından değerlendirildiğinde, 95 vakanın 63'ü (%66,3) infiltratif, 23'ü (%24,2) ekspansif sınırlıdır. Dokuz (%9,5) vakada kapsül izlenmiş olup, bu vakaların tümünde kapsül invazyonu saptanmıştır. İnfiltratif ve ekspansif sınırlı vakalar karşılaştırıldığında, infiltratif sınır özelliği ile lenf nodu metastazı ($p=0,004$), uzak metastaz ($p=0,05$), fibrozis ($p=0,002$), ekstratiroidal yayılım ($p<0,001$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0,05$) ve lokal-bölgesel nüksle ($p=0,002$) ilişkili saptanmıştır, ancak genel ve uzak metastazsız sağkalımla arasında anlamlı ilişki görülmemiştir.

Vakaların 55'inde (%57,8) amiloid varlığı saptanmıştır. Amiloid varlığı ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Fibrozis açısından değerlendirildiğinde, 67 (%70,5) hastada fibrozis tespit edilmiştir. Fibrozis ile erkek cinsiyet ($p<0,001$), lenf nodu metastazı ($p<0,001$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,006$), lenfatik invazyon ($p<0,001$) ve venöz invazyon ($p=0,035$) anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur. Ayrıca genel, lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalımı istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşürdüğü görülmüştür ($p=0,012$).

Ekstratiroidal yayılım açısından değerlendirildiğinde, 25 hastada ekstratiroidal yayılım izlenmiştir. Bu vakalarda ekstratiroidal yayılım ile cerrahi sınır pozitifliği ($p<0,001$), fibrozis varlığı ($p=0,006$), lenfatik invazyon ($p<0,001$), vasküler invazyon ($p<0,001$), lenf gangliyonu metastazı ($p<0,001$), uzak metastaz ($p=0,006$) ve yüksek grad ($p=0,003$) arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. Ekstratiroidal yayılımın genel, lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalıma olumsuz etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,002$).

Lenfatik invazyon varlığı yönünden yapılan değerlendirmede 31 vakada lenfatik invazyon görülmüştür. Bu vakaların tamamında lenf nodu metastazı ve 13'ünde uzak metastaz saptanmıştır. Lenf nodu metastazı bulunan diğer 20 vakada ise lenfatik invazyon görülmemiştir. İstatistiksel değerlendirmede lenfatik invazyon ile erkek cinsiyet ($p=0,040$), ekstratiroidal yayılım ($p<0,001$), fibrozis ($p<0,001$), tümör çapı ($p=0,006$), yüksek grad ($p=0,007$), venöz invazyon ($p<0,001$), lenf nodu metastazı ($p<0,001$) ve uzak metastaz ($p<0,001$) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Lenfatik invazyonun genel, lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalımı anlamlı olarak düşürdüğü tespit edilmiştir ($p=0,002$).

Vasküler invazyon varlığı açısından değerlendirildiğinde, 15 vakada vasküler invazyon saptanmıştır. Bu vakaların 14'ünde lenf nodu metastazı ve 6'sında uzak metastaz saptanmıştır. Vasküler invazyon ile tümör çapı ($p=0,027$), fibrozis ($p=0,035$), ekstratiroidal yayılım ($p<0,001$), lenfatik invazyon ($p<0,001$), lenf nodu metastazı ($p=0,001$), erkek cinsiyet ($p=0,021$) ve uzak metastaz ($p=0,015$) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Vasküler invazyon varlığının lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalımla istatistiksel olarak ilişkili

olduğu, genel sağkalımı ise düşürdüğü ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0,113$).

Cerrahi sınır pozitifliği açısından değerlendirildiğinde, 21 vakada cerrahi sınır pozitif saptanmıştır. Cerrahi sınır pozitifliği ile lenfatik invazyon ($p=0,006$), vasküler invazyon ($p=0,012$), yüksek grad ($p=0,001$), lenf nodu metastazı ($p=0,004$) ve uzak metastaz ($p=0,006$) arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. Cerrahi sınır pozitifliğinin genel ve uzak metastazsız sağkalımı düşürdüğü görülmüştür ($p<0,001$).

Çalışma grubunda 8 vakada nekroz tespit edilmiştir. Nekroz varlığı ile lenfatik invazyon ($p<0,001$), vasküler invazyon ($p<0,001$), lenf nodu metastazı ($p=0,006$) ve uzak metastaz ($p<0,001$) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Nekroz varlığının lokal-bölgesel nüksüz sağkalıma ilişkili olmadığı; uzak metastazsız ve genel sağkalımı ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir ($p<0,001$).

Lenf nodu metastazı açısından değerlendirildiğinde, 95 hastanın 51'inde lenf nodu metastazı saptanmıştır. Lenf nodu metastazı ile erkek cinsiyet ($p=0,003$), tümör çapının 4 cm'den büyük olması ($p=0,001$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0,004$), fibrozis ($p<0,001$), ekstratiroidal yayılım ($p<0,001$), yüksek derece ($p<0,001$), nekroz ($p=0,006$), lenfatik invazyon ($p<0,001$), vasküler invazyon ($p<0,001$) ve uzak metastaz ($p<0,001$) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Lenf nodu metastazı varlığının genel, lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalımı düşürdüğü görülmüştür ($p<0,001$).

Çalışma grubunda 22 hastada lokal-bölgesel nüks saptanmıştır. Lokal-bölgesel nüks ile erkek cinsiyet ($p=0,031$), fibrozis ($p=0,017$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,004$), lenfatik invazyon ($p=0,048$), vasküler invazyon ($p=0,002$), Ki67'nin %5 ve üzerinde olması ($p=0,026$), lenf nodu metastazı ($p<0,001$) ve uzak metastaz ($p=0,010$) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Lokal-bölgesel nüks varlığının genel sağkalımı anlamlı düzeyde düşürdüğü görülmüştür ($p=0,035$).

Tüm vaka grubunda 17 hastada uzak metastaz saptanmıştır. Uzak metastaz ile lenf nodu metastazı ($p<0,001$), nekroz ($p<0,001$), yüksek derece ($p<0,001$), fibrozis ($p=0,018$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0,006$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,006$), erkek cinsiyet ($p=0,006$), lenfatik invazyon ($p<0,001$) ve vasküler invazyon ($p=0,015$) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Uzak metastaz varlığının genel sağkalımı anlamlı düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir ($p<0,001$).

Vakalar WHO 2022'de önerilen nekroz varlığı, Ki67 proliferasyon indeksi ve mitoz değerlendirilerek yüksek ve düşük dereceli iki gruba ayrıldığı sisteme göre derecelendirildiğinde, yüksek dereceli vakalar ile lenf nodu metastazı ($p<0,001$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0,001$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,003$), lenfatik invazyon ($p=0,007$) ve uzak

metastaz ($p<0,001$) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Yüksek dereceli vakaların lokal-bölgesel nüksüz sağkalıma ilişkili olmadığı; uzak metastazsız ve genel sağkalımı ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir ($p<0,001$).

Ki67 proliferasyon indeksinin ≥ 5 'in üzerinde olması ile lenfatik invazyon ($p=0,004$), nekroz ($p=0,001$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,009$), lenf nodu metastazı ($p<0,001$) ve uzak metastaz ($p<0,001$) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu vaka grubunda genel ($p<0,001$), lokal-bölgesel nüksüz ($p=0,002$) ve uzak metastazsız sağkalımın ($p<0,001$) düşük olduğu tespit edilmiştir.

Tüm vakalarda Ki67 proliferasyon indeksinin en yüksek olduğu bölgelerde yoğunlaşarak, 2mm^2 'de mitoz sayısı değerlendirildi. Doksan beş vakanın 1'inde 3 mitoz, 4'ünde 2 mitoz, 21'inde 1 mitoz saptanırken, 69 vakada mitoz izlenmedi. Tüm vakalarda saptanan mitoz sayısının güncel derecelendirme sistemindeki¹⁴⁰ eşik değer olan 5'in altında olması sebebiyle, bu parametre istatistiksel analize alınmadı.

III. Lokal-Bölgesel Nüksüz Sağkalım, Uzak Metastazsız Sağkalım ve Genel Sağkalım Özellikleri

Çalışma grubuna alınan tüm hastaların sağkalım bilgilerine ulaşıldı. Takip süresi minimum 12 ay, maksimum 240 ay olup ortalama takip süresi 83 (medyan 72) aydır. Lenf nodu metastazı olduğu bilinen ve 2 aylık takibi olan 1 vaka, ayrıca çalışma grubuna dahil edilmiştir.

Vakaların 30'unda (%58,8) tanı anında, 7'sinde (%13,7) takipte, 14'ünde (%27,5) tanı anında ve takipte olmak üzere 51 hastada (%53,6) servikal lenf nodu metastazı tespit edilmiştir. Bu hastaların 7'sinde (%13,7) ayrıca mediastinel lenf nodu, 1'inde (%2) submandibuler bölge lenf nodu metastazı saptanmıştır. Lenf nodu metastazı olmayan vakalarda uzak metastaz tespit edilmemiştir. Toplam 17 (%17,9) vakada uzak organ metastazı saptanmıştır. Uzak organ metastazları kemik, akciğer ve karaciğere olmuştur.

Vaka grubumuzda 13 (%13,7) hasta hastalık sebebiyle ölmüştür. Bu hastaların tümünde lenf nodu metastazı, 6'sında lokal-bölgesel nüks, 12'sinde uzak metastaz saptanmıştır. Hastaların 5 yıllık ve 10 yıllık genel sağkalım (GS) oranları sırasıyla %88 ve %81, lokal-bölgesel nüksüz sağkalım (LNS) oranları sırasıyla %82 ve %63, uzak metastazsız sağkalım (UMS) oranları ise sırasıyla %84 ve %80 olarak saptanmıştır.

Cinsiyet ve sağkalım özellikleri değerlendirildiğinde erkek cinsiyette genel sağkalımın daha düşük olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Erkeklerde 5 ve 10 yıllık LNS oranları sırasıyla %74 ve %46, kadınlarda %92 ve %79'dur. UMS oranları ise erkeklerde %76 ve %68, kadınlarda ise her ikisi de %92'dir. Erkek ve kadın hasta grupları karşılaştırıldığında, iki grup arasında LNS ($p=0,008$) ve UMS ($p=0,005$) arasında anlamlı fark saptanmıştır.

Vakalarda lenf nodu metastazı ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, lenf nodu metastazı olmayan hastalarda ölüm, lokal-bölgesel nüks ve uzak metastaz olmadığı tespit edildi. Lenf nodu metastazı olan hastalarda 5 yıllık ve 10 yıllık GS oranları sırasıyla %78 ve %68 (**Grafik 1**), LNS oranları sırasıyla %66 ve %35, UMS oranları ise %71 ve %64 olarak hesaplanmıştır. Lenf nodu metastazı olan ve olmayan iki grup karşılaştırıldığında, GS ($p<0,001$), LNS ($p<0,001$) ve UMS ($p<0,001$) arasında anlamlı fark görülmüştür.

Uzak metastaz varlığı ve genel sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde ise, uzak metastaz bulunmayan hastaların 5 ve 10 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %100 ve %98 iken, uzak metastaz saptanan vakalarda bu oranlar %53 ve %22 olarak belirlenmiştir. İki grup arasında genel sağkalımda anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$) (**Grafik 2**).

Nekroz varlığı ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, nekroz izlenen 8 hastanın 6'sında ölüm görülmüştür. Nekroz görülmeyen hastalarda 5 yıllık ve 10 yıllık genel sağkalım oranları sırasıyla %93 ve %89, UMS oranları %90 ve %86 olarak; nekroz görülen hastalarda ise GS oranları sırasıyla %30 ve %0 (**Grafik 3**), UMS oranları ise her ikisi için %17 olarak belirlenmiştir. İki grup karşılaştırıldığında, GS ($p<0,001$) ve UMS ($p<0,001$) arasında anlamlı fark görülmüştür. Nekroz ile lokal-bölgesel nüksüz sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Ki67 eşik değeri %5 olarak alındığında, 62 hastada Ki67 oranı %5'ten düşük, 33 hastada %5'ten yüksek bulunmuştur. Ki67 oranı %5'ten düşük olan 62 hastalık grupta 1 vakada ölüm görülmüştür. Ki67 oranı %5'ten düşük olan hasta grubunda 5 yıllık ve 10 yıllık GS oranları her ikisi için %98, LNS oranları sırasıyla %89 ve %76, UMS oranları her ikisi için %97'dir. Ki67 oranı %5'ten yüksek olan 33 hastalık grupta ise GS oranları sırasıyla %67 ve %47 (**Grafik 4**), LNS oranları %66 ve %37, UMS oranları ise %58 ve %46 olarak belirlenmiştir. İki grup kıyaslandığında, GS ($p<0,001$), LNS ($p=0,002$) ve UMS ($p<0,001$) oranlarının anlamlı derecede farklı olduğu görüldü.

Yüksek gradlı ve düşük gradlı vakaların sağkalımla ilişkisi değerlendirildi. 95 vakanın 61'i düşük gradlı, 34'ü yüksek gradlı olarak bulunmuştur. Düşük gradlı vakalarda ölüm

görülmemiştir. Bu hastalarda 5 yıllık ve 10 yıllık GS oranları %100, UMS oranları %98'dir. Yüksek gradlı 34 vakanın ise 13'ünde ölüm görülmüştür. Bu hastalarda 5 yıllık ve 10 yıllık GS oranları sırasıyla %65 ve %45 (**Grafik 5**), UMS oranları ise %58 ve %47 olarak hesaplanmıştır. Grad ile lokal-bölgesel nüksüz sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Yüksek gradlı ve düşük gradlı iki grup kıyaslandığında, GS ($p<0,001$) ve UMS ($p<0,001$) oranlarının anlamlı derecede farklı olduğu görüldü.

Ekstratiroidal yayılım ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, ekstratiroidal yayılım saptanan 25 hastalık grupta 5 ve 10 yıllık GS oranları sırasıyla %79 ve %60 (**Grafik 6**), LNS oranları %58 ve %39, UMS oranları %74 ve %62 olarak saptanmıştır. Ekstratiroidal yayılım bulunmayan grupta her iki GS oranı %91, LNS oranları sırasıyla %90 ve %73, her iki UMS oranları %87 olarak belirlenmiştir. Ekstratiroidal yayılım olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında, GS ($p=0,003$), LNS ($p=0,002$) ve UMS ($p=0,010$) oranlarının anlamlı derecede farklı olduğu görüldü.

Cerrahi sınır pozitifliği ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, cerrahi sınırı negatif olan 74 vakalık grupta 5 ve 10 yıllık GS oranları %92, UMS oranları %88 olarak saptanırken; cerrahi sınır pozitifliği görülen 21 vakalık grupta GS oranları sırasıyla %75 ve %46 (**Grafik 7**), UMS oranları %70 ve %55 olarak belirlenmiştir. Bu iki grup karşılaştırıldığında, GS ($p<0,001$) ve UMS ($p=0,005$) arasında anlamlı fark görülmüştür. Cerrahi sınır pozitifliği ile lokal-bölgesel nüksüz sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Sınır özellikleri ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, infiltratif sınırlı vakalarda genel sağkalımın ve uzak metastazsız sağkalımın daha düşük olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. İnfiltratif sınırlı vakalarda 5 ve 10 yıllık GS oranları %84 ve %74, UMS oranları %81 ve %75; ekspansif vakalarda ise GS ve UMS oranları her ikisi için de %96'dır. İnfiltratif sınırlı vakalarda 5 ve 10 yıllık LNS oranları ise %75 ve %49, ekspansif vakalarda ise %100'dür. Bu iki grup karşılaştırıldığında, LNS'ler arasında anlamlı fark izlenmiştir ($p=0,002$). Kapsül izlenen vakalarda ölüm izlenmemiştir. Bu vaka grubunda 5 ve 10 yıllık genel sağkalım %100, LNS sırasıyla %89 ve %67, UMS ise her ikisi için de %78'dir.

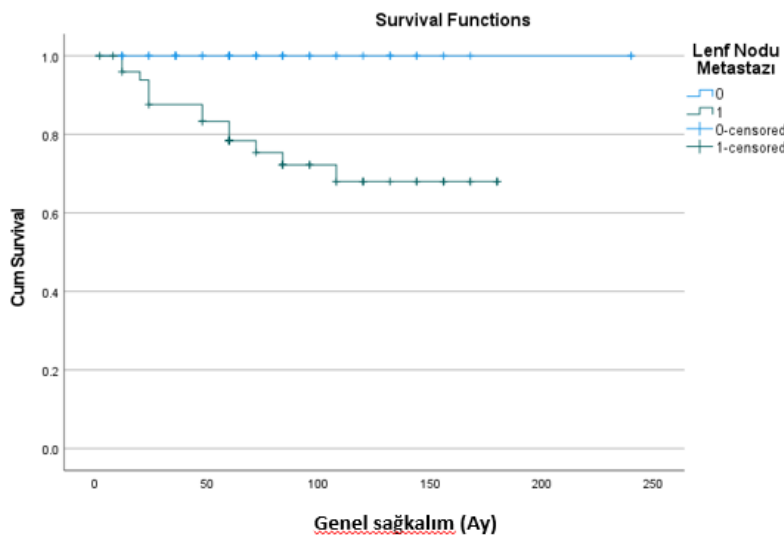
Fibrozis ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, fibrozis görülen 67 hastanın bulunduğu grupta 5 ve 10 yıllık GS oranları sırasıyla %84 ve %75 (**Grafik 8**), LNS oranları %75 ve %57, UMS oranları ise %79 ve %74 olarak hesaplanmıştır. Fibrozis bulunmayan hastalarda ölüm izlenmemiş olup, 5 ve 10 yıllık genel sağkalım %100'dür. Bu grupta LNS oranları sırasıyla %100 ve %82, UMS oranları her ikisi için de %96'dır. Fibrozis bulunan ve bulunmayan gruplar karşılaştırıldığında, GS ($p=0,023$), LNS ($p=0,022$) ve UMS ($p=0,026$) arasında anlamlı fark görülmüştür.

Multifokalite ile sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde, multifokalite görülen 39 hastada 5 ve 10 yıllık genel sağkalım oranları %97; unifokal hasta grubunda ise bu oranlar sırasıyla %82 ve %71 olarak hesaplanmıştır (**Grafik 9**). İki grup karşılaştırıldığında, GS ($p=0,010$) arasında anlamlı fark görülmüştür, ancak LNS ve UMS arasında görülmemiştir.

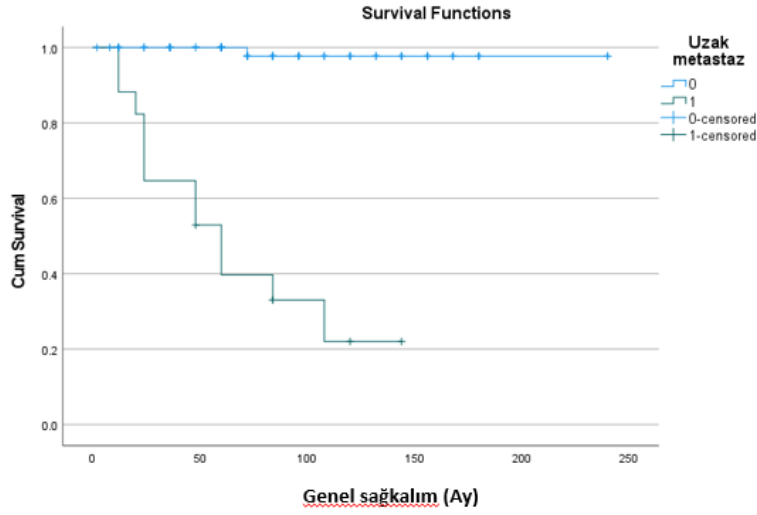
Lenfatik invazyon ile sağkalım ilişkisi değerlendirilmiştir. Beş ve on yıllık genel sağkalım oranları lenfatik invazyon görülmeyen vakalarda sırasıyla %94 ve %92, LNS oranları %87 ve %74, UMS oranları %95 iken; lenfatik invazyon saptanan vakalarda GS oranları %75 ve %62 (**Grafik 10**), LNS oranları %71 ve %39, UMS oranları %61 ve %51 olarak bulunmuştur. Lenfatik invazyon olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında, GS ($p=0,002$), LNS ($p=0,012$) ve UMS ($p<0,001$) arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür.

Vasküler invazyon varlığının genel sağkalımı düşürdüğü ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Vasküler invazyon bulunan vakalarda 5 ve 10 yıllık LNS oranları sırasıyla %59 ve %26, UMS oranları %72 ve %63 olarak belirlenmiştir. Vasküler invazyon bulunmayan grupta ise LNS oranları %87 ve %73, UMS oranları %86 ve %84'tür. Vasküler invazyon olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında, LNS ($p=0,003$) ve UMS ($p<0,034$) arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür.

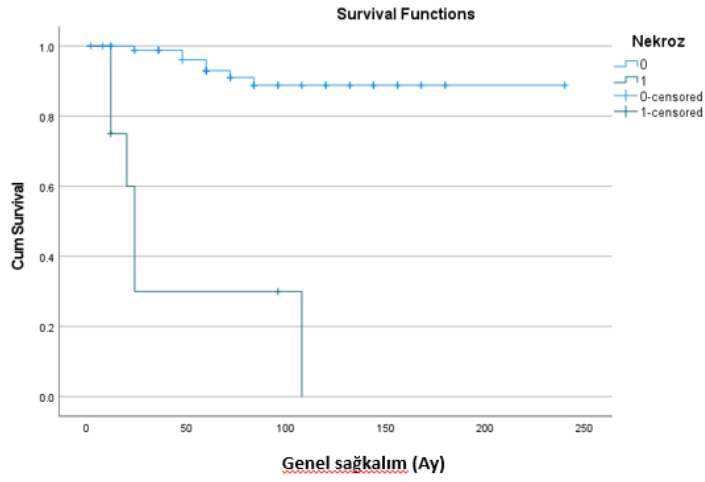
Cinsiyet ve vasküler invazyon ile genel sağkalım arasında; yaş, tümör çapı, amiloid varlığı ile GS, LNS, UMS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.



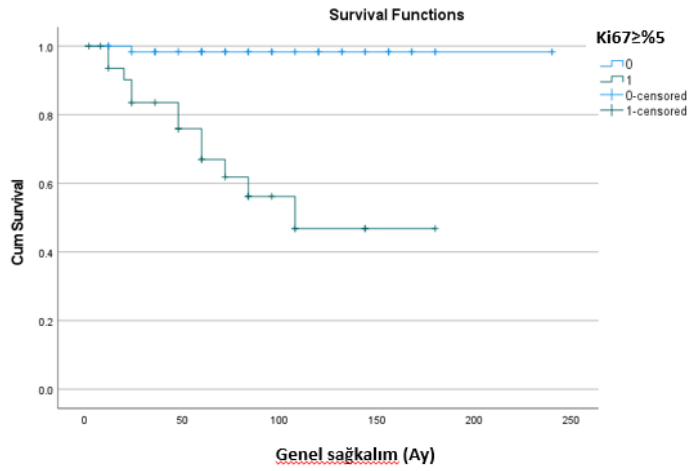
Grafik 1: Lenf nodu metastazı ve genel sağkalım ilişkisi



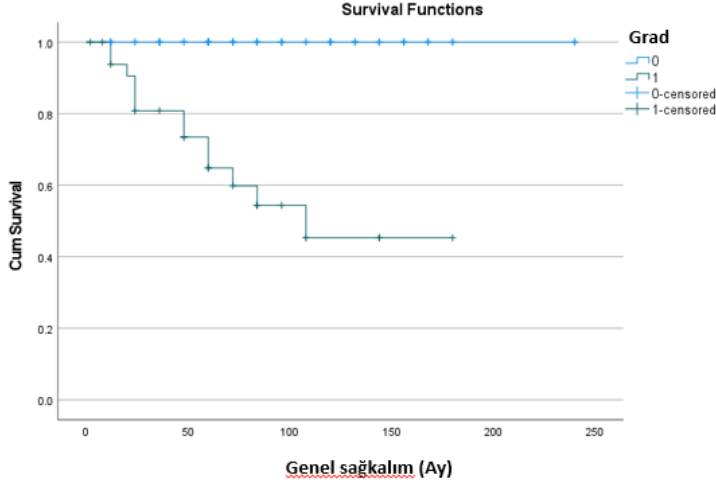
Grafik 2: Uzak metastaz ve genel sağkalım ilişkisi



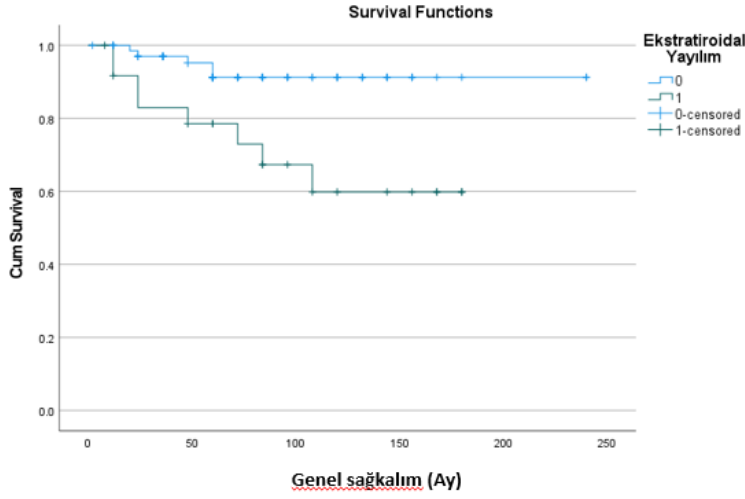
Grafik 3: Nekroz ve genel sağkalım ilişkisi



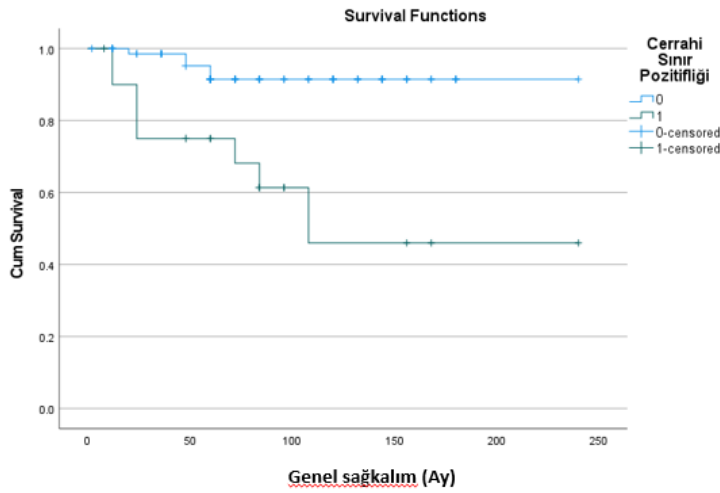
Grafik 4: Ki67 ile genel sağkalım ilişkisi



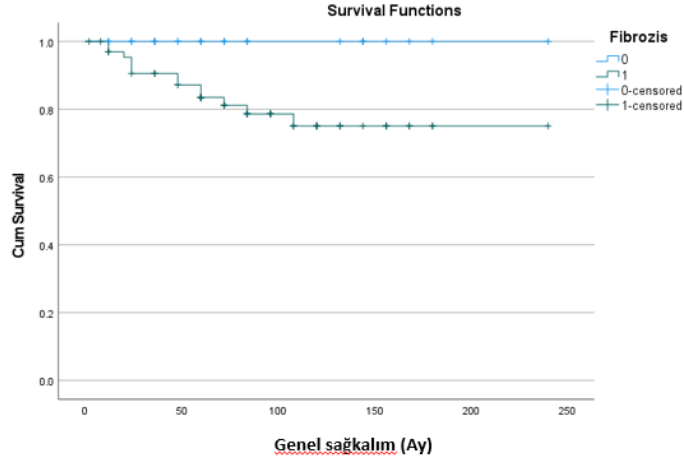
Grafik 5: Grad (yüksek-düşük) ile genel sağkalım ilişkisi



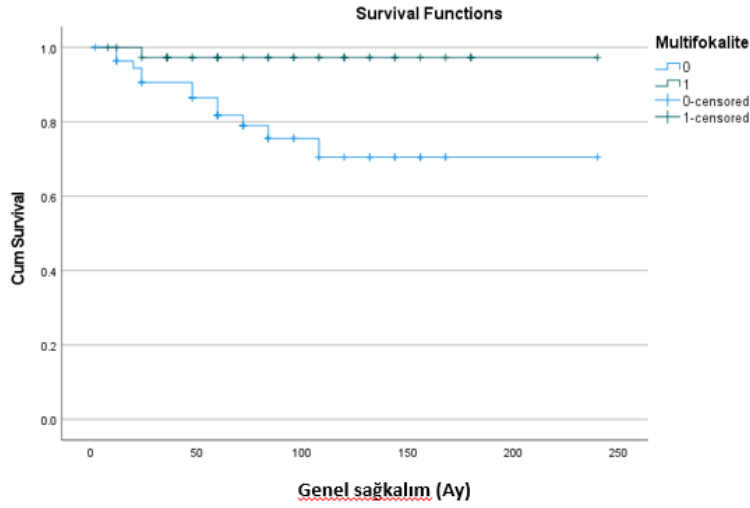
Grafik 6: Ekstratiroidal yayılım ile genel sağkalım ilişkisi



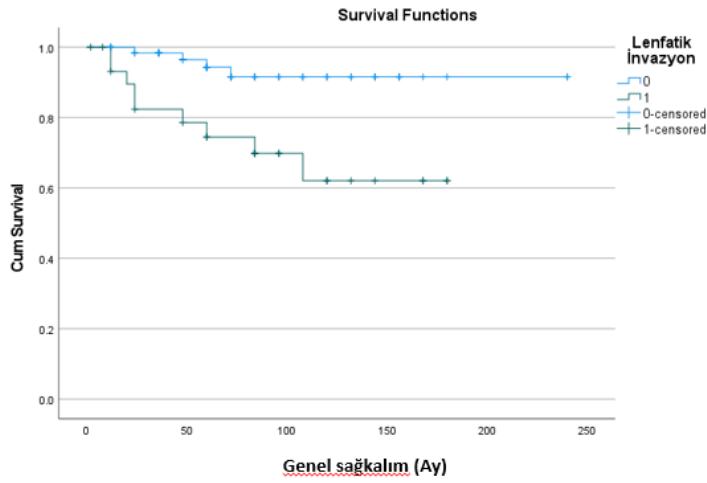
Grafik 7: Cerrahi sınır pozitifliği ile genel sağkalım ilişkisi



Grafik 8: Fibrosis varlığı ile genel sağkalım ilişkisi



Grafik 9: Multifokalite ile genel sağkalım ilişkisi



Grafik 10: Lenfatik invazyon varlığı ile genel sağkalım ilişkisi

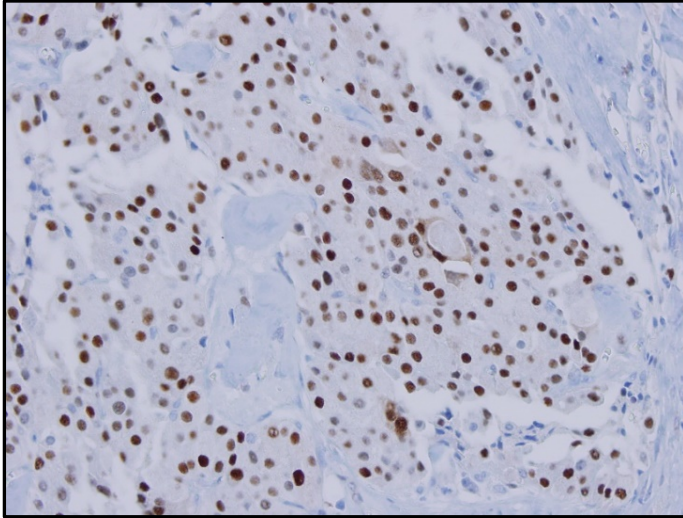
IV. İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları

Tüm vakalar immünohistokimyasal olarak Bcl-1, Ki67 ve p27 antikorları çalışılarak değerlendirildi.

IV.A. Bcl-1

Bcl-1 antikoruna ile yapılan değerlendirmede normal tiroid dokusunda boyanma izlenmemiş, tümör hücrelerinde ise tüm vakalarda nükleer boyanma izlenmiştir (**Resim 17**). İki (%2,2) vakada tümör hücrelerinin %40'ında, 24 (%25,2) vakada %60-75'inde, 69 vakada (%72,6) ise %80-95'inde orta-kuvvetli şiddette nükleer boyanma saptandı.

Tümör hücrelerinde Bcl-1 yüzdesinin hangi eşik değerde pozitif kabul edilmesi gerektiğinin tespiti için yapılan ROC eğrisinde, anlamlı bir eşik değeri saptanmamıştır. Sonuç olarak Bcl-1 pozitivitesi ile lenf nodu metastazı, uzak metastaz veya sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

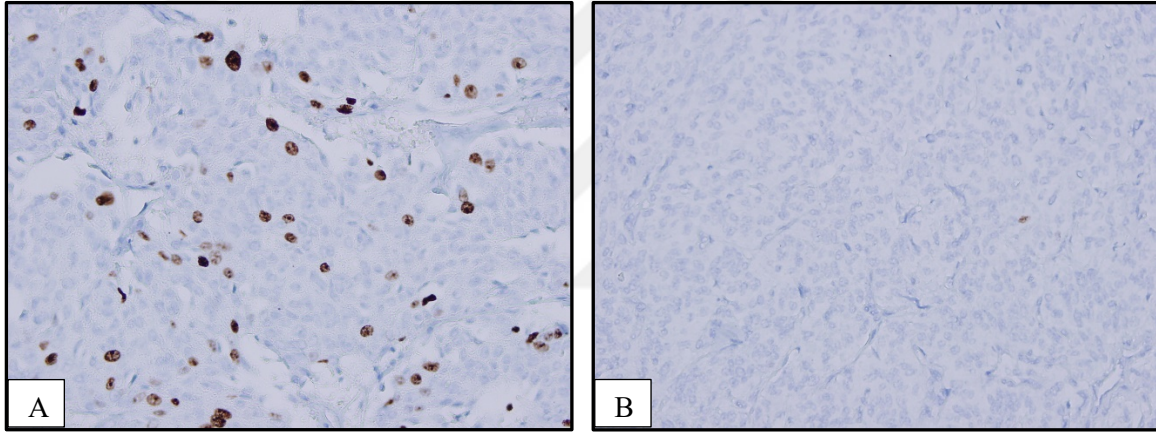


Resim 17: Bcl-1 immünohistokimyasal incelemesi, nükleer boyanma x400

IV.B. Ki67

Ki67 ile proliferasyonun en yoğun olduğu bölgede 500 tümör hücresi sayılarak yapılan değerlendirmede olgularda %1 ile %25 arasında değişen değerlere ulaşıldı. Ki67 eşik değeri %5 alındığında, 33 vakada değer %5 ve üzerinde (**Resim 18-A**); 62 vakada ise %5'in altında (**Resim 18-B**) bulundu.

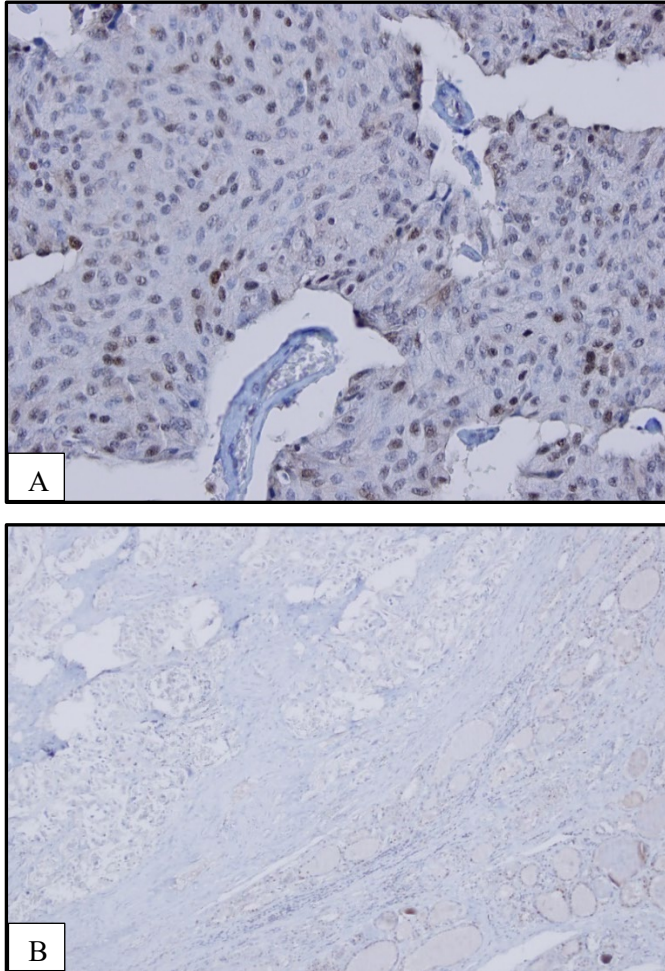
Ki67 proliferasyon indeksinin $\geq$ %5'in üzerinde olması ile lenfatik invazyon ($p=0,004$), nekroz ($p=0,001$), ekstratiroidal yayılım ($p=0,009$), lenf nodu metastazı ($p<0,001$) ve uzak metastaz ($p<0,001$) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu vaka grubunda vaka grubunda genel ($p<0,001$), lokal-bölgesel nüksüz ($p=0,002$) ve uzak metastazsız sağkalımın ($p<0,001$) düşük olduğu tespit edilmiştir.



Resim 18: Ki67 immünohistokimyası A. Yüksek proliferasyon indeksi x400, B. Düşük proliferasyon indeksi x400

IV.C. p27

P27 antikoru ile kontrol olarak değerlendirilen tirositlerde ve lenfositlerde beklenen kuvvetli nükleer boyanmanın aksine, fokal alanlarda zayıf nükleer boyanma görüldü.    vakada kontrol dokusunda reaksiyon elde edilemedi. Kontrol dokusunda reaksiyon alınan 92 vakanın 9’unda tümör hücrelerinde reaksiyon görülmedi, bu vakalarda nükleer ekspresyon kaybı olabileceği d   n ld  (**Resim 19-B**). Seksen üç vakada ise tümör hücrelerinde çoğunlukla dokunun periferinde, zayıf ve fokal nitelikte heterojen reaksiyon elde edildi (fiksasyon süreciyle ilgili olduğu d   n ld ). Bu vakalarda nükleer ekspresyon kaybı olmadığı yorumu yapıldı (**Resim 19-A**). Ancak yapılan istatistiksel analizlerde p27 boyanması ile diğer parametreler ve sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunamadı. Bu sebeplerle çalışmamızda kullanmış olduğumuz p27 antikoru rutin pratikte kullanılabilecek güvenilirlikte bulunmamıştır.



Resim 19: p27 imm nhistokimyası A: Tümör hücrelerinde nükleer ekspresyon, B: Tümör hücrelerinde nükleer ekspresyon kaybı

V. Çok Değişkenli Cox Regresyon Analizi Sonuçları

Genel sağkalımı öngörmeye bağımsız faktörleri tespit etmek için yapılan çok değişkenli analizde, değişken olarak nekroz, Ki67, ekstrasitroidal yayılım, cerrahi sınır pozitifliği ve tümör odağı sayısı alındığında, nekroz ve Ki67'nin ≥ 5 olması bağımsız prognostik faktör olarak belirlendi (Tablo 9).

Tablo 9: Genel sağkalıma etki eden faktörler (Çok değişkenli Cox regresyon analiz sonuçları)

Faktörler	Referans	HR	95%CI	p
Nekroz	Var (1)	6,017	1,344-26,948	0,019
Ki 67 ≥ 5 vs < 5	≥ 5 (1)	15,783	1,831-136,043	0,012
Ekstrasitroidal Yayılım	Var (1)	0,656	0,111-3,883	0,642
Cerrahi Sınır Pozitifliği	Pozitif (1)	1,634	0,288-9,262	0,579
Tümör odağı	Multifokalite (1)	0,138	0,018-1,071	0,058

Uzak metastazsız sağkalımı öngörmeye bağımsız faktörleri tespit etmek için yapılan çok değişkenli analizde, değişken olarak nekroz, derece (yüksek/düşük), vasküler invazyon, lenfatik invazyon ve fibrozis alındığında, derece ve lenfatik invazyon bağımsız prognostik faktör olarak belirlendi (Tablo 10).

Tablo 10: Uzak metastazsız sağkalıma etki eden faktörler (Çok değişkenli Cox regresyon analiz sonuçları)

Faktörler	Referans	HR	95%CI	p
Nekroz	Var (1)	2,825	0,634-12,581	0,173
Derece (yüksek/düşük)	Yüksek (1)	18,191	3,250-101,820	<0,001
Vasküler invazyon	Var (1)	0,379	0,089-1,603	0,187
Lenfatik invazyon	Var (1)	7,545	1,629-39,944	0,010
Fibrozis	Var (1)	3,670	0,298-45,191	0,310

Lokal-bölgesel nüksüz sağkalımı öngörmeye bağımsız faktörleri tespit etmek için yapılan çok değişkenli analizde ise bağımsız prognostik faktör bulunamadı.

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Medüller tiroid karsinomu (MTK), tiroid tümörlerinin %2'sini oluşturan bir nöroendokrin tümördür. Hastalığın klinik seyri genellikle agresiftir ve tek tedavi yöntemi total tiroidektomi ile santral boyun lenf nodu disseksiyonudur. Agresif cerrahi tedaviye rağmen hastalarda nüks ve metastaz insidansı oldukça yüksektir.

İyi diferansiye foliküler epitelyal malignitelerin aksine, medüller tiroid karsinomu radyoaktif iyot ile adjuvan tedaviye duyarlı değildir¹⁶⁰⁻¹⁶² ve geleneksel kemoterapinin de sınırlı bir etkiye sahip olduğuna dair artan kanıtlar vardır. Etkili bir sistemik adjuvan tedavi mevcut olmadığından, ilerlemiş veya metastatik medüller tiroid karsinomu olan hastaların klinik yönetimi zorlu olmaya devam etmektedir. Adjuvan tedavi gerektiren hastaların belirlenmesi tamamen rezeke edilemeyen lokal veya metastatik hastalığın varlığına dayanmaktadır. Şu anda, foliküler hücre kaynaklı tiroid kanserli hastalarda radyo aktif iyot ile kullanılan yaklaşıma benzer şekilde, profilaktik bir modalite olarak adjuvan tedavi gerektirebilecek hastaları belirlemek için bir belirteç bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, medüller tiroid karsinomu vakalarında yaş, cinsiyet, tümör boyutu, tümör sınırları, mitoz, nekroz varlığı, desmoplastik reaksiyon (fibrozis), amiloid varlığı, kapsül invazyonu, lenfatik ve vasküler invazyon, ekstratiroidal yayılım gibi histomorfolojik ve demografik bulguları yeniden değerlendirdik. Bu parametrelerin ve bu vakalarda Bcl-1, Ki67, p27 immünohistokimyasal belirteçlerinin uygulanmasıyla elde edilen sonuçların lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağkalım ile ilişkisini saptamayı ve prognostik değerlerini ölçmeyi hedefledik.

Çalışma grubumuzda tüm vakalarda 5 ve 10 yıllık genel sağkalım (GS) oranları sırasıyla %88 ve %81, lokal-bölgesel nüksüz sağkalım (LNS) oranları %82 ve %63, uzak metastazsız sağkalım (UMS) oranları ise %84 ve %80 olarak saptanmıştır. Bu bulgular literatürle uyumludur^{126,127,129,163}.

Literatürde birçok çalışmada bazı demografik ve histomorfolojik özelliklerin prognoza ilişkisi tartışılmıştır.

1966 yılında Williams ve arkadaşları 67 vakalık bir grupta iğsi hücre paterni, mitoz ve nekrozun kötü sağkalımla ilişkili olduğunu belirtmiş ancak bu çalışmada gerekli istatistiksel analizler yapılmamıştır¹⁶⁴. Daha sonra yapılan çalışmalarda hücre tipi, multifokalite ve amiloid birikimi gibi parametrelerin prognostik önemi olmadığı gösterilmiştir^{10,135,165}. Bizim

çalışmamızda da amiloid varlığı ile olumsuz prognoz arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Multifokalitenin ise sağkalımı olumlu etkilediği görülmüştür.

Yaş ve cinsiyet faktörlerini araştıran birçok çalışma olmakla birlikte, bulgular değişkendir^{131,166-169}. Çalışmamızda erkek hastalarda, lenf nodu metastazı ve uzak metastazının daha sık olduğu görülmektedir. Genel sağkalım erkeklerde daha düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 50 yaş üstü ve 50 yaş altı hastalar karşılaştırıldığında, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağkalım açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda infiltratif sınırlı olmayan ve kapsüllü vakalarda lokal-bölgesel nüksüz sağkalımın olumlu etkilendiği bildirilmektedir¹⁰. Miccoli ve ark.'nın 70 hastalık serisinde infiltrasyonun olmayışının ve tam bir kapsül varlığının lenf nodu metastazı yokluğu ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur¹⁷⁰. Bizim serimizde de infiltratif sınır özelliği ile lenf nodu metastazı ($p=0,004$) ve lokal-bölgesel nüks ($p=0,002$) ilişkili saptanmıştır.

2008 yılında Koperek ve ark. desmoplastik stroma varlığı ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulmuştur¹³⁶. Buna karşılık dört ayrı çalışmada^{10,135,170,171} MTK'da fibrozisin varlığı veya derecesi için herhangi bir prognostik değer bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda fibrozis varlığı ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p<0,001$). Bu durum için olası bir açıklama, subjektif bir histolojik parametrenin değerlendirilmesinde gözlemciler arası değişkenlik olabilir.

Mitoz ile ilgili olarak az sayıda güncel çalışma vardır. Alzumalii ve ark.'nın 144 hastadan oluşan çalışmasında, 92 (%64) vakada mitoz saptanmamıştır. Mitoz sayısı eşik değeri 5/10 BBA olarak alınmış ve bu eşik değerinde mitoz, hastalık spesifik sağkalımı öngörme açısından bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur¹⁰. Fuchs ve ark.'nın 76 hastayı içeren çalışmasında ise mitoz eşik değeri 3/2mm² olarak alınmış ve bu eşik değerinde sağkalımla istatistiksel olarak ilişkili saptanmıştır, çok değişkenli analizde ise sadece mitoz sayısı bağımsız prognostik parametre olarak bulunmuştur¹⁷². Bu çalışmada vakaların %12'sinde mitoz ve Ki67 değerlerinin uyumsuz olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalara göre DSÖ 2022'de önerilen derecelendirme sisteminde eşik değer 5 mitoz/2mm² olarak belirlenmiştir. Bizim serimizde ise vakaların %72'sinde mitoz izlenmemiştir. Çalışmamızda Ki67 değeri yüksek vakalarda dahi mitoz sayısı bu değerlerle çok uyumlu olmadığından, mitoz sayısının PHH3 immünohistokimyası ile tespit edilmesinin daha pratik olabileceği düşünülmüştür. Bu konuda ileri araştırmaların yapılması gereklidir.

Ki67 değerinin MTK'da metasataz ile ilişkili olduğu bildirilmiş, birçok çalışmada eşik değeri belirleyebilmek amacıyla araştırılmıştır^{55,173}. Bu çalışmalar sonucunda eşik değeri %5 olarak belirlenmiştir¹⁷⁴. Bizim çalışmamızda da yapılan değerlendirmede olgularda %1 ile %25 arasında değişen değerlere ulaşıldı. Ki67 eşik değeri %5 alındığında, 33 vakada değeri %5 ve üzerinde, 62 vakada ise %5'in altında bulundu. Ki67 proliferasyon indeksinin $\geq$ %5'in üzerinde olması ile lenf nodu metastazı ve uzak metastaz arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu vaka grubunda sağkalımların (GS, LNS, UMS) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiş, Ki67'nin prognostik önemi gösterilmiştir.

Nekroz varlığının önemi birçok endokrin ve nöroendokrin tümörde gösterilmiştir ve akciğer, pankreas gibi organların tümörlerinde derecelendirme sisteminde kullanılmaktadır. Güncel çalışmalarda nekroz varlığının sağkalımı öngörmeye bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiş ve MTK derecelendirme sistemi için bir parametre olarak belirlenmiştir^{10,55}. Bizim çalışmamızda da genel sağkalımı öngörebilmek amacıyla yapılan çok değişkenli analizde, değişken olarak nekroz, Ki67, ekstrasitroidal yayılım, cerrahi sınır pozitifliği ve tümör odağı sayısı alındığında, nekroz literatürle uyumlu olarak bağımsız bir prognostik faktör olarak saptandı.

Çalışmamızda vakalar henüz yayınlanmamış olan DSÖ 2022 Endokrin Tümör Sınıflaması'nda önerileceği bildirilen yayına göre¹⁴⁰ nekroz varlığı, Ki67 proliferasyon indeksi ve mitoz değerlendirilerek yüksek ve düşük dereceli olarak iki gruba ayrıldı. Belirtilen sisteme göre derecelendirildiğinde, 34 (%35,8) vaka yüksek dereceli, 61 (%64,2) vaka ise düşük dereceli olarak saptanmıştır. Vakaların büyük çoğunluğunun düşük dereceli olması kaynaklarla uyumludur^{10,55,139}. Yüksek dereceli grupta literatürle paralel olarak lenf nodu metastazı ve uzak metastazın daha sık olduğu tespit edilmiş, sağkalıma olumsuz etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur^{10,55,139,174}.

Literatürde vasküler invazyon varlığı Rios ve ark.'nın çalışmasında tek bağımsız prgonostik faktör olarak saptanmıştır¹³⁵. Yine Erovic ve ark.'nın çalışmasında anjiyoinvazyonun hastalıklı sağkalım açısından en önemli prognostik faktör olduğu ileri sürülmüştür⁷⁰. Bizim çalışmamızda vasküler invazyon bulunan vakalarda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz daha sık bulunmuştur. Genel sağkalım ise bu vakalarda daha düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bcl-1 hücre proliferasyonunda rol alan, G1 fazından S fazına geçişten sorumlu, DNA replikasyonunu başlatan bir gendir¹⁵. Literatürde tiroid karsinomlarında Bcl-1 ekspresyonunu araştıran çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte, sonuçlar tartışmalıdır. Sporny ve

arkadaşlarının çalışmasında klasik papiller karsinom, foliküler karsinom, medüller tiroid karsinomu ve anaplastik karsinomu içeren 35 vakalık bir grupta Bcl-1 ekspresyonu araştırılmış, medüller karsinomda diğer tiroid tümörlerine göre daha çok sayıda hücrede ekspresyon olduğu ve daha agresif tiroid karsinomlarında ekspresyonun arttığı sonucuna varılmıştır¹⁵. Erovic ve arkadaşlarının çalışmasında ise 23 MTK vakasında Bcl-1 ekspresyonu araştırılmış, bulguların sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır⁷⁰. Bizim çalışmamızda ise Bcl-1 antikoru ile yapılan değerlendirmede tümör hücrelerinde tüm vakalarda nükleer boyanma izlenmiştir. İki (%2,2) vakada tümör hücrelerinin %40'ında, 24 (%25,2) vakada %60-75'inde, 69 vakada (%72,6) ise %80-95'inde orta-kuvvetli şiddette nükleer boyanma saptanmıştır.

Tümör hücrelerinde Bcl-1 yüzdesinin hangi eşik değerde pozitif kabul edilmesi gerektiğinin tespiti için yapılan ROC eğrisinde, anlamlı bir eşik değeri saptanmamıştır. Sonuç olarak Bcl-1 pozitivitesi ile lenf nodu metastazı, uzak metastaz veya sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

CDKN1B tarafından kodlanan p27 (Kip1), siklin bağımlı kinaz (CDK) aktivitesini düzenleyen ve hücre döngüsünde G1 fazı boyunca ilerlemeyi kontrol etmede esansiyel bir rolü olan Cip/Kip ailesinin bir CDK inhibitörüdür¹⁵². Keşfedilmesinden bu yana, apoptozun düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücre migrasyonu dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik fonksiyonda rolü olduğu gösterilmiştir^{152,153}. P27 ekspresyonunun azalması veya kaybı meme kanseri, over kanseri, gastrointestinal tümörler ve akciğer karsinomları gibi tümörlerde kötü prognozla ilişkilendirilmiştir¹⁵⁶⁻¹⁵⁹. Ito ve arkadaşlarının çalışmasında p27 ekspresyonu 64 MTK vakasında değerlendirilmiş, p27 ekspresyonundaki azalmanın tümör boyutunun artmasına katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır, ancak yaş, cinsiyet, lenf nodu metastazı ve ekstrasitroidal yayılım gibi diğer prognostik olabilecek parametrelerle arasında bir ilişki bulunamamıştır¹².

Erovic ve arkadaşlarının çalışmasında ise 23 MTK vakasında p27 ekspresyonu araştırılmış, bulguların sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır⁷⁰.

Bizim çalışmamızda p27 antikoru ile kontrol olarak değerlendirilen tirositlerde ve lenfositlerde beklenen kuvvetli nükleer boyanmanın aksine, fokal alanlarda zayıf nükleer boyanma görüldü. Üç vakada kontrol dokusunda reaksiyon elde edilemedi. Kontrol dokusunda reaksiyon alınan 92 vakanın 9'unda tümör hücrelerinde reaksiyon görülmedi, bu vakalarda nükleer ekspresyon kaybı olabileceği düşünüldü. Seksen üç vakada ise tümör hücrelerinde çoğunlukla dokunun periferinde, zayıf ve fokal nitelikte heterojen reaksiyon elde edildi. Bu vakalarda nükleer ekspresyon kaybı olmadığı yorumu yapıldı. Ancak yapılan istatistiksel analizlerde p27 boyanması ile diğer parametreler ve sağkalım arasında anlamlı ilişki

bulunamadı. Bu sebeplerle çalışmamızda kullanmış olduğumuz p27 antikoru rutin pratikte kullanılabilecek güvenilirlikte bulunmamıştır.



BÖLÜM VI

SONUÇLAR

- Çalışmamızda 95 vaka yer almaktadır.
- Vakalarda DSÖ 2022-Endokrin Sistem Tümör Sınıflaması'nda önerilen MTK derecelendirme sistemi kullanılarak yapılan derecelendirmede, vakaların 61'i (%64,2) düşük dereceli, 34'ü (%35,8) yüksek dereceli olarak belirlendi.
- Elli bir vakada lenf nodu metastazı, 22 vakada lokal-bölgesel nüks, 17 vakada uzak metastaz izlenmiş olup, 13 vakada hastalık sebebiyle ölüm tespit edilmiştir.
- Erkek hastalarda, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz daha sık görülmektedir. Genel sağkalım erkeklerde daha düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
- 50 yaş üstü ve 50 yaş altı hastalar karşılaştırıldığında, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağkalımlar açısından anlamlı fark saptanmamıştır.
- Tümör çapı 4 cm'den büyük olan vakalarda lenf nodu metastazı daha sık olmakla birlikte, uzak metastaz ve sağkalımlar arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.
- Tümör çapı 0,5 cm'den küçük olan tümörlerde, 0,5 cm'den büyük olan tümörlere göre lenf nodu metastazı ihtimali daha düşüktür.
- Amiloid varlığı ile lenf nodu metastazı, uzak metastaz veya sağkalımlar arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
- Fibrozis izlenen vakalarda lenf nodu metastazının daha sık olduğu görülmüş, ancak uzak metastaz ile anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Fibrozis varlığının sağkalımları (GS, LNS, UMS) düşürdüğü görülmüştür.
- Ekstratiroidal yayılım görülen vakalarda, lenf nodu metastazı ve uzak metastazın daha sık olduğu tespit edilmiş, sağkalımlara (GS, LNS, UMS) olumsuz etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
- Cerrahi sınır pozitifliği görülen vakalarda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Cerrahi sınır pozitifliğinin GS ve UMS'yi düşürdüğü görülmüştür. Cerrahi sınır pozitifliği ile lokal-bölgesel nüksüz sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
- Sınır özellikleri açısından, infiltratif sınır özelliği; lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve lokal-bölgesel nüksle ilişkili saptanmıştır İnfiltratif sınırlı vakalarda genel sağkalımın ve

uzak metastazsız sağkalımın daha düşük olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

- Nekroz içeren vakalarda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz daha sık; GS ve UMS ise anlamlı şekilde daha düşüktür. Nekroz ile lokal-bölgesel nüksüz sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
- Doksan beş vakanın 1'inde 3 mitoz, 4'ünde 2 mitoz, 21'inde 1 mitoz saptanırken, 69 vakada mitoz izlenmemiştir. Tüm vakalarda saptanan mitoz sayısının güncel derecelendirme sistemindeki¹⁴⁰ eşik değeri olan 5'in altında olması sebebiyle, bu parametre istatistiksel analize alınmamıştır.
- Vakalar DSÖ 2022'de önerilen nekroz varlığı, Ki67 proliferasyon indeksi ve mitoz değerlendirilerek yüksek ve düşük dereceli iki gruba ayrıldığında, yüksek dereceli grupta lenf nodu metastazı ve uzak metastazın daha sık olduğu tespit edilmiştir. Yüksek dereceli vakaların lokal-bölgesel nüksüz sağkalıma ilişkili olmadığı; uzak metastazsız ve genel sağkalımı ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir.
- Lenfatik invazyon içeren vakalarda, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz daha sık; sağkalımlar (GS, LNS, UMS) ise anlamlı şekilde daha düşüktür.
- Vasküler invazyon bulunan vakalarda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz daha sık görülmektedir. Vasküler invazyon varlığının lokal-bölgesel nüksüz ve uzak metastazsız sağkalımla istatistiksel olarak ilişkili olduğu, genel sağkalımı ise düşürdüğü ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.
- Lenf nodu metastazı saptanan vakalarda, uzak metastaz daha sık görülmektedir. Bu vakalarda sağkalımların (GS, LNS, UMS) daha düşük olduğu gösterilmiştir.
- Uzak metastaz görülen vakalarda genel sağkalım belirgin olarak daha düşüktür.
- Bcl-1 immünohistokimyası ile vakaların %97,8'inde tümör hücrelerinin %60 ve üzerinde orta-kuvvetli şiddette nükleer boyanma izlenmiştir. Bcl-1 immünohistokimyası ile lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve sağkalımlar arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
- Ki67 proliferasyon indeksi $\geq$ %5 olan vakalarda, $<$ %5 olan vakalara göre lenf nodu metastazı ve uzak metastazın daha sık olduğu görülmüş, Ki67 değerinin %5'in üzerinde olmasının sağkalımları (GS, LNS, UMS) anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir.
- P27 immünohistokimyasal incelemesi ile tümör hücrelerinde heterojen, zayıf-fokal reaksiyon alınmış, antikor rutin pratikte kullanılabilecek güvenilirlikte bulunmamıştır.

BÖLÜM VII

KAYNAKLAR

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J cancer* [Internet]. 2010 Dec 15 [cited 2022 Jan 4];127(12):2893–917. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21351269/>
2. Reagh J, Bullock M, Juliana Andrici zy, John Turchini wz, Loretta Sioson wz, Clarkson A, et al. NRAS Q61R Mutation-specific Immunohistochemistry Also Identifies the HRAS Q61R Mutation in Medullary Thyroid Cancer and May Have a Role in Triaging Genetic Testing for MEN2 [Internet]. 2016. Available from: www.ajsp.com
3. Rowland KJ, Moley JF. Hereditary thyroid cancer syndromes and genetic testing. *J Surg Oncol* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2022 Jan 4];111(1):51–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25351655/>
4. Wells SA, Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF, et al. Revised American thyroid association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2015 Jun 1;25(6):567–610.
5. Kalezić NK, Zivaljević VR, Slijepčević NA, Paunović IR, Diklic AD, Sipetić SB. Risk factors for sporadic medullary thyroid carcinoma. *Eur J Cancer Prev*. 2013 May;22(3):262–7.
6. Erickson LA, Yousef OM, Jin L, Lohse CM, Pankratz VS, Lloyd R V. p27 kip1 Expression Distinguishes Papillary Hyperplasia in Graves' Disease from Papillary Thyroid Carcinoma. Vol. 13, *Mod Pathol*. 2000.
7. Motti ML, Califano D, Baldassarre G, Celetti A, Merolla F, Forzati F, et al. Reduced E-cadherin expression contributes to the loss of p27 kip1-mediated mechanism of contact inhibition in thyroid anaplastic carcinomas. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article/26/6/1021/2390852>
8. Endl E, Kausch I, Baack M, Knippers R, Gerdes J, Scholzen T. The expression of Ki-67, MCM3, and p27 defines distinct subsets of proliferating, resting, and differentiated cells. *J Pathol* [Internet]. 2001 [cited 2022 Jul 27];195(4):457–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11745678/>
9. McCall CM, Shi C, Cornish TC, Klimstra DS, Tang LH, Basturk O, et al. Grading of well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors is improved by the inclusion of both Ki67 proliferative index and mitotic rate. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2013 Nov [cited 2022 Jul 27];37(11):1671–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24121170/>
10. Alzumaili B, Xu B, Spanheimer PM, Tuttle RM, Sherman E, Katabi N, et al. Grading of medullary thyroid carcinoma on the basis of tumor necrosis and high mitotic rate is an independent predictor of poor outcome. *Mod Pathol*. 2020 Sep 1;33(9):1690–701.
11. Khoo MLC, Freeman JL, Witterick IJ, Irish JC, Rotstein LE, Gullane PJ, et al. Underexpression of

- p27/Kip in Thyroid Papillary Microcarcinomas With Gross Metastatic Disease [Internet]. Vol. 128, Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2002. Available from: <https://jamanetwork.com/>
12. Ito Y, Yoshida H, Nakamura Y, Tomoda C, Uruno T, Takamura Y, et al. Expression of Jun activation domain-binding protein 1 and p27 (Kip1) in thyroid medullary carcinoma. *Pathology*. 2005;37(3):216–9.
 13. Ito Y, Uruno T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, et al. Papillary microcarcinomas of the thyroid with preoperatively detectable lymph node metastasis show significantly higher aggressive characteristics on immunohistochemical examination. *Oncology* [Internet]. 2005 Jul [cited 2022 Jul 26];68(2–3):87–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15886500/>
 14. Erovic BM, Kim D, Cassol C, Goldstein DP, Irish JC, Asa SL, et al. Prognostic and predictive markers in medullary thyroid carcinoma. *Endocr Pathol*. 2012 Dec;23(4):232–42.
 15. Sporny S, Slowinska-Klencka D, Ratynska M. Cyclin D1 expression in primary thyroid carcinomas. *Neuroendocrinol Lett*. 2005;26(6):815–8.
 16. Wang S, Lloyd R V., Hutzler MJ, Safran MS, Patwardhan NA, Khan A. The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1, in the progression of thyroid cancer. *Mod Pathol*. 2000;13(8):882–7.
 17. Temmim L, Ebraheem AK, Baker H, Sinowatz F. Cyclin D1 protein expression in human thyroid gland and thyroid cancer. *Anat Histol Embryol* [Internet]. 2006 Apr [cited 2022 Jul 27];35(2):125–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16542178/>
 18. Papathomas TG, Pucci E, Giordano TJ, Lu H, Duregon E, Volante M, et al. An International Ki67 Reproducibility Study in Adrenal Cortical Carcinoma. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2016 [cited 2022 Jul 27];40(4):569–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26685085/>
 19. Colonna M, Guizard A V., Schvartz C, Velten M, Raverdy N, Molinie F, et al. A time trend analysis of papillary and follicular cancers as a function of tumour size: a study of data from six cancer registries in France (1983-2000). *Eur J Cancer* [Internet]. 2007 Mar [cited 2022 Jul 5];43(5):891–900. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17289376/>
 20. Netea-Maier RT, Aben KKH, Casparie MK, Den Heijer M, Grefte JMM, Slootweg P, et al. Trends in incidence and mortality of thyroid carcinoma in The Netherlands between 1989 and 2003: Correlation with thyroid fine-needle aspiration cytology and thyroid surgery. Available from: www.interscience.
 21. Barletta JA, Nosé V, Sadow PM. Genomics and Epigenomics of Medullary Thyroid Carcinoma: From Sporadic Disease to Familial Manifestations. Vol. 32, *Endocrine Pathology*. Springer; 2021. p. 35–43.
 22. Raue F. German medullary thyroid carcinoma/multiple endocrine neoplasia registry. *Langenbeck's Arch Surg*. 1998;383(5):334–6.
 23. Gogna S, Goldberg M, Samson D, Gachabayov M, Felsenreich DM, Azim A, et al. Medullary thyroid cancer in patients older than 45—epidemiologic trends and predictors of survival. *Cancers (Basel)*. 2020 Nov 1;12(11):1–13.
 24. Krampitz GW, Norton JA. RET gene mutations (genotype and phenotype) of multiple endocrine neoplasia type 2 and familial medullary thyroid carcinoma. Vol. 120, *Cancer*. John Wiley and Sons Inc.; 2014. p. 1920–31.
 25. Larouche V, Akirov A, Thomas CM, Krzyzanowska MK, Ezzat S. A primer on the genetics of

- medullary thyroid cancer. Vol. 26, Current Oncology. Multimed Inc.; 2019. p. 389–94.
26. Wells SA, Pacini F, Robinson BG, Santoro M. Multiple endocrine neoplasia type 2 and familial medullary thyroid carcinoma: an update. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2013 Aug [cited 2022 Jan 4];98(8):3149–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23744408/>
 27. Zayed AA, Ali MKM, Jaber OI, Suleiman MJ, Ashhab AA, Al Shweiat WM, et al. Is Hashimoto's thyroiditis a risk factor for medullary thyroid carcinoma? Our experience and a literature review. *Endocrine*. 2015 Mar 1;48(2):629–36.
 28. Sponziello M, Benvenuti S, Gentile A, Pecce V, Rosignolo F, Virzì AR, et al. Whole exome sequencing identifies a germline MET mutation in two siblings with hereditary wild-type RET medullary thyroid cancer. *Hum Mutat*. 2018 Mar 1;39(3):371–7.
 29. Matias-Guiu X, De Lellis R. Medullary thyroid carcinoma: A 25-year perspective. *Endocr Pathol*. 2014;25(1):21–9.
 30. Simões-Pereira J, Bugalho MJ, Limbert E, Leite V. Retrospective analysis of 140 cases of medullary thyroid carcinoma followed-up in a single institution. *Oncol Lett*. 2016 Jun 1;11(6):3870–4.
 31. Current Understanding and Management of Medullary Thyroid Cancer; Current Understanding and Management of Medullary Thyroid Cancer. Available from: <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist>.
 32. Gambardella C, Offi C, Patrone R, Clarizia G, Mauriello C, Tartaglia E, et al. Calcitonin negative Medullary Thyroid Carcinoma: A challenging diagnosis or a medical dilemma? *BMC Endocr Disord*. 2019 May 29;19.
 33. Chen H, Sippel RS, O'Dorisio MS, Vinik AI, Lloyd R V., Pacak K. The north american neuroendocrine tumor society consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: Pheochromocytoma, paraganglioma, and medullary thyroid cancer. Vol. 39, *Pancreas*. 2010. p. 775–83.
 34. Giovanella L, Crippa S, Ceriani L. Serum calcitonin-negative medullary thyroid carcinoma: role of CgA and CEA as complementary markers. *Int J Biol Markers* [Internet]. 2008 [cited 2022 Jul 5];23(2):129–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18629788/>
 35. Pivovarov A, Patrick S, Reddy PJ. Sporadic Medullary Thyroid Carcinoma with Paraneoplastic Cushing Syndrome. *Case Rep Endocrinol*. 2019;2019.
 36. Trimboli P, Giovanella L, Valabrega S, Andrioli M, Baldelli R, Cremonini N, et al. Ultrasound features of medullary thyroid carcinoma correlate with cancer aggressiveness: A retrospective multicenter study. *J Exp Clin Cancer Res*. 2014;33(1).
 37. Kushchayev S V., Kushchayeva YS, Tella SH, Glushko T, Pacak K, Teytelboym OM. Medullary Thyroid Carcinoma: An Update on Imaging. Vol. 2019, *Journal of Thyroid Research*. Hindawi Limited; 2019.
 38. Treglia G, Castaldi P, Villani MF, Perotti G, De Waure C, Filice A, et al. Comparison of 18F-DOPA, 18F-FDG and 68Ga-somatostatin analogue PET/CT in patients with recurrent medullary thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012 Apr;39(4):569–80.
 39. Romei C, Ciampi R, Elisei R. A comprehensive overview of the role of the RET proto-oncogene in thyroid carcinoma. Vol. 12, *Nature Reviews Endocrinology*. Nature Publishing Group; 2016. p. 192–202.
 40. Boichard A, Croux L, Al Ghuzlan A, Broutin S, Dupuy C, Leboulleux S, et al. Somatic RAS

- mutations occur in a large proportion of sporadic RET-negative medullary thyroid carcinomas and extend to a previously unidentified exon. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Oct;97(10).
41. Ciampi R, Romei C, Ramone T, Prete A, Tacito A, Cappagli V, et al. Genetic Landscape of Somatic Mutations in a Large Cohort of Sporadic Medullary Thyroid Carcinomas Studied by Next-Generation Targeted Sequencing. *iScience.* 2019 Oct 25;20:324–36.
 42. Moura MM, Cavaco BM, Pinto AE, Leite V. High prevalence of RAS mutations in RET-negative sporadic medullary thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 May;96(5).
 43. Agrawal N, Jiao Y, Sausen M, Leary R, Bettegowda C, Roberts NJ, et al. Exomic sequencing of medullary thyroid cancer reveals dominant and mutually exclusive oncogenic mutations in RET and RAS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Feb;98(2).
 44. Simbolo M, Mian C, Barollo S, Fassan M, Mafficini A, Neves D, et al. High-throughput mutation profiling improves diagnostic stratification of sporadic medullary thyroid carcinomas. *Virchows Arch.* 2014;465(1):73–8.
 45. Grubbs EG, Williams MD, Scheet P, Vattathil S, Perrier ND, Lee JE, et al. Role of CDKN2C copy number in sporadic medullary thyroid carcinoma. *Thyroid.* 2016;26(11):1553–62.
 46. Lyra J, Vinagre J, Batista R, Pinto V, Prazeres H, Rodrigues F, et al. mTOR activation in medullary thyroid carcinoma with RAS mutation. *Eur J Endocrinol.* 2014 Nov 1;171(5):633–40.
 47. Tamburrino A, Molinolo AA, Salerno P, Chernock RD, Raffeld M, Xi L, et al. Activation of the mTOR pathway in primary medullary thyroid carcinoma and lymph node metastases. *Clin Cancer Res.* 2012;18(13):3532–40.
 48. Sponziello M, Durante C, Boichard A, Dima M, Puppini C, Verrienti A, et al. Epigenetic-related gene expression profile in medullary thyroid cancer revealed the overexpression of the histone methyltransferases EZH2 and SMYD3 in aggressive tumours. *Mol Cell Endocrinol.* 2014 Jul 5;392(1–2):8–13.
 49. Wang N, Kjellin H, Sofiadis A, Fotouhi O, Juhlin CC, Bäckdahl M, et al. Genetic and epigenetic background and protein expression profiles in relation to telomerase activation in medullary thyroid carcinoma [Internet]. Vol. 7. 2016. Available from: www.impactjournals.com/oncotarget
 50. Desai SS, Sarkar S, Borges AM. A study of histopathological features of medullary carcinoma of the thyroid: cases from a single institute in India. *Indian J Cancer* [Internet]. 2005 [cited 2022 Jul 5];42(1):21–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15805688/>
 51. Pillarisetty VG, Katz SC, Ghossein RA, Tuttle RM, Shaha AR. Micromedullary thyroid cancer: How micro is truly micro? *Ann Surg Oncol.* 2009 Oct;16(10):2875–81.
 52. Bussi res V, Roy S, Deladoey J, Rousseau  , St-Vil D, Pich  N. Prophylactic thyroidectomies in MEN2 syndrome: Management and outcomes. *J Pediatr Surg.* 2018 Feb 1;53(2):283–5.
 53. Febrero B, Rodríguez JM, Ríos A, Segura P, Pérez-Sánchez B, Torregrosa N, et al. Prophylactic thyroidectomy in multiple endocrine neoplasia 2 (MEN2) patients with the C634Y mutation: A long-term follow-up in a large single-center cohort. *Eur J Surg Oncol.* 2019 Apr 1;45(4):625–30.
 54. Garc s Visier C, Espinoza Vega M, Guill n Redondo P, Ollero Fresno JC, Souto Romero H, Luis Huertas A, et al. Prophylactic thyroidectomy in multiple endocrine neoplasia type 2A in children: a single centre experience. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Jul 5];32(8):889–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31343983/>
 55. Fuchs TL, Nassour AJ, Glover A, Sywak MS, Sidhu SB, Delbridge LW, et al. A Proposed Grading

- Scheme for Medullary Thyroid Carcinoma Based on Proliferative Activity (Ki-67 and Mitotic Count) and Coagulative Necrosis. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(10):1419–28.
56. Khurana R, Agarwal A, Bajpai VK, Verma N, Sharma AK, Gupta RP, et al. Unraveling the amyloid associated with human medullary thyroid carcinoma. *Endocrinology*. 2004 Dec;145(12):5465–70.
 57. Moura MM, Cabrera RA, Esteves S, Cavaco BM, Soares P, Leite V. Correlation of molecular data with histopathological and clinical features in a series of 66 patients with medullary thyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest*. 2021 Sep 1;44(9):1837–46.
 58. Erickson LA, Vrana JA, Theis J, Rivera M, Lloyd R V., McPhail E, et al. Analysis of Amyloid in Medullary Thyroid Carcinoma by Mass Spectrometry-Based Proteomic Analysis. *Endocr Pathol*. 2015 Dec 1;26(4):291–5.
 59. Smith A, Galli M, Piga I, Denti V, Stella M, Chinello C, et al. Molecular signatures of medullary thyroid carcinoma by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging. *J Proteomics*. 2019 Jan 16;191:114–23.
 60. Holm R, Farrants GW, Nesland JM, Sobrinho-Simões M, Jørgensen OG, Johannessen JV. Ultrastructural and electron immunohistochemical features of medullary thyroid carcinoma. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* [Internet]. 1989 Sep [cited 2022 Jul 5];414(5):375–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2499093/>
 61. Guyétant S, Rousselet M, Durigon M, Chappard D, Franc B, Guerin O, et al. Sex-Related C Cell Hyperplasia in the Normal Human Thyroid: A Quantitative Autopsy Study [Internet]. Vol. 82, *J Clin Endocrinol Metab*. 1997. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/82/1/42/2823115>
 62. Albores-Saavedra J, Monforte H, Nadji M, Morales AR. C-cell hyperplasia in thyroid tissue adjacent to follicular cell tumors. *Hum Pathol*. 1988 Jul 1;19(7):795–9.
 63. Fuchs TL, Bell SE, Chou A, Gill AJ. Revisiting the Significance of Prominent C Cells in the Thyroid. *Endocr Pathol*. 2019 Jun 15;30(2):113–7.
 64. Nakazawa T, Cameselle-Teijeiro J, Vinagre J, Soares P, Rousseau E, Eloy C, et al. C-cell-derived calcitonin-free neuroendocrine carcinoma of the thyroid: The diagnostic importance of cgrp immunoreactivity. *Int J Surg Pathol*. 2014;22(6):530–5.
 65. Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology* [Internet]. 2000 [cited 2022 Jul 5];36(5):415–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10792482/>
 66. Bejarano PA, Nikiforov YE, Swenson ES, Biddinger PW. Thyroid transcription factor-1, thyroglobulin, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in thyroid neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM* [Internet]. 2000 Sep [cited 2022 Jul 5];8(3):189–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10981870/>
 67. Zhang P, Zuo H, Nakamura Y, Nakamura M, Wakasa T, Kakudo K. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors. *Pathol Int*. 2006 May;56(5):240–5.
 68. 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. *Mod Pathol*. 2008 Feb;21(2):192–200.
 69. Gucer H, Caliskan S, Kefeli M, Mete O. Do You Know the Details of Your PAX8 Antibody?

- Monoclonal PAX8 (MRQ-50) Is Not Expressed in a Series of 45 Medullary Thyroid Carcinomas. *Endocr Pathol*. 2020 Mar 1;31(1):33–8.
70. Erovic BM, Kim D, Cassol C, Goldstein DP, Irish JC, Asa SL, et al. Prognostic and predictive markers in medullary thyroid carcinoma. *Endocr Pathol*. 2012;23(4):232–42.
 71. Hirsch MS, Faquin WC, Krane JF. Thyroid transcription factor-1, but not p53, is helpful in distinguishing moderately differentiated neuroendocrine carcinoma of the larynx from medullary carcinoma of the thyroid. *Mod Pathol*. 2004 Jun;17(6):631–6.
 72. Papotti M, Sambataro D, Pecchioni C, Bussolati G. The Pathology of Medullary Carcinoma of the Thyroid: Review of the Literature and Personal Experience on 62 Cases. Vol. 7, *Endocrine Pathology*. 1996.
 73. Kawanishi N, Norimatsu Y, Ohsaki H, Yuminamochi T, Katoh R, Okusaki K, et al. Diagnosis of pseudopapillary variant of medullary thyroid carcinoma by fine-needle aspiration cytology. Vol. 42, *Diagnostic Cytopathology*. John Wiley and Sons Inc.; 2014. p. 823–6.
 74. Hyrcza MD, Winer D, Mete O. Images in Endocrine Pathology: Papillary Variant of Medullary Thyroid Carcinoma with Cystic Change. *Endocr Pathol*. 2015 Mar 1;26(1):87–9.
 75. Çakir M, Altunbaş H, Balci MK, Karayalçın Ü, Karpuzoğlu G. Medullary thyroid carcinoma, follicular variant. *Endocr Pathol* [Internet]. 2002 [cited 2022 Jul 5];13(1):75–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12114753/>
 76. Pusztaszeri MP, Bongiovanni M, Faquin WC. Update on the cytologic and molecular features of medullary thyroid carcinoma. *Adv Anat Pathol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2022 Jan 4];21(1):26–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24316908/>
 77. Laforga JB, Aranda FI. Pseudoangiosarcomatous features in medullary thyroid carcinoma spindle-cell variant. Report of a case studied by FNA and immunohistochemistry. *Diagn Cytopathol*. 2007 Jul;35(7):424–8.
 78. Spaulding SL, Ho R, Everest S, Chai RL. The role of molecular testing in the diagnosis of medullary thyroid cancer: A case report of oncocytic medullary thyroid carcinoma and review of the literature. *Am J Otolaryngol - Head Neck Med Surg*. 2020 Jan 1;41(1).
 79. Wang C, Yun T, Wang Z, Meng N, Fan N, Lv X, et al. Pathological characteristics and genetic features of melanin-producing medullary thyroid carcinoma. *Diagn Pathol*. 2018 Nov 13;13(1).
 80. Golouh R, Us-Krasovec, Auersperg, Jancar J, Bondi A, Eusebi V. Amphicrine--composite calcitonin and mucin-producing--carcinoma of the thyroid. *Ultrastruct Pathol* [Internet]. 1985 [cited 2022 Jan 4];8(2–3):197–206. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4060258/>
 81. Dominguez-Malagon H, Macias-Martinez V, Molina-Cardenas H, Suster S. Amphicrine medullary carcinoma of the thyroid with luminal differentiation: Report of an immunohistochemical and ultrastructural study. *Ultrastruct Pathol*. 1997;21(6):569–74.
 82. Magro G, Grasso S. Sustentacular cells in sporadic paraganglioma-like medullary thyroid carcinoma: report of a case with diagnostic and histogenetic considerations. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2000 [cited 2022 Jul 5];196(1):55–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10674273/>
 83. Bockhorn M, Sheu SY, Frilling A, Molmenti E, Schmid KW, Broelsch CE. Paraganglioma-like medullary thyroid carcinoma: a rare entity. *Thyroid* [Internet]. 2005 Dec [cited 2022 Jul 5];15(12):1363–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16405409/>

84. Jayaram G, Hayati JN, Yip CH, Ranganathan S, Taib NA. Cytologic, histologic and immunocytochemical features in fine needle aspiration of paraganglioma-like variant of medullary carcinoma. *Acta Cytol* [Internet]. 2008 [cited 2022 Jul 5];52(1):119–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18323289/>
85. Ryska A, Cap J, Vaclavikova E, Dvorakova S, Bendlova B, Hovorkova E, et al. Paraganglioma-like medullary thyroid carcinoma: Fine needle aspiration cytology features with histological correlation. *Cytopathology*. 2009 Jun;20(3):188–94.
86. Castelblanco E, Gallel P, Ros S, Gatus S, Valls J, De-Cubas AA, et al. Thyroid paraganglioma. Report of 3 cases and description of an immunohistochemical profile useful in the differential diagnosis with medullary thyroid carcinoma, based on complementary DNA array results. *Hum Pathol*. 2012 Jul;43(7):1103–12.
87. Greco C, Brigante G, Taliani E, Corrado S, Simoni M, Madeo B. Concomitant medullary thyroid carcinoma with paraganglioma-like pattern and papillary thyroid carcinoma. *Endocrinol diabetes Metab case reports* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Jul 5];2019(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31778356/>
88. Hou Y, He X, Chute DJ. Paraganglioma-like medullary thyroid carcinoma: A case report and literature review. *Diagn Cytopathol*. 2020 Jun 1;48(6):559–63.
89. Özkara SK, Gürbüz Y, Müezzinoğlu B, Yumbul Z. Encapsulated cystic papillary variant of medullary carcinoma of thyroid gland. *Endocr Pathol* [Internet]. 2002 [cited 2022 Jul 5];13(2):167–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12165666/>
90. Agarwal C, Raychaudhuri S, Batra A, Pujani M, Dhingra S. Medullary carcinoma of thyroid mimicking Hurthle cell neoplasm on cytology: a diagnostic dilemma. *Diagn Cytopathol*. 2019;47(9):943–7.
91. Verma A, Kane S, Vinarkar S, D'Cruz AK. Small cell medullary thyroid carcinoma: A diagnostic dilemma. *Indian J Pathol Microbiol* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2022 Jul 5];60(4):562–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29323074/>
92. Medullary thyroid carcinoma, small cell variant, as a diagnostic challenge on fine needle aspiration: a case report - PubMed [Internet]. [cited 2022 Jul 5]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21053568/>
93. Matias-Guiu X, LaGuetta J, Puras-Gil AM, Rosai J. Metastatic neuroendocrine tumors to the thyroid gland mimicking medullary carcinoma: a pathologic and immunohistochemical study of six cases. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 1997 [cited 2022 Jul 5];21(7):754–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9236831/>
94. Puente S, Velasco A, Gallel P, Pallares J, Perez-Ruiz L, Ros S, et al. Metastatic small cell carcinoma to the thyroid gland: A pathologic and molecular study demonstrating the origin in the urinary bladder. *Endocr Pathol*. 2008 Sep;19(3):190–6.
95. Eloy C, Oliveira M, Vieira J, Teixeira MR, Cruz J, Sobrinho-Simões M. Carcinoma of the thyroid with Ewing family tumor elements and favorable prognosis: Report of a second case. *Int J Surg Pathol*. 2014;22(3):260–5.
96. Mehdi G, Maheshwari V, Ansari HA, Sadaf L, Khan MA. FNAC diagnosis of medullary carcinoma thyroid: A report of three cases with review of literature. *J Cytol* [Internet]. 2010 Apr [cited 2022 Jul 5];27(2):66–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21157553/>
97. Rosa M. Cytological features of medullary thyroid carcinoma in ascitic effusion. *Diagn Cytopathol*. 2017 Nov 1;45(11):1030–2.

98. Montone KT, Baloch ZW, LiVolsi VA. The thyroid Hürthle (oncocyctic) cell and its associated pathologic conditions: a surgical pathology and cytopathology review. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2008 Aug [cited 2022 Jul 6];132(8):1241–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18684023/>
99. Sams SB, Tompkins KD, Mayson S, Raeburn CD, Mehrotra S. Oncocytic variant of medullary thyroid carcinoma; a rare tumor with numerous diagnostic mimics by fine needle aspiration. *Diagn Cytopathol*. 2017 Dec 1;45(12):1148–52.
100. Liu CY, Bychkov A, Agarwal S, Zhu Y, Hang JF, Lai CR, et al. Cytologic diagnosis of medullary thyroid carcinoma in the Asia-Pacific region. *Diagn Cytopathol*. 2021 Jan 1;49(1):60–9.
101. Trimboli P, Treglia G, Guidobaldi L, Romanelli F, Nigri G, Valabrega S, et al. Detection rate of FNA cytology in medullary thyroid carcinoma: A meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Feb 1;82(2):280–5.
102. Kwon H, Kim WG u., Choi YM i., Jang EK yun., Jeon MJ i., Song DE u., et al. A cut-off value of basal serum calcitonin for detecting macroscopic medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Apr 1;82(4):598–603.
103. Thomas CM, Asa SL, Ezzat S, Sawka AM, Goldstein D. Diagnosis and pathologic characteristics of medullary thyroid carcinoma-review of current guidelines. *Curr Oncol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Jul 6];26(5):338–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31708652/>
104. Massaro F, Dolcino M, Degrandi R, Ferone D, Mussap M, Minuto F, et al. Calcitonin assay in wash-out fluid after fine-needle aspiration biopsy in patients with a thyroid nodule and border-line value of the hormone. *J Endocrinol Invest* [Internet]. 2009 [cited 2022 Jul 6];32(4):308–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19636196/>
105. Trimboli P, Cremonini N, Ceriani L, Saggiorato E, Guidobaldi L, Romanelli F, et al. Calcitonin measurement in aspiration needle washout fluids has higher sensitivity than cytology in detecting medullary thyroid cancer: A retrospective multicentre study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Jan;80(1):135–40.
106. Workman AD, Soyly S, Kamani D, Nourmahnad A, Kyriazidis N, Saade R, et al. Limitations of preoperative cytology for medullary thyroid cancer: Proposal for improved preoperative diagnosis for optimal initial medullary thyroid carcinoma specific surgery. *Head Neck*. 2021 Mar 1;43(3):920–7.
107. Elisei R, Tacito A, Ramone T, Ciampi R, Bottici V, Cappagli V, et al. Twenty-five years experience on RET genetic screening on hereditary MTC: An update on the prevalence of germline RET mutations. *Genes (Basel)*. 2019 Sep 1;10(9).
108. Elisei R, Cosci B, Romei C, Bottici V, Renzini G, Molinaro E, et al. Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: A 10-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(3):682–7.
109. Moura MM, Cavaco BM, Pinto AE, Domingues R, Santos JR, Cid MO, et al. Correlation of RET somatic mutations with clinicopathological features in sporadic medullary thyroid carcinomas. *Br J Cancer*. 2009 Jun 2;100(11):1777–83.
110. Mian C, Pennelli G, Barollo S, Cavedon E, Nacamulli D, Vianello F, et al. Combined RET and Ki-67 assessment in sporadic medullary thyroid carcinoma: A useful tool for patient risk stratification. *Eur J Endocrinol*. 2011;164(6):971–6.
111. Romei C, Ugolini C, Cosci B, Torregrossa L, Vivaldi A, Ciampi R, et al. Low prevalence of the somatic M918T RET mutation in micro-medullary thyroid cancer. *Thyroid* [Internet]. 2012 May

- 1 [cited 2022 Jan 4];22(5):476–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22404432/>
112. Wirth LJ, Sherman E, Robinson B, Solomon B, Kang H, Lorch J, et al. Efficacy of Selpercatinib in RET -Altered Thyroid Cancers . *N Engl J Med*. 2020 Aug 27;383(9):825–35.
 113. Romei C, Casella F, Tacito A, Bottici V, Valerio L, Viola D, et al. New insights in the molecular signature of advanced medullary thyroid cancer: Evidence of a bad outcome of cases with double RET mutations. *J Med Genet*. 2016 Nov 1;53(11):729–34.
 114. Hu MI, Cote GJ. Medullary thyroid carcinoma: who's on first? *Thyroid* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2022 Jan 4];22(5):451–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22545752/>
 115. Ciampi R, Romei C, Cosci B, Vivaldi A, Bottici V, Renzini G, et al. Chromosome 10 and RET gene copy number alterations in hereditary and sporadic Medullary Thyroid Carcinoma. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 Jan 2;348(1):176–82.
 116. Heilmann AM, Subbiah V, Wang K, Sun JX, Elvin JA, Chmielecki J, et al. Comprehensive genomic profiling of clinically advanced medullary thyroid carcinoma. *Oncol*. 2016 Jun 14;90(6):339–46.
 117. Chang YS, Chang CC, Huang HY, Lin CY, Yeh KT, Chang JG. Detection of Molecular Alterations in Taiwanese Patients with Medullary Thyroid Cancer Using Whole-Exome Sequencing. *Endocr Pathol*. 2018 Dec 1;29(4):324–31.
 118. Grubbs EG, Ng PKS, Bui J, Busaidy NL, Chen K, Lee JE, et al. RET fusion as a novel driver of medullary thyroid carcinoma. In: *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Endocrine Society; 2015. p. 788–93.
 119. Ji JH, Oh YL, Hong M, Yun JW, Lee HW, Kim DG, et al. Identification of Driving ALK Fusion Genes and Genomic Landscape of Medullary Thyroid Cancer. *PLoS Genet*. 2015 Aug 1;11(8).
 120. Rowland KJ, Moley JF. Hereditary thyroid cancer syndromes and genetic testing. Vol. 111, *Journal of Surgical Oncology*. John Wiley and Sons Inc.; 2015. p. 51–60.
 121. Moley JF, Louis S. Medullary Thyroid Carcinoma: Management of Lymph Node Metastases. Vol. 8, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* |. 2010.
 122. Moo-Young TA, Traugott AL, Moley JF. Sporadic and Familial Medullary Thyroid Carcinoma: State of the Art. Vol. 89, *Surgical Clinics of North America*. 2009. p. 1193–204.
 123. Scollo C, Baudin E, Travagli JP, Caillou B, Bellon N, Leboulleux S, et al. Rationale for central and bilateral lymph node dissection in sporadic and hereditary medullary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 May 1;88(5):2070–5.
 124. Pacini F, Castagna MG, Cipri C, Schlumberger M. Medullary thyroid carcinoma. *Clin Oncol*. 2010 Aug;22(6):475–85.
 125. Meng K, Chen W, Tian W, Sun K, Chen H. Medullary thyroid carcinoma with breast metastasis two case reports. *Med (United States)*. 2018 Nov 1;97(47).
 126. Roman S, Lin R, Sosa JA. Prognosis of medullary thyroid carcinoma: Demographic, clinical, and pathologic predictors of survival in 1252 cases. *Cancer*. 2006 Nov 1;107(9):2134–42.
 127. Rendl G, Manzl M, Hitzl W, Sungler P, Pirich C. Long-term prognosis of medullary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Sep;69(3):497–505.
 128. Abraham DT, Low TH, Messina M, Jackson N, Gill A, Chou AS, et al. Medullary thyroid carcinoma: Long-term outcomes of surgical treatment. *Ann Surg Oncol*. 2011 Jan;18(1):219–

- 25.
129. Mathiesen JS, Kroustrup JP, Vestergaard P, Stochholm K, Poulsen PL, Rasmussen ÅK, et al. Survival and Long-Term Biochemical Cure in Medullary Thyroid Carcinoma in Denmark 1997-2014: A Nationwide Study. *Thyroid*. 2019 Mar 1;29(3):368–77.
130. Opsahl EM, Akslen LA, Schlichting E, Aas T, Brauckhoff K, Hagen AI, et al. Trends in Diagnostics, Surgical Treatment, and Prognostic Factors for Outcomes in Medullary Thyroid Carcinoma in Norway: A Nationwide Population-Based Study. *Eur Thyroid J*. 2019 Jan 1;8(1):31–40.
131. Kebebew E, Ituarte PHG, Siperstein AE, Duh QY, Clark OH. Medullary thyroid carcinoma: Clinical characteristics, treatment, prognostic factors, and a comparison of staging systems. *Cancer*. 2000;88(5).
132. Ho AS, Wang L, Palmer FL, Yu C, Toset A, Patel S, et al. Postoperative Nomogram for Predicting Cancer-Specific Mortality in Medullary Thyroid Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015 Aug 1;22(8):2700–6.
133. Ito Y, Miyauchi A, Kihara M, Higashiyama T, Fukushima M, Miya A. Static Prognostic Factors and Appropriate Surgical Designs for Patients with Medullary Thyroid Carcinoma: The Second Report from a Single-Institution Study in Japan. *World J Surg*. 2018 Dec 1;42(12):3954–66.
134. Turkdogan S, Forest VI, Hier MP, Tamilia M, Florea A, Payne RJ. Carcinoembryonic antigen levels correlated with advanced disease in medullary thyroid cancer 11 Medical and Health Sciences 1112 Oncology and Carcinogenesis. *J Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2018 Sep 17;47(1).
135. Ríos A, Rodríguez JM, Acosta JM, Balsalobre MD, Torregrosa N, Sola J, et al. Prognostic value of histological and immunohistochemical characteristics for predicting the recurrence of medullary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2010 Sep [cited 2022 Jan 4];17(9):2444–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20224859/>
136. Koperek O, Scheuba C, Cherenko M, Neuhold N, De Micco C, Schmid KW, et al. Desmoplasia in medullary thyroid carcinoma: a reliable indicator of metastatic potential. *Histopathology* [Internet]. 2008 Apr [cited 2022 Jul 13];52(5):623–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18370959/>
137. Schilling T, Bückeburck J, Sinn H-P, Clemens A, Otto HF, Hoppner WH, et al. PROGNOSTIC VALUE OF CODON 918 (ATG3 ACG) RET PROTO-ONCOGENE MUTATIONS IN SPORADIC MEDULLARY THYROID CARCINOMA. *Int. J. Cancer (Pred. Oncol)*. 2001.
138. Vuong HG, Odate T, Ngo HTT, Pham TQ, Tran TTK, Mochizuki K, et al. Clinical significance of RET and RAS mutations in sporadic medullary thyroid carcinoma: A meta-analysis. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25(6):633–41.
139. Najdawi F, Ahmadi S, Capelletti M, Dong F, Chau NG, Barletta JA. Evaluation of grade in a genotyped cohort of sporadic medullary thyroid carcinomas. *Histopathology*. 2021 Sep 1;79(3):427–36.
140. Xu B, Fuchs TL, Ahmadi S, Alghamdi M, Alzumaili B, Bani MA, et al. International Medullary Thyroid Carcinoma Grading System: A Validated Grading System for Medullary Thyroid Carcinoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2022 Jul 6];40(1):96–104. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34731032/>
141. Wang S, Lloyd R V., Hutzler MJ, Safran MS, Patwardhan NA, Khan A. The role of cell cycle regulatory protein, cyclin D1, in the progression of thyroid cancer. *Mod Pathol* [Internet]. 2000 [cited 2022 Jul 27];13(8):882–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10955455/>

142. Muro-Cacho CA, Holt T, Klotch D, Mora L, Livingston S, Futran N. Cyclin D1 expression as a prognostic parameter in papillary carcinoma of the thyroid. *Otolaryngol Head Neck Surg* [Internet]. 1999 [cited 2022 Jul 27];120(2):200–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9949353/>
143. Khoo MLC, Beasley NJP, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. Overexpression of cyclin D1 and underexpression of p27 predict lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 [cited 2022 Jul 27];87(4):1814–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11932323/>
144. Wang S, Wu J, Savas L, Patwardhan N, Khan A. The role of cell cycle regulatory proteins, cyclin D1, cyclin E, and p27 in thyroid carcinogenesis. *Hum Pathol* [Internet]. 1998 [cited 2022 Jul 27];29(11):1304–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9824112/>
145. Goto A, Sakamoto A, Machinami R. An immunohistochemical analysis of cyclin D1, p53, and p21waf1/cip1 proteins in tumors originating from the follicular epithelium of the thyroid gland. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2001 [cited 2022 Jul 27];197(4):217–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11358005/>
146. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J cancer* [Internet]. 1983 [cited 2022 Jul 27];31(1):13–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6339421/>
147. Fonatsch C, Duchrow M, Rieder H, Schlüter C, Gerdes J. Assignment of the human Ki-67 gene (MKI67) to 10q25-qter. *Genomics*. 1991 Oct 1;11(2):476–7.
148. Kreitz S, Fackelmayer FO, Gerdes J, Knippers R. The Proliferation-Specific Human Ki-67 Protein Is a Constituent of Compact Chromatin. *Exp Cell Res*. 2000 Nov 25;261(1):284–92.
149. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 2000;182(3):311–22.
150. Reid MD, Bagci P, Ohike N, Saka B, Seven IE, Dursun N, et al. Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Mod Pathol* [Internet]. 2015 May 5 [cited 2022 Jul 27];28(5):686–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25412850/>
151. Huang W, Nebiolo C, Esbona K, Hu R, Lloyd R. Ki67 index and mitotic count: Correlation and variables affecting the accuracy of the quantification in endocrine/neuroendocrine tumors. *Ann Diagn Pathol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2022 Jul 27];48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32836178/>
152. Chu IM, Hengst L, Slingerland JM. The Cdk inhibitor p27 in human cancer: prognostic potential and relevance to anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2008 Apr [cited 2022 Jul 26];8(4):253–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18354415/>
153. Sharma SS, Pledger WJ. The non-canonical functions of p27(Kip1) in normal and tumor biology. *Cell Cycle* [Internet]. 2016 May 2 [cited 2022 Jul 26];15(9):1189–201. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27082696/>
154. Tomoda K, Kubota Y, Kato JY. Degradation of the cyclin-dependent-kinase inhibitor p27Kip1 is instigated by Jab1. *Nature* [Internet]. 1999 Mar 11 [cited 2022 Jul 26];398(6723):160–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10086358/>
155. Bencivenga D, Caldarelli I, Stampone E, Mancini FP, Balestrieri ML, Della Ragione F, et al. p27Kip1 and human cancers: A reappraisal of a still enigmatic protein. *Cancer Lett*. 2017 Sep 10;403:354–65.

156. Podmirseg SR, Vosper J, Hengst L. INVITED COMMENTARY p27 Kip1-p(RhoB)lematic in lung cancer ‡. J Pathol J Pathol [Internet]. 2019;248:3–5. Available from: www.thejournalofpathology.com
157. Guan X, Wang Y, Xie R, Chen L, Bai J, Lu J, et al. p27(Kip1) as a prognostic factor in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. J Cell Mol Med [Internet]. 2010 Apr [cited 2022 Jul 26];14(4):944–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19298520/>
158. Lu M, Wang Y, Xu F, Xiang J, Chen D. The prognostic of p27(kip1) in ovarian cancer: a meta-analysis. Arch Gynecol Obstet [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2022 Jul 26];293(1):169–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26198169/>
159. Bochis O V., Irimie A, Pichler M, Berindan-Neagoe I. The role of Skp2 and its substrate CDKN1B (p27) in colorectal cancer. J Gastrointestin Liver Dis [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2022 Jul 26];24(2):225–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26114183/>
160. Faik Erdogan M, Gursoy A, Erdogan G, Kamel N. Radioactive iodine treatment in medullary thyroid carcinoma. Nucl Med Commun [Internet]. 2006 [cited 2022 Jul 27];27(4):359–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16531922/>
161. Fialkowski EA, Moley JF. Current approaches to medullary thyroid carcinoma, sporadic and familial. J Surg Oncol [Internet]. 2006 Dec 15 [cited 2022 Jul 27];94(8):737–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17131404/>
162. Van Veelen W, De Groot JWB, Acton DS, Hofstra RMW, Höppener JWM, Links TP, et al. Medullary thyroid carcinoma and biomarkers: past, present and future. J Intern Med [Internet]. 2009 Jul [cited 2022 Jul 27];266(1):126–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19522831/>
163. Abraham DT, Low TH, Messina M, Jackson N, Gill A, Chou AS, et al. Medullary thyroid carcinoma: long-term outcomes of surgical treatment. Ann Surg Oncol [Internet]. 2011 Jan [cited 2022 Jan 4];18(1):219–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20878247/>
164. Williams ED, Brown CL, Doniach I. Pathological and clinical findings in a series of 67 cases of medullary carcinoma of the thyroid. J Clin Pathol [Internet]. 1966 [cited 2022 Jan 4];19(2):103–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5909693/>
165. Multivariate analysis of patients with medullary thyroid carcinoma. Prognostic significance and impact on treatment of clinical and pathologic variables - PubMed [Internet]. [cited 2022 Jul 31]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8608543/>
166. Ríos A, Rodríguez JM, Acosta JM, Balsalobre MD, Torregrosa N, Sola J, et al. Prognostic value of histological and immunohistochemical characteristics for predicting the recurrence of medullary thyroid carcinoma. Ann Surg Oncol [Internet]. 2010 Sep [cited 2022 Jul 30];17(9):2444–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20224859/>
167. Modigliani E, Cohen R, Campos JM, Conte-Devolx B, Maes B, Boneu A, et al. Prognostic factors for survival and for biochemical cure in medullary thyroid carcinoma: results in 899 patients. The GETC Study Group. Groupe d'étude des tumeurs à calcitonine. Clin Endocrinol (Oxf) [Internet]. 1998 [cited 2022 Jul 31];48(3):265–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9578814/>
168. Fuchshuber PR, Loree TR, Hicks WL, Cheney RT, Shedd DP. Medullary carcinoma of the thyroid: prognostic factors and treatment recommendations. Ann Surg Oncol [Internet]. 1998 Jan [cited 2022 Aug 2];5(1):81–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9524712/>
169. Hyer SL, Vini L, A'Hern R, Harmer C. Medullary thyroid cancer: multivariate analysis of

- prognostic factors influencing survival. *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2000 [cited 2022 Aug 2];26(7):686–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11187027/>
170. Miccoli P, Minuto MN, Ugolini C, Molinaro E, Basolo F, Berti P, et al. Clinically unpredictable prognostic factors in the outcome of medullary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* [Internet]. 2007 Dec [cited 2022 Jul 30];14(4):1099–105. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18045961/>
 171. Rougier P, Parmentier C, Laplanche A, Lefevre M, Travagli JP, Caillou B, et al. Medullary thyroid carcinoma: prognostic factors and treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* [Internet]. 1983 [cited 2022 Jul 30];9(2):161–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6833017/>
 172. Fuchs TL, Nassour AJ, Glover A, Sywak MS, Fracs Mm, Sidhu SB, et al. A Proposed Grading Scheme for Medullary Thyroid Carcinoma Based on Proliferative Activity (Ki-67 and Mitotic Count) and Coagulative Necrosis [Internet]. 2020. Available from: www.ajsp.com
 173. Tisell LE, Oden A, Muth A, Altiparmak G, Mölne J, Ahlman H, et al. The Ki67 index a prognostic marker in medullary thyroid carcinoma. *Br J Cancer* [Internet]. 2003 Dec 1 [cited 2022 Jul 31];89(11):2093–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14647143/>
 174. Endo M, Huang EC, Roth MY. Newly Developed Pathologic Grading System Predicts Clinical Outcomes in Medullary Thyroid Carcinoma. *Clin Thyroidol*. 2022;34(2):89–91.