МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИЧЕН ЦЕНТЪР ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ И ГЕРОНТОЛОГИЯ

д-р Радина Стефанова Иванова-Боянова, дм

СЪВРЕМЕННИ АСПЕКТИ В ХИСТОЛОГИЧНАТА И ЦИТОЛОГИЧНА ДИАГНОСТИКА НА ЗЛОКАЧЕСТВЕНИТЕ ТИРЕОИДНИ НОДУЛИ ПРИ БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТИ В СПЕЦИАЛИЗИРАН КЛИНИЧЕН ЦЕНТЪР

Д И С Е Р Т А Ц И О Н Е Н Т Р У Д

за присъждане на образователна и научна степен

„Доктор на науките”

София, 2017 г.

С Ъ Д Ъ Р Ж А Н И Е

I. Използвани съкращения ..... 3 стр.

II. Въведение..... 5 стр.

III. Литературен обзор..... 6. стр.

IV. Цел и задачи.....60 стр.

V. Материал и методи..... 61 стр.

VI. Резултати и обсъждане.....86 стр.

VII. Изводи..... 200 стр.

VIII. Литература.....202 стр.

I. И З П О Л З В А Н И С Ъ К Р А Щ Е Н И Я

На кирилица

АТК - анапластичен тиреоиден карцином

БС- базедовифицирана струма

ГИТ-гастро-интестинален тракт

ДСВПТК -дифузен склерозиращ вариант на ПТК

ДТК - диференциран тиреоиден карцином

ЛТ -лимфоцитарен тиреоидит

МТК - медуларен тиреоиден карцином

НДТК - нискодиференциран тиреоиден карцином

НПС -Негативната предиктивна стойност

НТК - недиференциран тиреоиден карцином

не-ТК -не-тиреоиден карцином

ПМК - папиларен микрокарцином

ПТК - папиларен тиреоиден карцином

ПТЛ -паратиреоидна лезия

ППС - Позитивната предиктивна стойност

ТБ - тънкоиглена биопсия

ТАБ- тънкоиглена аспирационна биопсия

ТК -тиреоиден карцином

ФА- фоликуларен аденом

ФТК- фоликуларен тиреоиден карцином

ФВПТК - фоликуларен вариант на ПТК

ФНР-фалшиво негативен резултат

ФПР-фалшиво позитивен резултат

ЩЖ-щитовидна жлеза

ЦК –цитокератин

На латиница

AKT - Serine/thyreonine-specific protein kinase

BRAF V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

DNA-Deoxyribonucleic acid

Fnegative-false negative

Fpositive-false positive

HBME-1 -Hector Battifora mesothelial-1

Lewis X, sialyl Lewis X- Lewis type-2 histo-blood group antigens

MAPK -mitogen-activated protein kinase

miRs MicroRNAs

PAX8- Paired Box Gene 8

PI3K- Phosphoinositide-3-kinase

PPARγ-Peroxisome proliferator-activated receptor-γ

PTEN -Phosphate and tensin homolog

RAS - Rat sarcoma oncogene; a transforming oncogene

RNA-Ribonucleic acid

RET-Rearranged during transfection; a proto-oncogene encoding a receptor tyrosine kinase

TCV - tall cell вариант на ПТК

Tpositive -true positive

T negative-true negative

TRK - Tyrosine receptor kinase

TTF1 - thyroid transcription factor-1

4TIMP-3-Tissue inhibitor of metalloproteinase-3

TTF-1 -2 Transcription termination factor 1 and 2

VEGF-Vascular endothelial growth factor

uPA-R -urokinase-type plasminogen activactor-receptor

II. В Ъ В Е Д Е Н И Е

През последните 20 години се извършва задълбочен анализ на ролята на хистологичната и цитологична диагностика на злокачествените тиреоидни нодули в съвременния мултидисциплинарен подход в диагнозата и лечението на пациентите с тези тумори. Въведена бе нова хистологична класификация и субкласификация на тиреоидните тумори и ревизирана версия на TNM стадираща система. Натрупаха се нови данни за особеностите, биологията и прогнозата на отделните варианти на папиларния тиреоиден карцином.

Оценява се и се утвърждава диагностичната стойност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули и се предлагат единни критерии за категоризация на цитологичния резултат. Търсят се нови методи за преодоляване на ограниченията на тиреоидната цитопатология.

Натрупани са много нови данни в зависимост от клиничните практики в отделните страни, но все още остават редица ненапълно изяснени въпроси, изискващи допълнителни изследвания и анализи. У нас са извършвани периодични анализи, но липсва обобщена системна и задълбочена обработка на резултатите от хистологичното и цитологично изследване на тиреоидните нодули.

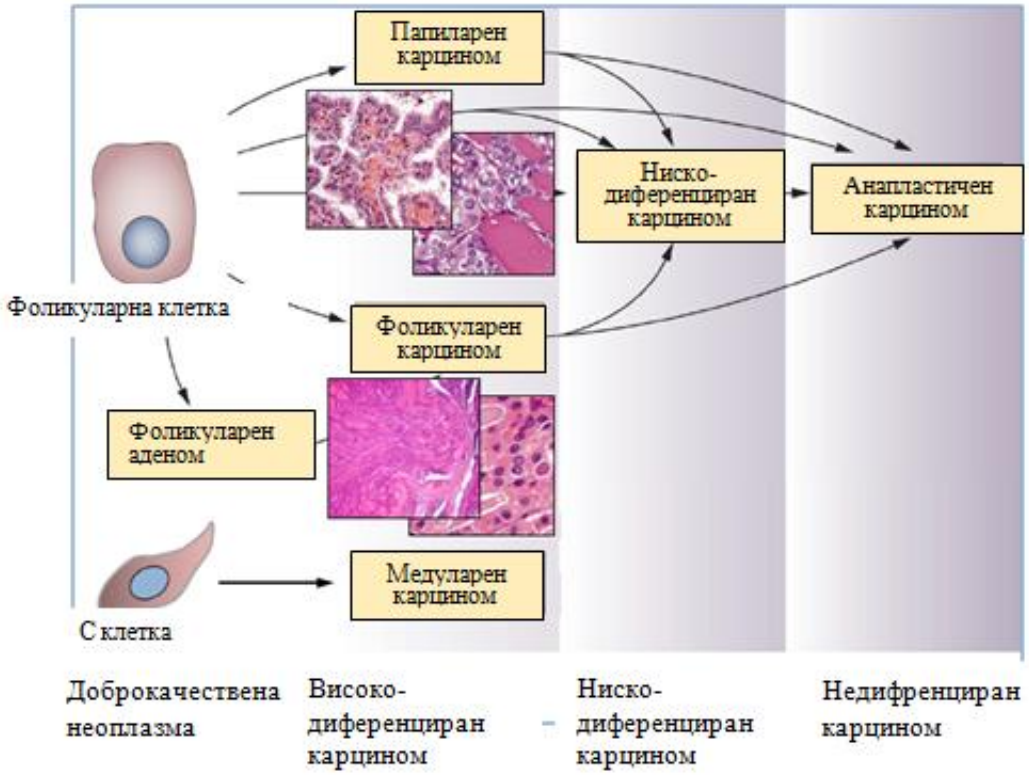
III. Л И Т Е Р А Т У Р Е Н О Б З О Р

1. Увод

Карциномът на щитовидната жлеза е най-честият злокачествен ендокринен тумор, с нарастваща честота в световен мащаб през последните години и около 1-2% от всички злокачествени тумори с различна локализация (102, 137, 143, 233, 242, 372, 473). Развива се по-често в млада възраст, особено при жените. При пациенти под 40 години от женски пол тиреоидният карцином по честота заема четвърто място и седмо място при тези от мъжки пол (143).

През последните 20 години напредъкът в изучаването на биологичните и молекулярните особености на тиреоидния карцином доведе до значимо подобрение на диагноза му, включително хистологичната му класификация и субкласификация. Трансформацията на тиреоидните фоликуларни клетки, които са с ендодермален произход, или С-клетките, произлизащи от невралния гребен, води до появата на различни видове карцином (фиг. 1). От фоликуларните клетки произлизат двата основни вида диференциран тиреоиден карцином (ДТК) – папиларен тиреоиден карцином (ПТК) и фоликуларен тиреоиден карцином (ФТК) (75, 254). Нискодиференцираният тиреоиден карцином (НДТК) и анапластичният тиреоиден карцином (АТК) са сравнително редки агресивни тумори, които също произлизат от фоликуларните клетки (353, 354). Приема се, че НДТК и АТК призлизат de novo или по пътя на дедиференциация на предшестващ ДТК чрез многостъпален процес на генетични и епигенетични промени, водещи до клонална експанзия и неопластична прогресия. Медуларният тиреоиден карцином е невроендокринен тумор, произлизащ от С клетките и се отличава с характерни биологични белези (317). Лечението на тиреоидния карцином включва хирургия (тотална/субтотална тиреоидектомия или лобектомия, съпроводена с екстирпация на метастатичните лимфни възли), радиойод аблация и супресивна тиреотропна терапия, и при повечето пациенти е успешно, водещо до излекуване. Чувствителността на тиреоидните тумори на радиойод терапията е различна, като някои от тях са резистентни или слабо чувствителни (250, 313). Въпреки отличната прогноза на пациентите с ДТК и ниската тумор специфична смъртност (преживяемост над 95% на 20-та година), честотата на случаите с рецидив или персистиране на тумора е сравнително висока (184, 401, 449). През последните години се натрупаха нови данни за прогностичното значението на редица

клинико-патологични показатели като възраст, пол, размер на тумора, метастази в лимфните възли, съдова или екстратиреоидна инвазия. Установена бе важната роля на патолога при диагностицирането на някои от вариантите на ПТК, предсказващи по-агресивно поведение на тумора. От друга страна, НДТК, АТК, както и ДТК с неоперабилен рецидив и/или рефрактерни на радиойод терапия, са все още потенциално летални заболявания. Напредъкът в изучаването на молекулярната патогенеза на тиреоидния карцином, в съчетание с развитието на нови молекулярни таргетни терапии, доведе до откриването на надеждни терапевтични стратегии при част от тези пациенти.



Фиг. 1. Видове тиреоиден карцином, проилизащи от фоликуларните и С-клетки на щитовидната жлеза.

Тънкоиглената биопсия (ТБ) под ехографски контрол с последващото цитологично изследване се доказа като най-ефективният и минимално- инвазивен метод за откриване на злокачествените тиреоидните нодули. През последните години употребата на този метод нарастна значително в резултат на високата честота на откриваните палпаторно

и/или ехографски тиреоидни нодули сред общото население. Усилията на общопрактикуващите лекари, ендокринолозите, хирурзите и патолозите са насочени в извършването на подбор на пациентите за хирургично лечение. Рутинното извършването на ТБ под ехографски контрол, както и нарастналия опит на цитопатолозите в областта на тиреоидната цитология доведе до увеличаване на диагностичната точност на метода и редукция на броя на диагностичните тиреоидектомии. Базирайки се на интерпретацията на цитологичния материал близо 70% от тиреоидните нодули се класифицират като доброкачествени, а 5-10% - като злокачествени. Но около 25% от тиреоидните нодули се класифицират като недетерминирани (т.н „сива зона на фоликуларните пролиферации"), при които не е възможно да се определи дали нодулът е доброкачествен, или злокачествен. Във връзка с широката употреба на ТБ на тиреоидните нодули възникна необходимостта от унифицирана, стандартизирана и международно призната система за докладване на цитологичните отговори, която да да подпомогне клиницистите при взимането на решение за последващо поведение. Създаването на Бетезда системата за отговор на тиреоидната цитопатология (2007 г), в която всяка диагностична категория е свързана с релативен риск за малигненост и съответен алгоритъм за клинично поведение е значим напредък в областта на тиреоидната цитология. Тя постла пътя към употребата на стандартизирана терминология при интерпретацията на тиреоидните аспирати в редица страни по света. През последните години с цел намаляване на броя на диагностичните хирургии при случаите с недетерминирана цитология редица автори подкрепят допълнителното изследване с различни имунохистохимични маркери и/или молекулярни тестове.

В този обзор ще разгледаме натрупаните данни за особеностите, протичането и прогнозата на злокачествените тиреоидни тумори, както и съвременните критерии прилагани при хистологичната и цитологична им диагностика.

2. Епидемиология и рискови фактори за развитието на тиреоиден карцином

2.1 Епидемиология на тиреоидния карцином

Карциномът на щитовидната жлеза е най-честият злокачествен тумор на ендокринната система, с бързо нарастваща честота по целия свят (233, 242). В редица скорошни проучвания в различни страни на Европа, САЩ, Канада и Филипините се докладва

нарастваща поява на ТК (102, 116, 143, 246, 263, 372). Тази нарастваща честота отчасти е в резултат на ранното откриване на малките по размер, безсимптомни карциноми (папиларни микрокарциноми) във връзка с провеждания скрининг (242)). Честотата на тиреоидния карцином е около три до четири пъти по-висока сред жените в сравнение с мъжете. Може да се развие във всяка възраст, но най-често се диагностицира при лицата между 30 и 60-годишна възраст и рядко в детството. Повечето от пациентите с ДТК са жени (70-80%), на средна възраст 40-50 г при поставяне на диагнозата. През последните три десетилетия в САЩ честотата на ТК е нарастнала 2-4 пъти (от 3.6/100,000 през 1973 до 8.7/100,000 през 2002 г (116, 142). Нарастването е основно за сметка на повишената поява на ПТК, който се е увеличил трикратно за периода на проучване (от 2.7 на 7.7/100 000). Значимо нарастване (с 49%) се установява в броя на малките тумори (≤1 cm) при липса на динамика в появата на МТК, ФТК и АТК. Във Франция за периода 1983-2000 г честотата на ТК е нарастнала годишно с 8% при мъжете и 9% при жените. Докладва се, че честотата на ПТК при жените се е увеличила трикратно за периода 1995-2000 г спрямо тази за периода 1983-1988 (7.5 срещу 2.65 /100,000, съответно) (102). Честотата на ФТК не показва промяна при жените, но намалява при мъжете. Нарастването на честотата на ПТК е за сметка на микрокарциномите, а появата на по-големите тумори (> 40mm) остава без промяна. Във Финландия за периода между 1970 и 2011 г възраст коригираната честота на ТК е нарастнала от 3.5 на 8.3/100,000 при жените и от 0.9 на 3.4/100,000 при мъжете (143). В България за периода 1990-2011 честотта на ТК при жените е нараснала от 1.6/100 000 на 4.9/100 000, а при мъжете – от 0.8/100 000 на 1.1/100 000 (14). Данните показват, че през 2011 г. ТК заема първо място по честота сред всички злокачествените заболявания при жените на възраст между 15-29 г, IV-то място - при тези на възраст 30-44 г и VII-мо място – при тези на възраст 45-59 г.

2.2 Рискови фактори за развитието на тиреоиден карцином

Развитието на тиреодния карцином вероятно включва взаимодействие на генетичната предиспозиция, ендогенни хормонални фактори и фактори на околната среда.

- Йонизираща радиация

Йонизиращата радиация е добре известен рисков фактор за тиреоиден карцином. Лъчелечението в шийната област, особено в детството, значимо повишава риска за ТК (378). При деца под 15 години рискът корелира обратно с възрастта и линеарно с дозата на

облъчване. След аварията в Чернобилск през 1986 г, появата на ТК в детска и юношеска възраст нарасна в районите с най-силно замърсяване с радийод в Беларус, Украйна и Русия. Повечето от радиацинно-индуцирани ТК са солиден или солидно-фоликуларен вариант на ПТК, с висока честота на хромозомни пренареждания (*RET/PTC, AKAP8-BRAF* и *TRK)* (334).

- Йоден запас

Известно е, че появата на ДТК като цяло не е свързана с приема на йод, но запасите с йод оказват ефект върху хистологичните видове на ТК. В йод-дефицитните райони честотата на ФТК е относително по-висока и обратно -в йод-наситени райони по-висока е честотата на ПТК (161).

- Хормонални фактори

Заболяванията на щитовидната жлеза, включително тиреоидния карцином (ТК), са много по-чести при жените в сравнение с мъжете. В случаите с ТК честотата на ДТК (ПТК и ФТК) е трикрато по-голяма при жените в сравнение с мъжете, тази на АТК –двукратно, а при МТК липсва статистически значима полова разлика (195). В литературата са налице редица епидемиологични, клинични и експериментални проучвания на ролята на половите хормони, техните рецептори и други молекулярни фактори за половите различия, установени при ТК (494). На този етап клиничните данни за ефекта на естрогена и другите полови хормони за появата на ТК са неубедителни, но в редица експериментални данни проучвания са показва, че полвите хормони и техните рецептори участват в туморогенезата и прогресията на ТК . Пикът на поява на ТК при младите жени, в репродуктивна възраст, показва връзка с наличието на хормонални отклонения като нарушения в менструалния цикъл, аборти, прием на орални контрацептиви или хормон-заместваща терапия (190, 200, 265, 273, 393). Експресия на естрогенови и прогестеронови рецептори се открива както в нормалната тиреоидна тъкан, така и при доброкачествените, и злокачествени тиреоидни тумори. Някои автори докладват за липсваща умунореактивност за естроген и прогестеронови рецептори при случаи с ПТК (63, 134). Резултатите от проведени проучвания върху клетъчни култури от ТК предполагат, че нарушеният баланс между двете изоформи (α и β) на естрогеновите рецептори е вероятно отговорен за клетъчната пролиферация установена на фона на естрогенова терапия. При ФТК, ниското ниво на естрогеновия рецептор β е свързано с по-лоша прогноза (210).

Затлъстяването също се асоциира с повишен риск за тиреоиден карцином, вероятно чрез различни хормонални фактори (190, 255, 355).

Тиреоидият стимулиращ хормон (TSH) е най-важният регулатор на растежа и функцията на щитовидната жлеза. Повечето ДТК са със съхранена чувствителност към TSH регулацията. При пациенти с ПТК, нивата на TSH са по-високи в сравнение с тези при пациентите с доброкачествение тиреоидни заболявания (60). Серумните нива на TSH, както и тиреоглобулиновите антитела, корелират с риска за ПТК (165). При пациентите с автоимунен тиреоидит се открива по-често ПТК, когато нивата на TSH са повишени или са на горна граница на нормата и обратно – появата на ПТК не е значимо повишена, ако серумните нива на TSH са супресирани до долната половина на границата на нормата при терапия с L-тироксин. По време на бременност човешкият хорионен гонадотропин наподобява ефектите на TSH и рискът за ТК нараства с броя на бременностите (483).

- Географски и етнически фактори

Географската локализация и етническите групи също имат влияние върху развитието на ТК (113, 206). В САЩ се докладва по-висока честота на ТК в някои от етническите групи, особено при филипините (206). По-висока честота на ТК се установява във вулканичните райони.

- Анамнеза за доброкачествен тиреоиден нодул/аденом или полинодозна струма

Рискът за ТК е по-висок в първите 10 години от диагнозата на доброкачествен тиреоиден нодул/аденом или полинодозна струма. Рискът за появата на ПТК или ФТК е сходен при анамнеза за гуша, а рискът за ФТК е по-висок при анамнеза на фоликуларен аденом. При пациенти с АТК често са налице данни за наличие на полинодозна струма от дълги години.

- Фамилен тиреоиден карцином

Около 5% от карциномите, произлизащи от фоликуларните клетки показват фамилна поява (249). Родините от първа линия на пациентите с ТК имат от 3 до 11 пъти по-висок риск за ТК (211). При някои генетични заболявания появата на ТК е повишена. Те включват синдрома на Cowden (*PTEN* мутация), фамилната аденоматозна полипоза (*APC* мутация), синдрома на McCune-Albright (*GNAS1* мутация), синдром на Carney (*PRKAR1a* мутация) и синдрома на Werner (*WRN* мутация) (340). При МТК, 20-25% от всички карциноми са в резултат на наследствени синдроми, засягащи *RET* гена. Множествената

ендокринна неоплазия (МЕН) тип IIA се асоциира с двустранен МТК, феохромоцитом и хиперпаратиреоидизъм, докато МЕН тип IIB – с МТК, феохромоцитом, мукозни ганглионеврома и марфаноиден хабитус. Фамилен МТК без съпътстващи ендокринопатии също е докладван (256, 340).

3. Хистологична диагноза на различните видове и подвидове тиреоиден карцином, клинико-патологични фактори с прогностично значение

3.1 Хистологична класификация на тиреоидните тумори

Съвременната хистологична класификация на тиреоидните тумори (СЗО, 2004 г) включва голямо разнообразие от хистологични видове (табл. 1), (124). Те се разделят на първични и вторични (метастатични); епителни и мезенхимни; доброкачествени и злокачествени; и други. Повечето от първичните тиреоидни тумори произлизат от тиреоидните фоликуларните клетки. Тази група тумори включва най-честите видове тиреоидни неоплазми, а именно доброкачествените фоликуларни аденоми и злокачествените високодиференцирани карциноми - папиларен и фоликуларен тиреоидни карциноми. Нискодиференцираният и анапластичният карцином също произлизат от фоликуларните клетки, но повечето от тях се развиват в резултат на дедиференциация на диференцираните тиреоидни карциноми. Възможно е част от фоликуларните тиреоидни карциноми да се развиват по пътя на малигнената трансформация на предшестващ фоликуларен аденом. Нискодиференцираният тиреоиден карцином е отделен за пръв път като отделен вид, макар че диагностичните му критерии не са напълно утвърдени. В настоящата класификация онкоцитните (Хюртелови) тумори се определят като варианти на туморите, произлизащи от фоликуларния енител, въпреки че се отличават както по своите микроскопски белези, така и по някои клинични характеристики и молекулярни промени. Според съвременните схващания, онкоцитните клетъчни белези се приемат за фенотип, който се наслагва върху генотипа и хистопатологичните белези на съответния вид тиреоиден тумор (305, 306). Отнасянето на хиализинизиращия трабекуларен тумор към групата на фоликуларните аденоми е също спорно. Въпреки доброкачествено му поведение, той показва сходство по отношение на някои хистологични белези и молекулярни маркери с ПТК.

Табл. 1. Хистологична класификация на тиреоидните тумори (СЗО, 2004) (124)

I. Първични	
1. Епителни	**2. Не-епителни**
А. Тумори, произлизащи от фоликуларните клетки	- Първичен лимфом и плазмоцитом
1) Доброкачествени	- Ангиосарком
- Фоликуларен аденом	- Тератом
2) С Неясен малигнен потенциал	- Гладко-мускулни тумори
- Хиалинизиращ трабекуларен тумор	- Тумори на обвивката на периферните нерви
3) Злокачествени	- Параганглиом
- Папиларен карцином	- Солитарен фиброзиращ тумор
- Фоликуларен карцином	- Фоликуларен дендритно-клетъчен тумор
- Ниско диференциран карцином	- Лангерханс-клетъчна хистиоцитоза
- Недиференциран (Анапластичен) карцином	- Rosai-Dorfman болест
Б. Тумори произлизащи от С клетките	- Гранулиран-клетъчен тумор
- Медуларен карцином	
В. Смесени тумори, произлизащи от фоликуларните и С клетките	
- Смесен медуларен и фоликуларен карцином	
- Смесен медуларен и папиларен карцином	
Г. Епителни тумори с различен или неясен клетъчен произход	
- Мукоепидермоиден карцином	
- Склерозиращ мукоепидермоиден карцином с еозинофилия	
- Плоскоклетъчен карцином	
- Муцинозен карцином	
- Вретеновидно-клетъчен тумор с тимус-подобна диференциация (Spindle cell tumor with thymus-like differentiation, SETTLE)	
- Карцином с тимус-подобна диференциация (Carcinoma showing thymus-like differentiation, CASTLE)	
- Ектопичен тимом	
II. Вторични	

-

През последните две десетилетия бе наблюдаван значим напредък в разкриването на патологичните особености и биологията на основните видове и подвидове тиреоиден карцином, които ще разгледаме поотделно.

3.2 Папиларен тиреоиден карцином (ПТК)

ПТК е най-честият диференциран аденокарцином (над 90%) на щитовидната жлеза, произлизащ от фоликуларния епител и характеризиращ се с отличителни белези на ядрата (124). Ядрената характеристика на ПТК включва светли, тип матово стъкло ядра, наричани още „очи на Orphan-Annie" (50, 203, 286). Ядрата са по-големи от тези на нормалните фоликуларни клетки, припокриващи се, съдържат еозиновилни вдреядрени включвания и имат лонгитудинални вгъвания (grooves). Класическият ПТК, наричан още типичен или обичаен ПТК, се отличава хистологично с наличие на папиларни по структура пролиферации. Въпреки, че ядрените белези са важни за диагнозата на ПТК, те не са специфични. При хроничният лимфоцитарен тиреоидит, както и при някои фоликуларни аденоми също могат да се наблюдават вътреядрени включвания или вгъвания на ядрената мембрана (124). Повечето от случаите с ПТК имат отлична прогноза, като в близо половината от тях може да са налице мултифокални лезии и метастази в регионалните лимфни възли. Според редица автори тези характристики нямат връзка с късната преживяемост на пациентите (76, 208, 396). При около 10% от пациентите се наблюдава появата на рецидив или метастази в белите дробове.

Описани са повече от десет хистопатологични (микроскопски) варианти на ПТК, някои от които се асоциират с прогностично по-благоприятен или по- агресивен фенотип в сравнение с класическия ПТК (табл. 2). Следователно разграничаването им от класическия ПТК от патолога е от съществено значение. Най-общо хистотипизирането на ПТК се базира на: размера на тумора (папиларен микрокарцином); архитектурния строеж (фоликуларен, макрофоликуларен, солиден, крибриформен с морули, микропапиларен); клетъчните характеристики (tall cell, цилиндрично-клетъчен, светло-клетъчен, онкоцитен, „hobnail"); особеностите на стромата (дифузен склерозиращ вариант, ПТК с фасциит-подобна строма) или наличие на допълнителни компоненти (ПТК с огнишен инсуларен компонент, ПТК с плоскоклетъчен карцином, ПТК с мукоепидермоиден карцином) или смесени тумори (124, 330, 331). Най-чести са папиларния микрокарцином, фоликуларния вариант и tall cell варианта. Според класификацията на СЗО на тиреоидните тумори (124)

в субкатегорията на биологично агресивни варианти се включват tall cell варианта, дифузния склерозиращ вариант и цилиндрично-клетъчния вариант. В съвременната литература са налице редица публикации, в които се анализират натрупаните данни за морфологията и молекулярните промени при отделните варианти на ПТК и тяхната връзка с биологичното им поведение (249, 286, 288, 388).

Таблица 2. Микроскопски варианти на папиларния тиреоиден карцином

• Класически вариант
• Папиларен микрокарцином
• Фоликуларен вариант
• Tall cell вариант
• Дифузен склерозиращ вариант
• Солиден вариант
• Цилиндрично-клетъчен
• Онкоцитен вариант
• Warthin-like вариант
• Светло-клетъчен вариант
• Крибрифирмен с морули (Cribriform morular)
• Hobnail вариант
• ПТК с фасциит-подобна строма

- Папиларен микрокарцином (ПМК)

В групата на папиларните микрокарциноми се включват всички ПТК с размер под 1 cm, независимо от техните морфологични особености (124). Термините „окултен" и „латентен" ПТК се използват като синоним на тези тумори. ПМК са открива често случайно в аутопсионни серии (6-36%), както и при операции на ЩЖ по повод на други тиреоидни заболявания (5-24%) (274). През последните години честотата на хистологично диагностицираните ПМК нарастна в резултат на подобрената ехографска и цитологична диагностика. В редица страни по света ПМК е най-честият хистологично диагностициран вариант на ПТК (124, 330, 331, 357, 385). Папиларните микрокарциноми нямат отличителни морфологични белези т.к всички познати видове архитектурен строеж или

клетъчни характеристики, които могат да се наблюдават при по-големите тумори се установяват и при тях. Повечето ПМК са индолентни тумори, с нисък малигнен потенциал. Извършен мета анализ показва, че в 28% от случаите може да има метастази в лимфните възли, но карцином-свързаната смъртност е 0.3% (385). Като рискови фактори се посочват мъжкия пол, размер на тумора над > 5 mm, наличие на билатерални/мултифокални тумори, капсулна и/или екстратиреоидна инвазия, BRAF мутация и стромната фиброза. Във връзка с високата му честота и доброкачествено клинично поведение наскоро бе предложен терминът „ папиларен микротумор" вместо ПМК. Тази терминология обаче изключва туморите при пациенти под 19-годишна възраст и тези с метастази, които могат да са биологично различни (380).

- Фоликуларен вариант на ПТК (ФВПТК)

Фоликуларният вариант на ПТК е сравнително чест, с честота около 30% от всички ПТК (114, 440). Различават се два основни вида –капсулиран/неинвазивен и инвазивен ФВПТК. Описани са и два други вида ФВПТК, които са много редки – дифузен/мултинодуларен фоликуларен вариант и макрофоликуларен вариант. При капсулирания ФВПТК е налице дебела фиброзна капсула и фоликуларен строеж на тумора, докато при инвазивния ФВПТК се наблюдава инфилтративен растеж. Диагнозата на ФВПТК в някои случаи е трудна и нерядко оспорвана (470, 489). Капсулираният ФВПТК може да се сбърка с фоликуларен аденом или фоликуларен карцином, когато са налице само някои от характерните за ПТК ядрени белези. Редица автори отбелязват, че при повечето случаи на ФВПТК папиларните ядрените белези са по-трудно доловими в сравнение с класическия ПТК, което е причина и за докладваната несъгласуваност в диагнозата (52, 261, 278, 281, 431). Липсата на капсулна и/или съдова инвазия и фокалното, а не дифузно наличие на папиларни ядрени белези са част от причините за възможните трудности при диагноза му. Приложението на имунохистохимични и/или молекулярни маркери в тези случаи е от полза.

Инвазивният ФВПТК е с по-висок метастатичен потенциал и риск за рецидив от неинвазивните тумори, но сходен с този на класическия ПТК (247, 282, 441). Литературните данни показват, че в тази подгрупа тумори честотата на екстраритеоидна инвазия, метастази в лимфните възли, както и на BRAF мутации е по-висока (375). В контраст, капсулираният/неинвазивен ФВПТК е с биологично поведение различно от това

на инвазивния ФВПТК, показвайки отлична късна прогноза на фона на консервативното му лечение (49, 114, 173, 375, 462). Този вариант на ПТК е изключително индолентен тумор, с много нисък риск за прогресия и често наличие на RAS мутации. Именно затова, през 2015 г бе предложен той да се преименува „неинвазивна фоликуларна неоплазма с папиларно-подобни ядрени белези", който да се диагностицира на базата на алгоритъм, включващ строги морфологични критерии (331).

Макрофоликуларният вариант на ПТК е рядък и се диагностицира при наличие на нодул с макрофоликуларен строеж и клетъчен състав с белези на ПТК. В някои случаи диференциална диагноза с нодозна струма или макрофоликуларен аденом е трудна (31). Наличие на макрофоликули се отбелязва и в метастатичните лимфни възли. Резултатите от мета анализ на 51 случая с макрофоликуларен ПТК показват поява на лимфни възли и далечни метастази в 20% и 6%, съответно.

Дифузният (мултинодуларен) фоликуларен вариант на ПТК е също рядък тумор, отличаващ се с мултифокално ангажиране на единия или двата лоба от нодули (капсулирани или инфилтративни) с фоликуларен строеж. Това е агресивен вариант, при който по-често е налице съдова инвазия и екстратиреоидна инвазия, както и метастази в лимфните възли или далечни. (124, 228, 330).

- Tall cell вариант

Tall cell вариантът е подвид на ПТК, характеризиращ се с високи клетки (височина на клетките надвишаваща поне 2 пъти ширината им), с висок риск за рецидив и тумор-асоциирана смъртност (275). Докладваната честота на този вариант варира от 3.2 до 19% от всички ПТК, вероятно поради някои различия в критерия за диагнозата му (279, 312, 330). В скорошно проучване бе докладвано, че честотата на tall cell вариант на ПТК е по-висока при съпътстваща Базедова болест (18% срещу 6.1% при контролите) (72). Среща се предимно при по-възрастни и рядко при деца и по-млади пациенти. Туморите с фокално наличие на на tall cell компонент (<50%) не трябва да се включват в групата на tall cell варианта, но е препоръчително в резултата да се отбележи наличието му, във връзка с възможен негативен ефект върху прогнозата.

Tall cell вариантът е клинично по-агресивен тумор от класическия ПТК, с по-висока честота на рецидиви и специфична смъртност (25% /10 г.) Пациентите с този вариант се отличават с наличие на редица негативни клинико-патологични прогностични фактори –

по-възрастни, по-голям размер на тумора, наличие на некрози и митотична активност, екстратиреоидна инвазия (124, 183, 229, 236, 331). В някои проучвания се допуска се, че по-лошата прогноза може да е резултат на напредналия стадий на тумора и възрастта на пациентите. В други проучвания, обаче, се докладва, че рискът за рецидив при този вариант остава по-висок в сравнение с класическия ПТК дори при контролиране на възрастта и стадия на тумора.

- Дифузен склерозиращ вариант на ПТК (ДСВПТК)

Дифузният склерозиращ вариант на ПТК е рядък тумор, инфилтриращ цялата щитовидна жлеза, с честота 3% (0.7–6.6%) от случаите с ПТК (87, 124, 330, 358, 403, 481). Пациентите с този вариант са по-млади в сравнение с тези с класическия ПТК (260). В едно проучване се докладва, че ДСВПТК е най-честият вариант (49%) при пациенти под 20 г (91). Отличава се с наличие на следните белези: хроничен лимфоцитарен тиреоидит с изразена склероза; малки туморни огнища, разположени често в дилатирани лимфатици; множество псамомни телца и нерядко плоскоклетъчна метаплазия. Въпреки, че метастази в лимфните възли или далечни метастази се установяват по-често в сравнение с класическия вариант, прогнозата на пациентите с ДСВПТК е вероятно сходна с тази на случаите с класически ПТК (91, 415). Докладваната 5- и 10-годишната преживяемост е 95% и 93%, съответно и е близка до тази на класическия ПТК (358, 29).

- Солиден вариант на ПТК

Солидният вариант на ПТК е един от редките варианти, с докладвана честота около 3% от всички ПТК. Характеризира се със солиден растеж в над 50% от площта на тумора. Често се среща при деца, както и при пациенти с ПТК от района на ядрената авария в Чернобилск (327, 328). При този вариант по-често се наблюдава съдова инвазия (101). Докато някои автори докладват, че солидният вариант е с по-лоша прогноза и по-висока честота на далечни метастази (330), други обсъждат, че прогнозата му е сходна с тази на класическия ПТК (101, 329).

- Цилиндрично-клетъчен вариант на ПТК

Цилиндрично-клетъчният вариант е рядък тумор, съставен от псевдостратифицирани цилиндрични клетки, някои от които съдържат супраядрени вакуоли и наподобяващи ендометриалния или колоректалния карцином (151). Това е рядък тумор (около 0.2% от ПТК), който се среща също при по-възрастни пациенти (89, 316, 419, 475). Този вариант

показва по-агресивно поведение в сравнение с класическия ПТК. Някои автори посочват, че поведението му отчасти може да е резултат на негативните прогностични фактори, свързани с тумора, а не на самия вариант per se (89).

- Онкоцитен (оксифилен, Хъртелов) вариант на ПТК

Докладваната честотата на този вариант варира между 1-11 % от всички ПТК (58, 124, 330). Този тумор показва класическите ядрени белези на ПТК, наличие на онкоцитна цитоплазма, а макроскопски се отличава с махагоново-кафяв цвят, характерем за всички Хъртелово клетъчните неоплазми. Онкоцитният вариант на ПТК се разграничава от останалите видове онкоцитни тумори (фоликуларен аденом/карцином, медуларен или нискодиференциран карцином) на базата на наличието на характерните ядрени белези т.к туморът може да бъде с папиларен или фоликуларен строеж, капсулиран или инфилтративен. Хроничен лимфоцитарен тиреоидит в съседство на тумора се докладва в близо половината от случаите. Прогнозата на онкоцитния вариант на ПТК е сходна с тази на класическия ПТК, въпреки че някои проучвания предполагат по-агресивно поведение.

- Warthin-like вариант на ПТК

Този вариант се характеризира с наличието на папили, покрити с онкоцитни клетки и лимфоидни клетки във фибро-васкуларния ствол, подобно на Warthin тумора на слюнчениете жлези; среща се предимно при жени със съпътстващ автоимунен тиреоидит в останалия паренхим на жлезата (146, 351). Идентифицирането на този вариант на ПТК е без прогностично значение, въпреки че са докладвани единични случаи с участъци с дедиференциация или прогресия в анапластичен карцином.

- Светло-клетъчен вариант на ПТК

Този рядък вариант (< 1% от всички ПТК) е съставен от клетки със светла цитоплазма и типични ядрени белези на ПТК, а в някои случаи са налице и онкоцитни клетки (124, 330). Най-често е с папиларен строеж, но е възможно и наличието на фоликуларен или инсуларен компонент. В някои случаи са необходими имунохистохимични изследвания за разграничаването му от метастатичен бъбречен карцином, паратиреоиден тумор, светло-клетъчен медуларен карцином. Биологичното му поведение е сходно с това на класическия ПТК (394).

- Крибриформен –морула вариант на ПТК

Този вариант е много рядък, с честота около 0.5% от всички ПТК. Среща се по-често при млади жени и в съчетание с фамилна аденоматозна полипоза (FAP) или Gardner синдром. При случаите с наследствен синдром туморът е най-често мултифокален, със смесен строеж. Показва предимно крибриформен строеж с огнищни солидни зони, както и сквамозни морули. Морулите, които са характерни за този вариант, могат да включват клетки с хиперхромни, псевдостратифицирани ядра (124, 204).

- „Hobnail" вариант на ПТК

Този вариант е също рядък (честота <2% от ПТК) и се среща при по-възрастни пациенти, (средна възраст 65 г) (44). Отличителни белези на тумора са наличието на микропапили и туморни клетки с еозинофилна цитоплазма с апикално разположени ядра, които придават този "hobnail" (кабърчест) вид (44, 279, 294). Описан е наскоро при 8 случая като агресивен карцином, с висока карцином-свързана смъртност - 57% за период на проследяване от 8.5 г (44).

- ПТК с фасциит-подобна строма

Този вариант е също много рядък и се характеризира с наличие на нодуларен фасциит и изразена фиброматозна строма, които могат да прикриват зоните на ПТК (321, 436). Биологичното му поведение е сходно с това на конвенционалния ПТК (124, 330). Познаването на този вариант е от значение поради потенциалната възможност да се сбърка с анапластичен карцином, развил се на базата на дедиференциация на класически ПТК.

В обобщение, познаването на всички възможни морфологични манифестации на ПТК има значение не само за патолозите, но също така и за клиницистите. Някои от описаните варианти на ПТК са свързани с по-агресивно поведение (tall-cell вариант, дифузен склерозиращ вариант, "hobnail" вариант, цилиндрично-клетъчен вариант), което определя необходимостта от провеждането на комплексно лечение и строго мониториране на пациентите. Необходимо е да се отбележи, че нерядко ПТК показва белези, характерни за повече от един вариант. При тези случаи е по-важно да се отбележи в хистологичния отговор наличието на клинично значимите морфологични характеристики, отколкото упорито да се опитваме да класифицираме конкретния тумор в съответна категория.

3.3 Фоликуларен тиреоиден карцином (ФТК)

Според дефиницията на СЗО, ФТК е фоликуларно клетъчен-произхождащ малигнен тумор, който се характеризира с наличие на фоликули и липса на ядрените белези на ПТК (124). През последните години ФТК се диагностицира относително рядко (5-15% от всички ТК), което е в контраст на високата му честота, докладвана в първата половина на миналия век - до 39% (290, 439). При проучване на голяма серия ДТК в Гърция се докладва, че честотата на ФТК е намаляла от 28.1% за периода 1983–1992 на 6.5% за периода 1993–2007 (33). Това прогресивно намаление на дяла на диагностицираните ФТК е резултат от една страна на прилаганите стриктни критерии за капсулна и съдова инвазия, а от друга –на нараствашата честота на ПТК, както и на свръхдиагностицирането на ФВПТК в някои случаи (124, 287, 379). Въпреки, че се класифицира заедно с ПТК в групата на ДТК, ФТК показва специфични клинико-патологични особености, биологично поведение и клиничен изход (111, 292, 409). ФТК се приема за по-агресивен тумор от ПТК и с по-лоша прогноза. ФТК по-често се изявява в по-напреднал стадий на тумора и с наличие на далечни метастази в резултат на предразположението към съдова инвазия. В контраст, метастазите в лимфните възли са изключително редки, с докладвана честота около 10% (439). Въпреки това, прогнозата на пациентите с ФТК и ПТК е сходна при контролиране на възрастта и стадия на тумора (122). Преживяемостта при пациентите с ФТК варира от 46% до 97%, в зависимост от степента на капсулна или съдова инвазия (112, 122, 322, 341).

Хистологично се различават два варианта ФТК -капсулиран и обширно инвазивен (124, 287, 379). ФТК се класифицира като минимално инвазивен, ако е налице минимална капсулна инвазия самостоятелно, минимална съдова инвазия самостоятелно или комбинация от двата типа инвазия. Инвазивният ФТК (widely invasive) е с по-лоша прогноза, поради съдовата му инвазивност и по-високата честота на далечни метастази (218). Следователно хистологичното определяне на двата варианта има прогностично значение. Диагнозата на капсулирания ФТК е един от най-дискутираните въпроси в тиреоидната патология във връзка с различията в критериите за капсулна инвазия (52, 96, 122, 167, 418). Цитологичната и/или интраоперативна диференциална диагноза ФТК с фоликуларните аденоми е трудна и най-често се диагностицират постоперативно на трайните хистологични препарати. Като показател за малигненост, някои автори приемат

наличието на пенетрация от клетки в туморната капсула, а други – наличието на пълна инфилтрация от клетки през дебелината на капсулата в съседния паренхим. Други автори считат, че туморите с минимална капсулна пенетрация или инвазия е подходящо да се класифицират като добре диференцирани тумори с неясен малигнен потенциал във връзка с тяхното индолентно поведение и рядката поява на рецидив или метастази (477). Въпреки теоретично точната дефиниция на ФТК, на практика - диагнозата е често трудна и оспорвана, с установена интер- и интраобсървър вариабилност в редица проучвания (52, 418). Друг основен проблем при поставяне на диагнозата е наличието на ядрен атипизъм и ядрени белези, съмнителни за ПТК, което налага диференциална диагноза с ФВПТК. Минимално инвазивният карцином е с отлична прогноза, с докладвана честота на късните рецидиви и тумор-асоциирана смъртност 5% и 0%, съответно (244, 439). Тези данни дават основание за провеждане на по-консервативно лечение, без последваща радиойодтерапия (123, 356). От друга страна, наличието на съдова инвазия самостоятелно увеличава тумор-асоциираната смъртност до 28%/10 г (456). Именно затова беше предложено минимално инвазивният ФТК със съдова инвазия да се означава като ангиоинвазивен вариант (379). Инвазивният ФТК е по-рядък в сравнение с минимално инвазивният ФТК, но в около 80% се свързва с появата на далечни метастази, водещи до висока смъртност (~ 20%) (124). Лоши прогностични фактори са наличието на далечните метастази при диагностицирането, възраст над 45 г, голям размер на тумора, обширни съдова и/или екстратиреоидна инвазия (222).

- Онкоцитен вариант на ФТК

Онкоцитният вариант на ФТК, наричан още Хъртелово-клетъчен карцином се характеризира с наличие на онкоцити –големи оксифилни клетки с гранулирана еозинофилна цитоплазма и хиперхромни или везикуларни ядра в над 75% от тумора (426). Понастоящем туморът се приема за хистопатологичен вариант на ФТК, въпреки някои различия в биологичното му поведение (112, 172). Прогнозата на пациентите с онкоцитен вариант на ФТК е сходна с тази на конвенционалните варианти, отчитайки възрастта и стадия на тумора. Данните за по-честа ангиоинвазност при онкоцитния вариант на ФТК в сравнение с тези без онкоцитни белези налага необходимостта от активно търсене наличието на капсулна и съдова инвазия, което е важно значение за точната му диагноза

(124, 379). От клинична гледна точка, негативен аспект при онкоцитните карциноми е тяхната по-ниска чувствителност на радиоактивен йод (124, 155, 306).

3.4 Нискодиференциран тиреоиден карцином (НДТК)

Нискодиференцираните тиреоидни карциноми са хетерогенна група тумори, която заема междинно място по своите морфологични и биологични особености между ДТК (ПТК и ФТК) и АТК (82, 156, 416, 140, 465). Честотата им е около 6% от всички ТК, а средната преживяемост на пациентите с НДТК е 3.2 г (43, 174, 360). НДТК е по-чест при жените, а докладваната средната възраст на пациентите с НДТК е 56 г. (212, 466). НДТК бе описан за пръв път през 1983 г, но едва през 2004 г бе включен самостоятелно в хистологичната класификацията на тиреоидните тумори (82, 124, 468). Най-характерните хистологични белези на НДТК са солиден/трабекуларен/инсуларен строеж, голям размер на тумора, често с екстратиреоидна инвазия, наличие на некрози и повишена митотична активност. Въпреки, че НДТК е самостоятелен хистологичен вид, все още има някои неясноти и дискусии относно произхода му, морфологичните диагностични белези, клиничното значение и оптимално му терапевтично поведение. При някои случаи диференциалната диагноза на НДТК с отделни варианти на ПТК, инвазивния ФТК или АТК е изключително трудна. На базата на резултатите от имунохистохимичните, лектин-хистохимичните и електронно-микроскопските изследвания се предполага, че туморите с инсуларен строеж показват сходство с инвазивния ФТК, докато тези с трабекуларен или солиден строеж наподобяват някои от агресивните варианти на ПТК (420). През 2006 г. група патолози от САЩ, Европа и Япония предложиха схематичен подход (така наречения “Turin proposal”) за диагноза на НДТК, базиран на следните критерии: наличие на белези за малигненост в тумор произлизащ от фоликуларните тиреоидни клетки; наличие на солиден, трабекуларен или инсуларен строеж; липса на ядрените белези на ПТК; наличие на „ конволутни” ядра (малки, хиперхромни с неправилна форма) и/или митотична активност (>3 митози/10 HPF) и/или некрози; НДТК, съставен от Хюртелови клетки се приемат за онкоцитен вариант на НДТК, а не отделен хистологичен вид; едновременното наличие на белези на ДТК (ПТК или ФТК) не изключва диагнозата НДТК (465, 466).

НДТК са агресивни тумори, най-често резистентни на радиойод терапия. При лечението на повечето пациенти се налага необходимостта от системна терапия. Докладваната 5-годишна преживяемост варира от 60% до 85% (212, 466, 480).

3.5 Анапластичен тиреоиден карцином (АТК)

АТК е много агресивен недиференциран карцином, с почти 100% тумор-асоциирана смъртност, определяща 40% от общата смъртност свързана с тиреоиден карцином (42). Честотата му е около 1% от всички тиреоидни карциноми, а средната преживяемост - около 6 месеца. (140, 156, 244, 416, 453, 480). Пиковата възраст на пациентите с АТК е по-голяма в сравнение с тази на ДТК, като над 70% от случаите са жени (244). Предполага се, че АТК възниква също по пътя на дедиференциация на ДТК. Хистологично се диагностицират на базата на наличието на некрози, хеморагии и клетки с изразен клетъчен и ядрен полиморфизъм (вретеновидни, полигонални, гигантски клетки тип остеокласти). Диференциалната диагноза между НДТК и АТК в някои междинни случаи е изключително трудна и се базира на имунохистохимичните различия в експресията на TTF1 и тиреогобулина. Докато НДТК показва позитивна реакция за TTF1 в ядрата и фокална позитивна реакция за тиреоглобулин, при АТК и двата маркера са най-често негативни (140).

Тези агресивни тумори са рефрактерни на радиойодтерапия, химиотерапия и лъчетерапия. АТК инвазира околните структури, а далечни метастази се откриват в близо 1/3 от случаите с АТК. Въпреки, че клинично изявените АТК са най-често нерезицируеми, радикалната резекция на интратиреоидните АТК подобрява прогнозата (430).

3.6 *Медуларен тиреоиден карцином (МТК)*

Медуларният тиреоиден карцином се дефинира като злокачествен тумор на ЩЖ, показващ С-клетъчна диференциация (124). Честотата на МТК е около 3%–4% от всички ТК и е най-агресивният тумор сред диференцираните тиреоидни карциноми (220, 364, 424). До 25 % от случаите с МТК са наследствени в резултат на герминативно-клетъчни мутации на RET прото-онкогена и се предшестват от неопластична С-клетъчна хиперплазия (392). Спорадичният МТК се развива без прекурсорна лезия, но в 40–60 % от случаите се установяват соматични мутации на RET прото-онкогена (136). Средната възраст на поява при случаите със спорадичен МТК е 50-60 г, при случаите с МЕН 2А и фамилен МТК –около 30 г, а при случаите с МЕН 2В- около 20 г. Повечето от МТК синтезират и секретират хормона калцитонин и карциноембрионален антиген (CEA), като серумните нива на тези маркери показват връзка с С-клетъчната туморна маса. По такъв начин те са надеждни маркери за диагноза и проследяване на пациентите с МТК, както и

за мониториране отговора към локалната и/или системна терапия. В редки случаи МТК може да не показва имунохистохимична експресия на калцитонин (“атипичен МТК”) (391) и обратно - пациенти с хистологично доказан МТК да нямат повишени нива на серумния калцитонин (“не-секретиращ МТК”) (168). МТК се развива по-често в латералните горни 2/3 на тиреоидните лобове, където концентрацията на С-клетките е най-голяма (287). Спорадичният МТК е най-често солитарен тумор, докато повечето фамилни МТК са билатерални, мултицентрични фокуси (379).

Типичният МТК се характеризира със следните белези: инфилтриращ тумор със солиден или гнезден строеж, съставен от полигонални или вретеновидни клетки с с овални ядра с дребно-зърнест хроматин (тип „сол и пипер”); наличие на стромна дезмопластична реакция и амилоидни депозити се установява в 60-85%. Хистологично МТК показва голямо разнообразие (наричан великия имитатор) и може да наподобява редица тиреоидни и не-тиреоудни тумори (124, 287, 379, 432). Описани са различни хистологични варианти на МТК, които не показват връзка с биологичното поведение на тумора (табл. 3). Най-често те отразяват трудностите в диагнозата на МТК, както и от необходимостта на извършване на широка диференциална диагноза.

Таблица 3. Варианти на медуларния тиреоиден карцином

Варианти на МТК	Диференциална диагноза
Вретеновидно-клетъчен	Сарком, АТК
Фоликуларен/тубуларен	Фоликуларна неоплазма
Папиларен	ПТК
Дребноклетъчен	Дребноклетъчен карцином на белия дроб, лимфом
Гигантоклетъчен	АТК
Светлоклетъчен	Бъбречно-клетъчен карцином, Светло-клетъчна фоликуларна неоплазма
Меланоцитен (пигментен)	Меланом
Онкоцитен (оксифилен)	Фоликуларна неоплазма и ПТК, онкоцитен вариант
Сквамозен	Плоскоклетъчен карцином, ПТК със сквамозна диференциация
Амфикринен (калцитонин и муцин-продуциращи клетки)	Метастатичен аденокарцином
Параганлиом-подобен	Параганглиом, хиалинизиращ трабекуларен тумор
Смесен фоликуларен и медуларен	Фоликуларна неоплазма

МТК може да бъде както индолентен тумор, така и агресивен тумор, асоцииран с висока смъртност. Докладваната 10-годишната преживяемост на пациентите с МТК варира между 75% и 85%, а когато е налице само интратиреоиден тумор докладваната преживяемост достига 95.6% (187, 411). Наличието на метастази в шийните или медиастиналните ЛВ значително влошава прогнозата, като далечни метастази в хода на заболяването се развиват най-често в белите дробове, черния дроб, костите и надбъбречните жлези (145). Пациентите с метастази в регионалните ЛВ имат 5-годишна преживяемост 75.5%, а при тези с далечни метастази 10-годишната преживяемост е около 40% (411).

Терапията на МТК включва хирургично отстраняване на първичния тумор и метастазите (149, 184). При членовете на фамилиите с доказана мутация на RET прото-онкогена времето на профилактична тиреоидектомия зависи от локализацията на мутацията в различните кодони, имащи доказано прогностично значение (136). Оптималното време за извършване на профилактичната тиреоидектомия е преди развитието на инвазивен МТК от неопластичната С-клетъчна хиперплазия (103, 442). През последните години напредъкът в изучаването на молекулярната патогенеза на МТК допринесе за провеждането и на таргетна терапия при случаите с локално авансирал и/или метастатичен тумор (474). На този етап одобрени за употреба са двата тирозин киназни инхибитори vandetanib и cabozantinib, които действат освен на RET киназата и на други кинази като VEGF, KIT и FLT3-AXL (138, 156, 474).

3.7. *Прогностични маркери и класификации на тиреоидния карцином*

Прогнозата на диференцираните тиреоидни карциноми е добра, като късната преживяемост надвишава 90% (223). Въпреки, че смъртността при пациентите с ДТК е ниска, в около 30% е възможен рецидив на тумора (345). В повечето случаи рецидивите са през първите 10 години от диагнозата, най-често локални -в тиреоидното ложе или в шийните лимфни възли (59). Далечни метастази се докладват в около 20% от случаите (308). Следователно идентифицирането на пациентите с риск за рецидив и провеждането на адекватно лечение и мониториране е от съществено значение. Рисковата стратификация обикновено започва постоперативно с хистопатологичното pTNM стадиране, което се базира най-често на AJCC/UICC стадиращата система. Един от недостатъците на предложените стадиращи системи, включително тази на AJCC/UICC, е че те предсказват риска за смъртност, но не оценяват акуратно риска за рецидив на

тумора. През последните години бяха натрупани данни за прогностичната стойност на редица фактори (клинични, патохистологични, имунохистохимични, молекулярни), които не са включени в отделните стадиращи системи, но подпомагат класифицирането на пациентите с нисък, междинен или висок риск за рецидив.

- *Възраст и пол*

Основните клинични прогностични фактори са възрастта и пола на пациента. Младата възраст, под 40 г., се асоциира с добра прогноза независимо от разпространението на тумора (133). Полът оказва влияние на прогнозата при по-младите пациенти, като жените под <55 г са с по-благоприятна прогноза в сравнение с мъжете (237).

Мъжкият пол е рисков фактор за появата на отделни видове ДТК, по-големи тумори, по-лоша прогноза при фоликуларните и Хъртелово-клетъчните ТК, както и по-често развитие на метастази в ЛВ и рецидив на ПТК (216, 264, 301, 494, 373, 443). Резултатите от извършен множествен регресионен анализ показаха, че мъжкия пол и TNM стадия на тумора са независими рисков фактор за рецидив на тумора и смъртност (216). Някои автори предполагат, че половите различия в прогнозата на пациентите с ТК може да се дължат на разлики в поведението, а не на биологични фактори. При оценка на хистопатологичните разлики при 573 случая със спорадичен ТК (ПТК, ФТК и МТК) и наследствен ТК (МТК), Machens и сътр. (299) намират значими полови разлики в туморната характеристики при случаите със спорадичен ТК, но не и при тези с фамилен МТК. Авторите допускат, че по-късните посещениия на мъжете като цяло при лекари-специалисти в сравнение с жените вероятно са отговорни за наблюдаваните различия в туморната характеристика при пациентите от мъжки пол и женски пол със спорадичен ТК. В подкрепа на тази теза са и данните на други автори, показващи липса на връзка между пола и честотата на окултен ПТК, а също и с размера на тумора при анализ на 408 аутопсионни случая (489).

- *Хистологични маркери*

Редица хистологични фактори като размер на тумора, хистологичен вариант на тумора, мултифокалност, екстратиреоидна инвазия, нодален статус, повечето от които са включени в pTNM стадирането имат доказана прогностична стойност. Както беше отбелязано по-горе, някои от вариантите на ПТК като tall cell варианта, ДСПТК, цилиндрично-клетъчния вариант, hobnail варианта, както и инвазивния ФТК или НДТК се

отличават с по-агресивно поведение. Обратно, други варианти като ПМК, капсулираният ФВПТК или минимално инвазивния ФТК са с по-благоприятна прогноза в сравнение с класическия ПТК (226, 455). В допълнение, някои автори установяват, че хистотипизирането на ПТК има по-малка прогностична стойност в сравнение с определянето на хистологичната степен на диференциация, базирана на комбинираната оценка на ядрения атипизъм, туморната некроза и съдовата инвазия (30). Мултифокалните ПТК са чести, и в някои проучвания се асоциират с по-лоша прогноза (308). Размерът на метастатичните лифни възли, както и наличието на екстра-капсулно разпространение повлияват риска за рецидив/персистиране на тумора (368, 490). Наличието на съдова инвазия също има прогностично значение и показва връзка с по-агресивното поведение на тумора и по-високата честота на рецидиви (338, 157, 177). Ito и Miyauchi (226) оценяват ефекта на редица клиникопатологични фактори върху карцином-свързана смъртност и появата на рецидиви при голям брой пациенти с ПТК и ФТК от Япония. Авторите установяват, че при пациентите с ПТК най-голямо прогностично значение имат възрастта над 55 г, наличието на далечни метастази при диагнозата или големи лимфни възли (≥ 3 cm), както и наличието на екстранодална или обширна екстратироидна туморна инвазия. Умерена прогностичната стойност показват големия размер на тумора (над 4 cm), наличието на метастатични лимфни възли под 3 cm и мъжкия пол, а латентните метастатични лимфни възли и мултифокалността на тумора са със слаба прогностична стойност. Наличието на tall cell вариант или цилиндрично-клетъчни вариант, както и огнищни белези на НДТК също са значими прогностични фактори. В контраст, при ФТК степента на инвазивност (инвазивен ФТК), както и степента на диференциация (наличие на нискодиференциран компонент), и наличието на далечнни метастази имат най-голяма прогностична стойност.

- *Тиреоидит на Хашимото и ПТК*

В литературата често се докладва за наличие на лимфоидни инфилтрати/лимфоцитарен тиреоидит на Хашимото (ТХ) на фона на ДТК, основно ПТК. Въпреки това, влиянието на ТХ върху прогнозата на ТК е все още неизяснена. Докато някои автори докладват за по-лоша или сходна прогноза на пациентите с ТК на фона на ТХ, в редица проучвания се посочва позитивна прогностична стойност на лимфоцитната инфилтрация (41, 110, 185, 217, 251, 347). Kashima и сътр. (241) установяват по-висока преживяемост и по-малко

рецидиви/10 г при случаите с ПТК, асоцииран с ТХ в сравнение с останалите.Този благоприятен ефект на ТХ върху прогнозата допуска възможността за анти-туморен отговор на асоциирания тиреоидит, въпреки че вероятността за синхронна поява на две от най- честите тиреоидни заболявания не може да бъде изключена. Възможно е също по-добрата прогноза на случаите с ПТК и асоцииран ТХ да е резултат на връзката с други фактори с доказан благоприятен ефект върху прогнозата. В няколко проучвания се докладва, че при случаите с ПТК в съчетание с ТХ е налице по-висока честота на женския пол, по-малък среден размер на тумора, по-ниска честота на екстратиреоидна инвазия при липса на разлики по отношение на възрастта, мултифокалността и наличието на метастази в ЛВ (185, 217, 251).

- *TNM и стадиране*

Няколко алгоритъма за стадиране са въведени за оценка на прогнозата на пациентите с ТК. TNM класификацията на Union for International Cancer Control (UICC) (417) е най-често използваната и клинично значима класификация по целия свят, включително в България. Други често използвани класификации са на Joint Committee on Cancer staging system (AJCC) (133), стадиращата система на Майо Клиниката –MACIS (208) и AMES класификацията (Age Metastasis Extent Size) (76).

Възрастта е основен фактор при стадирането на ТК по TNM класификация на тиреодния карцином като пациентите под 45 г се класифицират в стадий I, ако липсват далечни метастази или в стадий II при наличие на далечни метастази (табл. 4). При пациенти над 45 г стадирането се базира на размера на тумора (T), нодалните метастази (N) и далечните метастази (M). При случаите без нодални и далечни метастази, туморът се определя като T1 или T2 в зависимост от размера - ≤20 mm или 21-40 mm, съответно. В стадий III се класират случаите с размер на тумора >40 mm (T3) и без данни за нодални метастази, както и тези с T1-T3 туморите и с данни за с нодални метастази в централния басейн. Стадий IVa се определя при случаите с T1-T3 тумор с метастази в латералния басейн или с екстратиреоидна инвазия (T4a), но без далечни метастази. При случаите с видима екстратиреоидна инвазия на тумора (T4b) без далечни метастази се дефинира стадий IVb, а при тези с далечни метастази –стадий IVc

Таблица 4. TNM класификация на тиреоддния карцином (UICC, 417)

Класификация на стадиите	TNM
Стадий I	T1 N0 M0 (ако пациентът е <45 г: независимо от T и N, но M0)
Стадий II	T2 N0 M0 (ако пациентът е <45 г: независимо от T и N, но M1)
Стадий III	T3 N0 M0 / T1-3 N1a M0
Стадий IV	
- IV A	T4a N0-N1a M0 / T1-3 N1b M0
- IV B	T4b, независимо от N, M0
- IV C	Независимо от T и N, M1

4. Приложение на имунохистохимията за поставяне на диагноза и определяне на прогнозата при пациентите с различните видове тиреоиден карцином

4.1 Имунохистохимични маркери с диагностично значение

Точната хистологична диагноза на злокачествените тиреоидни тумори има основно значение за последващото лечение и прогноза на пациентите. В съвременната тиреоидна патология редица имунохистохимични маркери, използвайки различни антитела, самостоятелно или комбинирано в панели, се използват за подобряване на диагностичната точност при ДТК (ПТК и ФТК), НДТК и АТК, както и МТК (36, 90, 166, 280). Докато повечето от ДТК, произлизащи от фоликуларния епител се диагностицират най-често без използване на имунохистохимия, то при голяма част от НДТК и АТК липсват сигурни хистологични белези за фоликуларна диференциация. Не рядко в тези случаи диференциалната диагноза включва метастатичен карцином (бъбречен, бял дроб, гърда) или вторична инвазия от не-тиреоиден карцином в шията (плоскоклетъчен карцином) или лимфом (90). Наличието на сходство в имунофентипа на ТК с другите не-тиреоидни карциноми определя необходимостта от използването на панел от имунохистохимични маркери, както и корелация с клиничните данни. Най-често използваните специфични имунохистохимични маркери за фоликуларен тиреоиден произход са тиреоглобулина, thyroid transcription factor-1 (TTF-1), Paired Box Gene 8 (PAX8), както и някои от цитокератините.

Тиреоглобулинът, който е прекурсор на тиреоидните хормони и се съхранява в колоида, е специфичен маркер за тиреоидните карциноми, произлизащи от фоликуларния епител. Литературните данни показват липсваща тиреоглобулинова експресия в редица други тъкани и тумори, вкл бял дроб, ГИТ, простата, паратиреоидни жлези и други (280). Експресия на тиреоглобулин в цитоплазмата, а също и в екстрацелуларния колоид се установява в 100% от ПТК, >75% от ФТК, в 50-90% от НДТК и в 0% при АТК. По такъв начин тиреоглобулинът е подходящ маркер при част от НДТК, но не и за АТК.

TTF-1 е нуклеарен транскрипционен фактор, отговорен за развитието на белия дроб, тиреоидеята, хипофизата (253). Нормално се експресира в ядрата на фоликуларните и С-клетки на тиреоидеята и в белия дроб. Експресия на TTF-1 се открива в над 90% от ДТК, както и в НДТК и МДТ, и в около 20% of АТК (346). Редица не-ТК като белодробния аденокарцином, на гърдата, на ГИТ и голяма част от невроендокринните тумори с различна локализация също експресират TTF-1.

PAX8 е наскоро характеризиран транскрипционен фактор, отговорен за развитието на щитовидната жлеза, бъбреците и Мюлеровия тракт. Ядрена експресия на PAX8 се открива в над 90% от ФТК и НДТК и в 100% от ПТК (270, 339, 433). Експресия на PAX8 се установява и в близо 2/3 от случаите с АТК. Сред не-тиреоидните карциноми, PAX8 експресия се докладва при бъбречния карцином, гинекологичните карциноми, тимуса, панкреаса, невроендокринните тумори с различна локализация.

Цитокератините (ЦК) са група от интермедиерни филаментни протеини, които се експресират от епителните клетки и не са специфични за щитовидната жлеза. Тиреоидните карциноми показват най-често ЦК7 позитивен и ЦК20 негативен имунофенотип, подобно на карцинома на белия дроб, гърдата, яйчника и др. Оценката на експресията на ЦК е с най-голямо значение за доказване на АТК, въпреки че някои саркоми също експресират ЦК (90).

Имунохистохимични изследвания са често необходими за потвърждаване на диагнозата на МТК поради голямото разнообразие от хистологични варианти, наподобяващи множество тиреоидни и не-тиреоидни карциноми, а също и поради рядкото му предоперативно диагностициране. Въпреки характерните си хистологични белези, фоликуларният вариант на МТК, онкоцитният вариант на МТК, както и папиларният вариант на МТК могат да наподобяват ФТК или ПТК. Скорошен мета-анализ показа, че само половината от

случаите с МТК са с налична предоперативна диагноза (444). Калцитонинът и моноклоналният карциноембрионален антиген (CEA) са специфични и чувствителни маркери за диференциране на МТК от тиреоидните карциноми, произлизащи от фоликуларния епител (447, 479). Невроендокринните маркери синаптофизин и хромогранин доказват невроендокринната диференциация на МТК (90). От двата маркера хромогранинът е по-специфичен т.к експресия на синаптофизин се докладва и при някои други не-невроендокринни фоликуларни тумори.

Освен за потвърждаване на клетъчния произход/ хистологичния вид на тиреоидния карцином, имунохистохимията намира приложение и при диференциалната диагноза на някои фоликуларни тумори (доброкачествени или злокачествени), при които рутинната хистология е неубедителна. В тези случаи диференцирането между доброкачествените тиреоидни лезии и ДТК може да е изключителна трудно. Известно е, че разграничаването на ФВПТК от някои фоликуларни тумори, нодулерната аденоматозна хиперплазия или други доброкачествени тиреоидни заболявания е трудно при случаите с недобре развити/гранични ядрени характеристики, а интер-обсървър съгласуваността е слаба, дори между експерти (141). В редица проучвания бе оценено потенциалното диагностично значение на различни имунохистохимични маркери, показващи повишена или намалена експресия при ДТК. Между тях, най-добре проучени са HBME-1 (Hector Battifora mesothelial-1), цитокератин 19 (ЦК19) и галектин-3 (99, 115, 120, 302, 324, 463). HBME-1 показва мембранна и цитоплазмена експресия, а ЦК19 и галектин-3 - цитоплазмена имунореактивност. HBME-1, който е специфичен маркер за мезотелиалните клетки, е също и чувствителен имунохистохимичен маркер за ПТК. Докладвано е, че специфичността и чувствителността му намаляват при онкоцитните тумори (302, 463). От друга страна, ЦК19 показва силна и дифузна експресия при ПТК, вариращa при ФТК и аденомите и слаба/ или липсваща в нормалната тиреоидна тъкан и доброкачествените тиреоидни лезии. Галектин-3, член на лектиновата фамилия от протеини, е също често експресиран при ТК, особено ПТК и вероятно е по-специфичен маркер за онкоцитния вариант в сравнение с HBME-1 (324). Скорошен мета анализ показа, че чувствителността и специфичността на HMBE-1 е 0.77 и 0.83, съотетвтно, а тези на галектин и ЦК 19- 0.81 и 0.73 и 0.82 и 0.81, съответно (119). Най-голяма е диагностична точност при комбинирането на трите маркера (чувствителност 0.85 и специфичност 0.97). Направено

бе заключение, че нито един от тези маркери или тяхна комбинация не са 100% акуратни за диагнозата на ДТК, поради наличието на фалшиво позитивни и фалшиво негативни резултати.

4.2 Имунохистохимични маркери с прогностично значение

Различни прогностични маркери (адхезионни молекули, регулатори на клетъчния цикъл, онкогени) се прилагат за идентифициране на тиреоидните карциноми с агресивно поведение.

Експресия на E-cadherin, който е калций-зависима трансмембранна адхезионна молекула, се открива при редица карциноми, най-често в напреднал стадий или с прогресия.

В нормалната тиреоидна тъкан и доброкачествените тиреоидни заболявания бе показано висока експресия на Ecadherin. При ДТК експресията на E-cadherin е намалена, а при НДТК и АТК -най-често липсваща (85, 376, 469). Липсата на E-cadherin експресия при ДТК е негативен прогностичен показател (85, 469)

p53 е тумор супресорен генен продукт, който има важна роля в нормалния клетъчен растеж. Експресия на p53 се открива най-често при АТК и НДТК и рядко при ДТК и МТК (126, 127, 152, 268, 359).

Ki-67, който е маркер за пролиферативната активност на клетките, има доказано прогностично значение при различните злокачествени тумори при човека. В проучване на пролоферативната активност на ПТК върху цитологичен материал беше докладвано, че стойностите на пролиферативния индекс > 1% и >3% са независими прогностични фактори за рецидив на тумора и карцином-свързана преживяемост (422). Други автори докладват за връзка между Ki-67 индекса при ПТК и наличието на екстратиреоидната инвазия и далечни метастази (225).

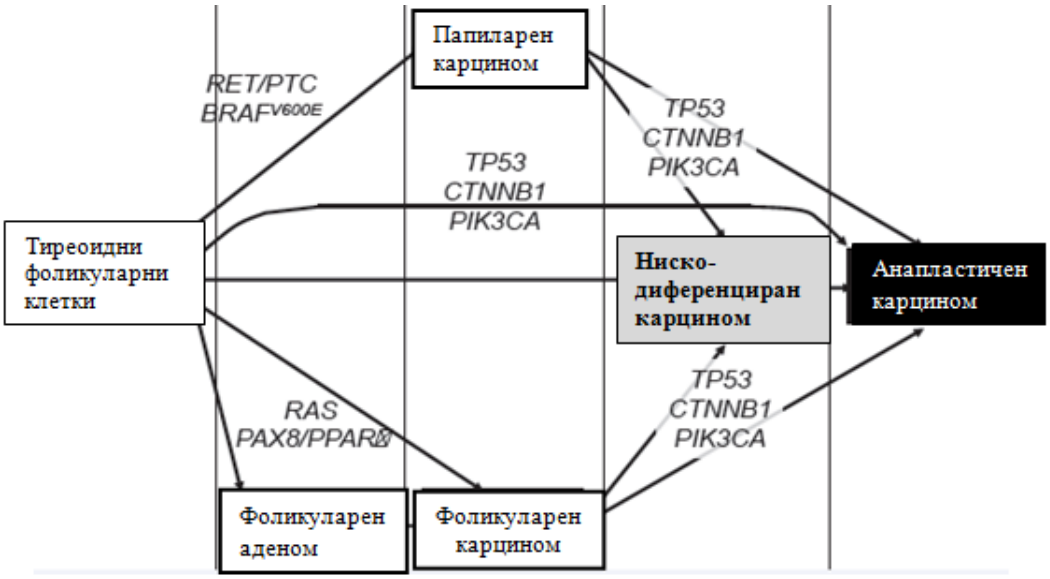
През последните години в редица имунохистохимични проучвания се оценява наличието на BRAF V600E мутация (VE1клон и anti–B-Raf моноклонално антитяло), която е силно специфична за ПТК и не се открива при доброкачествените тиреоидни заболявания (320). Нейното диагностично значение, обаче, е ограничено поради факта че BRAF V600E мутацията е най-честа при класическия и tall cell варианта на ПТК, които рядко създават диагностични проблеми при рутинна светлинна микроскопия (461). Въпреки това, повечето автори установяват връзка между BRAF V600E мутацията и по-агресивното поведение на ПТК (471).

В заключение, повечето от тиреоидните карциноми се диагностицират акуратно чрез рутинна светлинна микроскопия. Имунохистохимията намира приложение при някои случаи, налагащи диференциална диагноза с метастатични карциноми. Те включват НДТК и АТК и рядко ДТК. Имунохистохимията е от голямо значение за потвърждаване на диагнозата на МТК, който често е недиагностициран предоперативно и в редица случаи показва сходство с другите тиреоидни и не-тиреоидни тумори. От практическа гледна точка, е необходимо внимателна интерпретация на имунореактивността и задължителна корелация с клиничните данни поради сходство в имунофенотипа на ТК с този на редица други карциноми, които могат да метастазират в щитовидната жлеза. Различни имунохистохимични маркери намират приложение в диагностиката на някои фоликуларни тумори с гранични белези за малигненост, въпреки че нито един от тях самостоятелно или комбинирано в панел не показва сигурна чувствителност и специфичност. Различните имунохистохимични прогностични маркери, включително BRAF V600E, също могат да се използват за идентифициране на тиреоидните тумори с агресивно поведение, но понастоящем нито един от тях не се използва рутинно в клиничната практика.

5. Молекулярна патогенеза на тиреоидния карцином и молекулярни маркери с диагностично и прогностично значение

През последните 20 години бе постигнат значим напредък в изучаването на молекулярната патогенеза на тиреоидния карцином (164. Беше установено, че тиреоидният карцином, подобно на другите солидни карциноми, се инициира от генетични изменения и епигенетични промени в редица онкогени или тумор супресорни гени (201, 202). Според скорошна публикация на TCGA (Thyoid Cancer Genome Atlas) дялът на ПТК с неизвестни мутации е намалял от 25% на 3.5% (437). Повечето тиреоидни карциноми показват соматични точкови мутации или пренареждания, които активират mitogen-activated protein kinase (MAPK) и phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase *B* пътища (32, 257, 488). Механизмът на карциногенезата на МТК е активиране на RET сигналния път в резултат на *RET* мутации, които не се установяват при карциномите, произлизащи от фоликуларните тиреоидни клетки. Развитието на НДТК и АТК се предполага, че е резултат на дедиференциация на ПТК и ФТК (фиг. 2). Някои мутации като BRAF V600E са много специфични за ТК, докато други, като RAS мутациите, се

установяват и в доброкачествените фоликуларни лезии, което намалява тяхната диагностична специфичност. На табл. 5 са показани част от многобройните генетични алтерции, включени в развитието на отделните видове тиреоиден карцином.



Фиг. 2. Потенциални етапи в прогресията на тиреоидните тумори, произлизащи от фоликуларния епител и асоцирани генетични мутации.

Таблица 5. Чести мутации при различните видове тиреоиден карцином и фоликуларния аденом.

	ПТК	ФВПТК	ФТК	НДТК	АТК	ФА
Мутации						
BRAF V600E	+++			+	+	
BRAF K601E		+++	+			+
NRAS		+++	++	+	+	++
HRAS		++	+			+
KRAS	+	++	+			++
PTEN			+			++
TSHR			+			++
GNAS						++
Пренаредени и фузионни гени						
RET/PTC	+++					
PAX8/PRAPG		+	+++			
ALK fusions	+	+		++	++	
BRAF fusions	+	+				
ETV6/NTRK3	++					
NTRK1 fusion	++					

5.1 Генни мутации

Точкова мутация на *BRAF гена* (T1799A) в аксон 15 е отговорна за експресията на протеина BRAF-V600E, участващ в активирането на serine/threonine киназата (100, 488). *BRAF*V-600E мутация е една от най-честите генетични алтерации при тиреоидния карцином. Установява се в ~ 45% (от 30 до 70%) от спорадичните ПТК. За отбелязване е, че тя се открива значимо по-често при случаите с tall cell варианта на ПТК (от 80 до 100%), но рядко при ФВПТК (~ 15%) (485). Въпреки някои несъответствия в литературните данни (171, 227), наличието на *BRAF*-мутация най-често се асоциира с по-лоша прогноза, както и с другите клинико-патологични прогностични фактори с (257, 484). *BRAF*-V600E мутацията е независим предиктор на екстратиреоидна инвазия, метастази в лимфните възли и повишен риск за рецидиви (27, 139, 214, 252, 486, 487). Установено е, че наличието на *BRAF*-V600E мутация е свързано със загуба на радиойод чувствителността и последваща рефрактерност на радийод лечението. Данните на други изследователи показват, че *BRAF*-V600E мутацията самостоятелно няма практическа стойност в рисковата стратификация в контраст при комбинираното й идентифициране със соматичната мутация на теломеразния ген *TERT*, свързана с иммортализация на клетките и други онкогенни събития, и прогресия на заболяването (437, 269, 284, 459, 486). Последната е налице само в около 9% от ПТК. Наскоро публикувани данни показаха, че прогнозата на пациентите с ПТК и доказани мутации на *BRAF* -V600E и *TERT* едновременно е по-лоша в сравнение с тази на случаите с мутация на *BRAF* V600E самостоятелно (486).

Точковата мутация на *RAS* гена е другата честа мутация при тиреоидния карцином. Нейната роля е свързана с потискане на GTP-активността и активиране на PI3K-AKT сигналния път в тиреоидната туморогенеза. Сред гените на трите RAS изоформи (HRAS, KRAS, и NRAS), най-честа при тиреоидните тумори е мутацията на NRAS гена. Докато *RAS* мутацията е относително рядка при класическия ПТК (0-20%), тя се открива при близо половината от случаите с ФТК и ФВПТК (176, 283). Наблюдава се също и при около 20% от фоликуларните аденоми. Тези данни допускат, че *RAS* мутацията възниква в ранен етап на тиреоидната туморогенеза.

Тумор супресорния ген *PTEN е* негативен регулатор на PI3K-AKT сигналния път чрез обратно повлияване функцията на PI3K. Мутация или делецията на *PTEN* гена Точкова

мутация на *BRAF гена* (T1799A) в аксон 15 е отговорна за експресията на протеина BRAF-V600E, участващ в активирането на serine/threonine киназата (100, 336, 488). *BRAF*V-600E мутация е една от най-честите генетични алтерации при тиреоидния карцином. Установява се в ~ 45% (от 30 до 70%) от спорадичните ПТК. За отбелязване е, че тя се открива значимо по-често при случаите с tall cell варианта на ПТК (от 80 до 100%), но рядко при ФВПТК (~ 15%) (485). Въпреки някои несъответствия в литературните данни (171, 227), наличието на *BRAF*-мутация най-често се асоциира с по-лоша прогноза, както и с другите клинико-патологични прогностични фактори с (27, 257, 484). *BRAF*-V600E мутацията е независим предиктор на екстратиреоидна инвазия, метастази в лимфните възли и повишен риск за рецидиви (27, 139, 214, 252, 486, 487). Установено е, че наличието на *BRAF*-V600E мутация е свързано със загуба на радиойод чувствителността и последваща рефрактерност на радийод лечението. Данните на други изследователи показват, че *BRAF*-V600E мутацията самостоятелно няма практическа стойност в рисковата стратификация в контраст при комбинираното й идентифициране със соматичната мутация на теломеразния ген *TERT*, свързана с иммортализация на клетките и други онкогенни събития, и прогресия на заболяването (437, 269, 284, 459, 486). Последната е налице само в около 9% от ПТК. Наскоро публикувани данни показаха, че прогнозата на пациентите с ПТК и доказани мутации на *BRAF* -V600E и *TERT* едновременно е по-лоша в сравнение с тази на случаите с мутация на *BRAF* V600E самостоятелно (486).

Точковата мутация на *RAS* гена е другата честа мутация при тиреоидния карцином. Нейната роля е свързана с потискане на GTP-активността и активиране на PI3K-AKT сигналния път в тиреоидната туморогенеза. Сред гените на трите RAS изоформи (HRAS, KRAS, и NRAS), най-честа при тиреоидните тумори е мутацията на NRAS гена. Докато *RAS* мутацията е относително рядка при класическия ПТК (0-20%), тя се открива *е* отговорна за тиреоидната туморогенеза при синдрома на Cowden, характеризиращ се с повишен риск за карцином на ЩЖ, гърдата и ендометриума, както и хамартоми (199). Генни алтерации на *PTEN* се откриват и в около 40% от ФТК (37, 213).

Други генни мутации при тиреоидния карцином са тези на *CTNNB1, TP53, IDH1*, и *NDUFA13* (*GRIM19*). Мутациите на *CTNNB1 и TP53* се откриват предимно при НДТК и АТК, което предполага тяхната роля в дедиференциацията или в късния етап на

прогресията на карциномите, произлизащи от фоликуларния тиреоиден епител. Мутация на *CTNNB1* гена, участващ в WNT-β-катениновия път, се установява често при АТК (175). Мутацията на *TP53 г*ена, кодиращ туморния супресор p53, се идентифицира в редица солидни тумори, както и в 70-80% от случаите с АТК (127, 155). В 15% от Хюртелово-клетъчните тиреоидни карциноми се идентифицира мутация на *NDUFA13* (*GRIM19*) (304, 319)

5.2 Генни транслокации

Хромозомни пренареждания на тирозин-киназния прото-онкоген *RET*, включително по-специфичните *RET/PTC* пренареждания, се установяват в 15-45% от класическия ПТК и 80% от радиационно индуцираните ПТК (71, 162, 333, 365). *RET е* прото-онкоген, кодиращ рецептор тирозин киназата (RTK), чието пренареждане е причина за последователното активиране на MAPK и PI3K-AKT пътища. От многобройните видове транслокации на RET/PTC, тези на *RET/PTC1* и *RET/PTC3* са най-честите (193, 390). При случаите с тиреоден карцином в резултат на Чернобилската ядрена авария по-често се установява *RET/PTC3* транслокация в сравнение с *RET/PTC1*транслокация (445).

Транслокация на PAX8/PPARG също се открива често в тиреоидната карциногенеза, предимно при ФТК 25-60%) и ФВПТК (~30%). PAX8/PPARG протеинът действа като доминантно-негативен инхибитор на wild-type тумор супресорния механизъм на PPARγ (361). В контраст, ефектите на PAX8/PPARG транслокация върху функцията на PAX8 са все още слабо проучени.

5.3 ДНК полиморфизми

С развитието на експресионния геномен анализ, беше установено че множество генни варианти са свързани с повишен риск (предразположение) за диференциран тиреоиден карцином (28). Докладвано бе, че комбинацията от *GSTN1*-null/*GSTT1*-null генотипове и пролин хомозиготност в кодон 71 на p*53* предсказва висок риск за ДТК (79, 191, 318). В проучване в Исландия се установява, че двата чести варианта на 9q22.33 and 14q13.3 също са свързани с повишен риск за появата на ДТК (196). Гените FOXE1 (TTF2) и NKX2-1 (TTF1) са най-близките до локусите 9q22.33 и 14q13.3, съответно и кодират важни за тиреоидната функция транскрипционни фактори. Лицата, които са хомозиготни за двата варианта са с 5.7 пъти по-висок риск за ДТК в сранение с не-носителите. Необходими са бъдещи проучвания за доказване на връзката на ДТК с полиморфизмите на ДНК.

5.4 МикроРНК-та (MicroRNAs)

Теоретично микроРНК-тата са малки (19-25 нуклеотида) не-кодиращи РНК, които негативно регулират експресията на кодиращите гени (56). Допуска се, че около 30% от човешкия геном се регулира от тези микроРНК-та, които могат да действат като тумор супресорни гени или онкогени (147). Предполага се, че полиморфизмите на редица микроРНК-тата (напр. miR-146a) имат важна роля в карциногенезата на ДТК (117). В допълнение, някои microRNAs имат потенциална прогностична стойност (437). В част от ПТК с агресивно поведение се докладва за повишена експресия на microRNA-21 и microRNA-146b в комбинация с намалената експресия на microRNA-204.

5.5 Молекулярни тестове и тиреоидна цитопатология

Натрупаните знания в молекулярната патогенеза на тиреоидния карцином имат не само теоретично значение, но също и клинично значение (454). Те доведоха до създаването на няколко молекулярни теста, чието приложение в клиничната практика подпомага взимането на решение за последващо поведение при случаите с недетерминирана цитопатология. Тези тестове използват различни методи за идентифициране на молекулярните сигнатури, специфични за тиреоидния карцином. Някои от тестовете се базират на изследване на ДНК за откриване на мутациите, а други характеризират генния експресионен профил на транскрипционно (messenger RNA) или пост-транскрипционно ниво (microRNA). При използването на молекулярни тестове важно значение има познаването на тяхната диагностична приложимост - докато част от тях са от полза за предсказване доброкачествения характер на нодула (rule-out tests), други са с висока предиктивна стойност за предсказване на малигненост (rule-in tests). Освен това, при един и същ позитивен или негативен резултат, терапевтичното поведение с оглед риска за малигненост е различно и зависи от първоначалната цитопатологична категория, в която е класифициран тиреоидния нодул, който представлява претестовата вероятност за малигненост.

BRAF и RAS точковите мутации, и RET/PTC и PAX8/PPAR пренареждания са най-честите генетични алтерации, откривани в 80% от случаите с тиреоиден карцином (80, 377). Тяхното откриване може да се използва за установяване на малигненост при тиреоидните нодули с недетерминирана цитология. Един от най-проучваните молекулярни тестове е панелът, оценяващ наличието на 14 точкови мутации в BRAF и RAS гените, както и

RET/PTC1, RET/PTC3, и PAX8/PPARγ пренареждания (търговският му вариант е mIRinform/Asuragen, Austin, Texas). В няколко проспективни проучвания на характеристиката на недетерминирани тиреоидни нодули се установява, че чувствителността на този панел е около 60%, а специфичността му достига 98% (132, 344). От предложените секвениращите изследвания, ThyroSeq2 и AfirmaTM gene expression classifier (GEC) са най-честите. ThyroSeq V2 (University of Pittsburgh Medical Center, Pittsburgh, Pennsylvania) е наскоро разработен търговски наличен панел, с който чрез next-generation sequencing се изследва наличието на повече от 400 точкови мутации в 14 гена, включително AKT1, BRAF, CTNNB1, GNAS, HRAS, KRAS, NRAS, PIK3CA, PTEN, RET, TP53, TSHR, TERT, и EIF1AX, както и 42 генни пренареждания (335). В проспективно двойно сляпо проучване, мултицентрично проучване на 265 недетерминирани тиреоидни нодули се оценява диагностичната точност на Afirma Gene Expression Classifier (Veracyte, South San Francisco, California), чрез който се изследва mRNA експресията на 167 гена с оглед предсказване на доброкачествения характер на фоликуларната лезия (rule-out test) (34). Резултатите показват, че чувствителността и специфичността на теста са 92% (84%–97%) и 52% (44%–59%), съответно. В други проучвания, използващи microRNA панели върху цитологичен материал, докладваната чувствителност е 87% (77%–92%), а специфичността - 85% (78%–90%) (248, 307, 400, 495). Извършеният анализ на литературата показва, че понастоящем няма самостоятелен оптимален молекулярен тест, който може да потвърди или изключи малигненост при случаите с недетерминирана тиреоидна цитология. Първоначалните резултати са обещаващи, но са необходими бъдещи клинични проучвания, които да оценят предимствата, цена-ефективността и мястото на молекулярните тестове в рутинната практика (207). В този аспект особено важно е преодоляването на финансовите и техническите затруднения, свързани с тяхната употреба.

В заключение, развитието на молекулярната медицина, в съчетание с напредъка в биотехнологиите и фармацията, доведе до огромен прогрес в диагнозата и лечението на тиреоидния карцином. Без съмнение, този прогрес ще продължи с развитието на още по-ефективни терапии, базирани на създаването на нови средства с по-голяма чувствителност към онкогенните таргети. Няма съмнение, че в бъдеще по-широкото приложение на молекулярните маркери, както и тяхното усъвършенстване, ще доведе до подобряване на

диагностичната точност на цитологията и индивидуализиране на поведението при пациентите с тиреоидни нодули.

6. Цитологична диагностика на тиреоидните нодули, съвременни класификации за отговор в тиреоидната цитопатология

6.1 Общи положения

Тънко-иглената аспирация като метод за изследване на неясни туморни маси е въведена преди повече от 100 години. За пръв път е описана от Greig и Gray през 1904г, а през 1930г Martin я използва за туморна диагноза. През последните 30 години тънкоиглената аспирационна биопсия (ТАБ) или тънкоиглената не-аспирационна биопсия (ТБ) на тиреоидните нодули с последващо цитологично изследване се утвърди като най-надеждният, безопасен и цена-ефективен метод за изследване на тиреоидните нодули (74, 277, 297, 408, 476). Методът дава възможност за подбор на пациентите с тиреоидни нодули, показани за хирургично лечение, намалявайки броя на диагностичните тиреоидектомии и увеличавайки дяла на малигнените лезии, отстранени хирургично (74). Данните показват, че в периода преди рутинната употреба на ТАБ дялът на резецираните злокачествени тиреоидни нодули е бил едва 14%, а в периода на широката й употреба достигна 50% (92).

Нарастването на приложението на тиреоидната ТАБ е резултат на високата честота на тиреоидни нодули сред общото население. Приблизително 4-7% от възрастните имат палпируеми тиреоидни нодули, но процентът нараства значимо при отчитане на не-палпируемите лезии, откривани при ехографско изследване на шията и по-рядко с някой от другите визуализиращи методи (КТ, МР) . Около 50% от общото население е с ехографски диагностицирани тиреоидни нодули, от които до 5% са малигнени (181, 382). В този смисъл усилията на общопрактикуващите лекари, ендокринолозите, хирурзите и патолозите са насочени в извършването на подбор на пациентите за хирургично лечение, поставяйки точна предоперативна диагноза. ТБ е най-ефективният и минимално инвазивен метод за откриване на тиреоидните малигнени нодули.

6.2 Диагностична точност на ТАБ на тиреоидните нодули

ТАБ на тиреоидните нодули като диагностичен метод показва отлични резултати в опитни ръце (81, 106, 179, 315), с докладвана точност около 77 % (от 53% до 95%) (135, 262, 277,

297, 461). Точността на метода зависи както от опита и уменията на лекаря, извършващ биопсията, така и от диагностичната експертиза на цитопатолога, интерпретиращ микроскопските находки. При негативните за малигненост (доброкачествените тиреоидни аспирати) трудно може да се отчете точността на метода т. к тези нодули рядко са показани за хирургия. Анализът на резултатите при малък брой случаи с хистологична верификация създава възможност за надценяване на фалшиво-негативните резултати (369). Само продължителното проследяване на случаите с доброкачествена цитология би могло да потвърди точността на метода в случаите с негативен за малигненост цитологичен резултат.

Предиктивната стойност на даден тест често се използва за оценка на неговата точност. Чувствителността и специфичността са предиктивните параметри, които се прилагат при клиничната оценка на всички диагностичните тестове. Златен стандарт за оценка на цитлогичните изследвания е хистологичната верификация. Чувствителността на ТАБ отразява честотата на резултатите, които са позитивни за пациентите с тиреоидно заболяване, а специфичността – честотата на резултатите, които са негативни.

Позитивната предиктивна стойност (ППС) при ТАБ на тиреоидните нодули е 89-98%, а негативната предиктивна стойност (НПС) е 94-99%. В различните проучвания се докладва висока чувствителност и специфичност, варираща от 83-92%, и 75-97%, съответно (271, 438). В допълнение, честотата на фалшиво-негативните и фалшиво-позитивните цитологични резултати е също ниска –под 10% и 5%, съответно (табл. 6). (92, 97, 192, 343, 369). Необходимо е да се отбележи, че флуктуацията в процентите както на чувствителността, така и на специфичността зависи от начина на изчислението. В някои от проучванията не се включени случаите с недетерминирана цитология, докато в други - те се приемат за позитивни диагноза т.к са насочени за хирургично лечение. Налице са различия и в зависимост от включването или не на случаите с хистологично диагностицирани доброкачествени неоплазми или аденомите. При определяне на предиктивната стойност на метода някои от вариациите са свързани с наличието на съществени разлики в броя на случаите в отделните категории, които са хистологично верифицирани (напр. с доброкачествена цитология), както и с подбора на случаите с доброкачествена цитология, насочени за хирургично лечение (с или без клинична суспекция за малигненост). В проучването на Bohacek и сътр. (61) честотата на фалшиво-

негативните диагнози намалява от 6.9% на 2.3%, при изключване на случаите с доброкачествена диагноза, но с висока клинична суспекция.

Таблица 6. Точност на ТАБ на тиреоидните нодули (по Clark и Faquin, 97)

Статистически показател	%
Точност (при диагностични проби)	>95
Фалшиво-негативни резултати	1-11
Фалшиво-позитивни резултати	0-7
Позитивна предиктивна стойност	89-98
Негативната предиктивна стойност	94-99
Чувствителност	43-98
Специфичност	72-100

От съществено значение е познаването на недостатъците на метода. ТАБ на тиреоидните нодули е скринингов, а не диагностичен тест за лезиите с фоликуларен строеж. Независимо от използваната терминология, около 25% от тиреоидните нодули се класифицират като недетерминирани, при които не е възможно да се определи дали нодулът е доброкачествен, или злокачествен и в повечето случаи се налага хирургична резекция. В тиреоидната цитопатология нодулите се класифицират като недетерминирани не само заради терминологията, но също и заради невъзможността да се разграничат цитологично инвазивните характеристики (капсулна и/или съдова инвазия), необходими за диагнозата на ФТК (240, 326). В тази категория се включват и голяма част от случаите с фоликуларен вариант на ПТК, при които липсата на характерните ядрени белези не позволява поставянето на дефинитивна диагноза малигненост. През последните години с цел превъзмогване на този недостатък на тиреоидната цитопатология, редица автори подкрепят извършването на допълнителни изследвания с имунохистохимични и/или молекулярни маркери (68). Понастоящем чувствителен и специфичен преоперативен маркер, чрез който да се елиминират диагностичните тиреоидектомии при фоликуларните лезии не е идентифициран (64).

6.3. Ехографско изследване на щитовидната жлеза и ТАБ под ехографски контрол на тиреоидните и екстратиреоидни нодули (лимфни възли и паратиреоидни лезии)

Ехографското изследване на щитовидната жлеза е най-точният и цена-ефективен метод за идентифициране, оценка и мониториране на тиреоидните нодули, средство на избор сред визуализиращите методи (121, 423). Чрез този метод може да се определи размера и

характеристиката на палпируемите нодули, да се идентифицират непалпируеми тиреоидни или екстратиреоидни нодули, както и наличието на шийна лимфаденопатия (170). Методът е особено полезен при оценка на малките (< 2 cm) и дълбоко разположените нодули, както и на тези със смесен строеж или с кистичен компонент. При полинодозна струма ТАБ се извършва на доминиращите нодули или тези с ехографски белези, суспектни за малигненост (103, 350). Ехографските белези, предсказващи риск за малигненост на тиреоидните нодули, самостоятелно или в комбинация, са наличието на неправилни граници, хипоехогенност, липса на периферно хало, микрокалцификати, по-голям предно-заден размер спрямо напречния (414). Суспектни ехографски белези за метастатични лимфни възли са размер >1cm, отношение на дългата: късата ос <2.0, наличие на мирокалцификати и периферна хиперваскуларизация. Съчетанието от няколко ехографски белези за малигненост повишава специфичността на оценката, докато наличието на тези белези самостоятелно е с ниска предиктивна стойност (367). Тези белези са свързани най-често със суспекция за ПТК и рядко за ФТК (232). Резултатите на скорошен мета анализ показаха, че отделните ехографски белези самостоятелно не могат да бъдат точни предиктори на злокачествен тиреден нодул (73). Развитието на еластографията, позволяваща оценка на тъканната еластичност, в бъдеще би допринесла за оценка на риска за малигненост на тиреоидните нодули. Резултатите от първите проучвания с този метод са окуражаващи, показвайки висока чувствителност и специфичност (62).

ТАБ под ехографски контрол е най-важната диагностична процедура за оценка на тиреодните нодули. С оглед намаляване на честотата на недиагностичните аспирати, това е предпочитаният и препоръчан метод за взимане на материал за цитологично изследване. Докато при използването на палпаторно-контролирания метод на аспирация честотата на недиагностичните аспирати варира между 27-42% , то чрез извършване на ТБ под ехографски контрол тиреоидния пуктат е по-често адекватен за цитологична интерпретация (69, 78). Според последното ръководство на Американската тиреоидна асоциация за поведение при тиреоидните нодули честотата на недиагностичната категория не трябва да надвишава 10% (207). ТАБ на тиреоидните нодули се извършва под ехографски контрол и е показана при всички пациенти с клинична или ехографска суспекция за малигненост на тиреоидния нодул (349). През последните години въпросът

кои тиреоидни нодули са показани за ТАБ е обект на дискусии. Повечето автори са съгласни, че това са всички нодули с размер над 1 cm, а тези с диаметър по-малък от 1 cm може да се биопсират при наличие на клинична и/ или ехографска суспекция за малигненост (69). На табл. 7 са дадени ехографската характеристика, риска за малигненост и показанията за ТБ под ехографски контрол на тиреодните нодули според ръководството на Американската тиреоидна асоциация (АТА) (207).

Таблица 7. Ултразвукова (УЗ) характеристика, рискова стратификация на тиреоидните нодули и показания за ТБ според ръководството на АТА, 2015.

Ехографска суспекция	УЗ белези	Установен риск за малигненост	Показание за ТБ
Висока	Солиден хипоехогенен нодул или частично кистичен нодул с един или повече суспектни белези	>70-90%	≥1cm
Умерена	Хипоехогенен солиден нодул с гладки граници без суспектни белези	10-20%	≥1cm
Ниска	Изоехогенен или хиперехогенен солиден нодул, или отчасти кистичен нодул с ексцентричен солиден участък, без суспектни белези	5-10%	≥1.5cm
Много ниска	Гъбест или отчасти кистичен нодул, без суспектни белези	<3%	≥2cm
Доброкачествена	Кистичен нодул (без солиден компонент)	<1%	±, терапевтична цел (аспирация)

През последните години с развитието на високо-честотната ехография и рутинната употреба на ТАБ под ехографски контрол, броят на извършваните биопсии на ехографски суспектни паратиреоидни лезии при пациенти с биохимични данни за хиперпаратиреоидизъм или случайно открити екстратиреоидни нодули също нарастна (221, 446). Въпреки, че литературните данни за точността на цитологичната диагноза на паратиреоидните лезии са малко, то извършването на ТБ в тези случаи е показано с цел диференциране на суспектната паратиреоидна лезия от тиреоиден нодул или лимфен възел, както и за потвърждаване наличието на суспектен ектопичен аденом (125, 144, 169).

6.4 Обработка на аспирирания материал за цитологично изследване

Съществуват два основни метода за обработка на аспирирания материал –директно поставяне на материала върху стъклото (директни цитонамазки) и течно-базирана цитология. Директните цитонамазки са фиксират в алкохол или се изсушават на въздух, след което се оцветяват съответно по Papanicolaou (PAP) или Diff-Quik метода. Алкохол-фиксираните PAP-оцветени препарати имат предимство при визуализацията на ядрените характеристики, докато тези изсушени на въздух и оцветени с Diff-Quik метода се предпочитат за визуализиране на колоида. Последният метод се използва често и за оценка на адекватността на аспирирания материал на място. Въпреки, че и двата метода имат своите предимства и недостатъци, досега не е показано превъзходство на някой от тях. Diff-Quik методът е по-популярен в Скандинавските страни и другите райони на Европа. През последните години приложението на течно-базираната цитология нарастна поради нейната ефективност, свързана с намаляване на броя на оцветените стъкла и намаляване на артефактите (основно кръвта), които нерядко затрудняват интерпретацията. При необходимост и/или при излишък, аспирираният материал може да се обработи и включи в клетъчно блокче, което позволява прилагането на други методи на изследване (имунохистохимични, молекулярни) върху цитологичен материал.

6.5 Интерпретация на цитологичния материал от цитопатолога

Диагностичната интерпретация на тиреоидните аспирати зависи от опита на цитопатолога и от този на лекаря, извършил биопсията (308, 330, 335, 336). Преди поставяне на цитологична диагноза, всеки аспират трябва да се анализира с оглед неговата адекватност. Цитологичните препарати трябва да са с добро качество и да не са компроментирани от наличието на кръв, неадекватна фиксация или оцветяване. При интерпретацията на оцветените цитонамазки е необходимо да се оценят наличието на колоид, кръвни елементи, броя на клетките и начин на подреждането им (под формата на повлекла, фоликули, клетъчни агрегати, папиларни структури), както и клетъчната им характеристика - плеоморфизъм, дегенеративни промени, отношение ядро: цитоплазма, особености на ядрата – наличие на нуклеоли, хроматин, митози. Един от обшоприетите критерии за адекватност на цитологичния материал е пробата да съдържа поне 6 групи от фоликуларни клетки (поне 10 клетки/група) (64). Изключение от това правило може да е колоидният нодул или колоидната киста. Цитологичната диагноза на тиреоидните нодули

е комплексна, което отчасти се дължи на следните причини: припокриване на цитоморфологичните особености при туморните и нетуморните тиреоидни заболявания; припокриване на цитологичните белези при различните видове тумори; едновременно наличие на злокачествена и доброкачествена тиреоидна патология. Независимо от това, за диагнозата на отделните заболявания на щитовидната жлеза се използват редица специфични цитоморфологични белези. От практическа гледна точка, те могат да се класифицират в осем работни цитодиагностични групи, включващи по няколко хетерогенни лезии (табл.8) (163). Този подход улеснява диференциалната диагноза на доброкачествените и злокачествени нодули и подпомага правилната категоризация на цитологичния материал (428). За повишаване на диагностичната точност на цитологичното изследване значение има също предоставянето на пълни клинични и/или ехографски данни за риска за малигненост на биопсирания нодул, както и възможността за контакт на цитолога с лекаря, извършл ТБ. Правилната интерпретация на цитологичния резултат е от основно значение при взимане на решението за хирургическо лечение.

Таблица 8. Цитологични белези (цитодиагностични групи), използвани при интерпретацията на тиреодните аспирати (по 163)

1. Преобладаване на клетки на възпалението
- Гнойно с или без микроорганизми – бактрии; гъби
- Грануломатозно - подостър грануломатозен титеоидит (Де Кервен); микобактериален тиреоидит
- Лимфоидни клетки - хроничен лимфоцитарен тиреоидит (Хашимото); МАЛТ лимфом; монотонни лимфоидни клетки (дребноклетъчен/едроклетъчен лимфом)
2. Наличие на кистичен компонент с или без белези за стар кръвоизлив
- С колоид и фоликуларен тъканен фрагмент
- С папиларен тъканен фрагмент
3. Преобладаване на колоид с оскъден брой фоликуларни клетки
4. Преобладаване на фоликуларните тъканни фрагменти на фона на колоид
- Доброкачествен фоликуларен нодул
- Хиперплазия на фоликуларния епител (Базедова болест)
5. Преобладаване на епителни тъканни фрагменти с формиране на микрофоликули, оскъден колоид
- Фоликуларна неоплазма (аденом, ФТК)
- Фоликуларен вариант на ПТК

- Паратиреоиден тумор
6. Преобладаване на епителни тъканни фрагменти с гранулирана цитоплазма, оскъдно или липса на колоид
- Онкоцитна неоплазма (аденом/ онкоцитен вариант на ФТК)
- Онкоцитен вариант на ПТК
- МТК
- Метастатичен карцином, вкл. бъбречен
7. Преобладаване на епителни тъканни фрагменти, вкл. папиларни структури с характерни ядрени белези
- ПТК
- Хиалинизиращ трабекуларен тумор
8. Преобладаване на поединично клетки с или без епителоидни и вретеновидни клетки
- МТК
- НДТК
- АТК
- Метастатичен карцином, вкл. меланом, гърда

6.6. Диагностични категории и класификации за отговор на тиреоидната цитопатология

Във връзка с широката употреба на ТАБ на тиреоидните нодули възникна необходимостта от унифицирана, стандартизирана и международно призната система за докладване на цитологичните отговори, която да осигури ефективна комуникация между цитопатолози, ендокринолози, хирурзи, радиолози и други медицински специалисти (159, 384). Интерпретацията на тиреоидния аспират трябва да подпомогне клиницистите при взимането на решение за последващо поведение базирано на релативния риск за малигненост на съответната диагностична терминология. Само до преди близо 10 години такава липсваше. Базирайки се на интерпретацията на цитологичния материал близо 70% от тиреоидните нодули се класифицират като доброкачествени, по-малко от 10% - като злокачествени, а за останалите 20-25%, при които не може да се изключи малигненост, се използваха различни диагностични термини -атипична цитология, недетерминирана цитология и други. Различни класификационни системи бяха предложени и адаптирани от отделни патологични асоциации и институции като тази на Papanicolaou Асоциацията по цитопатология през 1997 г (438), на Американската Тиреоидна Асоциация през 2006 г (104), на Американската Асоциация на клиничните ендокринолози и Associazione Medici

Endocrinologi през 2006 г (180), на UK Royal College of Pathologists (RCPATH) и Британската тиреоидна асоциация (387, 473), на Италианската асоциация по Анатомична патология и цитопатология (406). Извършеният анализ на литературата от Wong и Baloch (478) показа, че в различните страни/институти се използват различни класификационни схеми, използвайки най-малко 4 диагностични категории. В проучването на Lew и сътр. (276), ретроспективно се оценяват цитологичните резултати от 797 ТАБ на тиреоидни нодули, извършени за периода 2003-2009 г. Авторите използват 4 диагностични категории - недиагностична, доброкачествена, недетерминирана и малигнена. В недетерминираната категория включват случаите с фоликуларна неоплазма, Хюртелово-клетъчна неоплазма или суспектните за ПТК. В проучването на Nayar и Ivanovic (325), включващо 5194 ТАБ за периода 2000-2006 г се използват 6 категории -недостатъчен материал, негативна за малигненост, недетерминирана за неоплазма, неоплазма, суспектна за малигненост и позитивна за малигненост. Сходно е проучването на Yang и сътр. (491), включващо 4703 ТАБ (януари 1992 –Май 2005). В проучването на Piana и сътр. (303) се анализират цитологичните резултати при 18,359 ТАБ (1998-2007), разпределени в 5 диагностични категории -недиагностична/недостатъчен материал, доброкачествена, фоликуларна пролиферация и злокачествена като категорията фоликуларна хиперплазия е подразделена на 3 степени – не може да се изключи фоликуларна неоплазма, фоликуларна неоплазма и суспекция за ПТК. Докладването на цитологичните находки по различен начин е предпоставка за неадекватна интерпретация на цитологичния резултат и затруднява взимането на решение за последващо поведение (478). В проучване на перцепцията на диагностичната терминология и цитопатологичния резултат също бе показано наличие на несъгласуваност между клиницистите и цитопатолозите (370). Установено бе, че използването на стандартна терминология значително намалява честотата на недиагностичните проби и на т.н. описателни диагнози (234).

През последните 10 години в различни страни по света бяха предложени няколко системи за терминология в тиреоидната цитопатология. Те включват Бетезда системата за отговор на тиреоидната цитопатология (TBSRTC, 2007), на UK Royal College of Pathologists (RCPATH), Великобритания (RCPath, 2016), Италианската система (2014), Австралийската система (2014) и Японската система (2013) (93, 108, 238, 259, 323, 386). На табл. 9 в обобщен вид са дадени класификационните системи на Италия, Англия и Япония,

сравнени с Бетезда системата. Диагностичните критерии, които се използват в тези системи имат за цел да подпомогнат подбора на пациентите за хирургично лечение. Всяка цитопатологична категория е свързана с определен риск за малигненост, който отговаря на специфичните препоръки за поведение при пациентите с тиреоидни нодули (93). От съществено значение е, че терминологията и критериите за недиагностичната, доброкачествената, малигнената и суспектната за малигненост категории са сходни във всички класификации. Различия се установяват в терминологията на недетерминираната за малигненост категория.

Таблица 9. Обобщение на някои от предложените класификации за отговор на тиреоидната цитопатология през последните 10 години.

Диагностични категории -Италия	Диагностични категории-Великобритания	Bethesda система-САЩ	Диагностични категории-Япония
TIR1: недиагностична TIR 1C: кистична	Thy1/Thy1c: Недиагностична за цитологична диагноза Недостатъчен материал, съвместим с киста	I. недиагностична	Неадекватна (недиагностична)
TIR2: не-малигнена/ доброкачествена	Thy2/Thy2c Не-неопластична	II. Доброкачествена	Нормална или доброкачествена
TIR 3A: недетерминирана лезия с нисък риск	Thy 3a Суспекция за неоплазма-атипия/недиагностична	III. Атипия с неопределено значение или фоликуларна лезия с недетерминирано значение	Недетерминирана Фоликуларна неоплазма A1 -вероятно доброкачествена A2 - гранична A3- вероятно малигнена Други -атипия при не-фоликуларни лезии
TIR 3B: недетерминирана лезия с висо риск	Thy3f Суспекция за неоплазма-възможно фоликуларна неоплазма	IV. Фоликуларна неоплазма/суспекция за фоликуларна неоплазма	
Thy 4 Суспекция за малигненост	TIR 4: Суспекция за малигненост	V. Суспекция за малигненост	Суспекция за малигненост
TIR 5: малигнена	Thy 5 диагностична за малигненост	VI. Малигнена	Малигнена

- *Бетезда система за отговор на тиреоидната цитопатология (БСОТЦ):*

Бетезда система за отговор на тиреоидната цитопатология бе създадена през 2007 г с цел преодоляване на различията в наличната дотогава диагностична терминология (47, 50, 92, 109). Тя бе разработена от мултидисциплинарен екип от патолози, ендокринолози, хирурзи, онколози и радиолози, а по-късно бе публикуван финалният й текст и атлас (35). Определянето на диагностичната терминология бе извършено на базата на задълбочен анализ на публикуваната литература върху тиреоидната цитология до тогава (evidence-based). Включва 6 диагностични категории като всяка от тях е свързана с релативен риск за малигненост и съответен алгоритъм за клинично поведение (табл. 10).

Табица 10. Цитопатологични категории, риск за малигненост и алгоритъм за поведение според Бетезда системата за отговор в тиреоидната цитопатология

Категория	**Риск за малигненост (%)**	**Поведение**
Б1 - Недиагностична или недостатъчен материал	1-4	Повторна ТБ под ехографски контрол
Б2 -Доброкачествена	< 1-3	Проследяване
Б3 - Атипия с неопределено значение или фоликуларна лезия с неопределено значение	5-15	Повторна ТБ
Б4 - Фоликуларна неоплазия или суспекция за фоликуларна неоплазия	20-30	Лобектомия
Б5 - Суспекция за малигненост	60-75	Лобектомия или субтотална тиреоидектомия
Б6- Малигнена	97-99	Субтотална тиреоидектомия

Критериите за класифициране на тиреоидните аспирати в отделните диагностични категория според Бетезда системата, както и предложения алгоритъм за поведение ще разгледаме последователно.

- Б1/Не-диагностична или незадоволителна категория

Тиреоидните аспирати, които се класифицират в тази категория са с неадекватен целуларитет, или с незадоволително качество на цитологичните препарати (кръв, неадекватна фиксация или съсиреци), съдържат само кръвни елементи, некротичен материал, хемосидерофаги или само кистично съдържимо. При тези случаи най-често се

извършва повторна ТАБ, а отделни, селектирани пациенти, със суспектни клинични или ехографски находки, са показани за диагностична хирургия. Рискът за малигненост при не-диагностичната категория е от 1-4%.

За намаляване броя на не-диагностичните аспирати в някои практики се извършва на място оценка на адекватността на материала. Предимство на този подход е и възможността на цитопатолога да определи необходимостта от допълнителни изследвания и съответно взимане на материал за изготвяне на клетъчен блок или молекулярен тест. Въпреки, че този подход намалява честотата на не-диагностичните аспирати и повишава диагностичната точност (53, 234), в някои проучвания се повдига въпросът за неговата цена-ефективност (182, 497).

- Б2/Доброкачествена категория

В тази категория се включват разнообразни по характер лезии - възпалителни, колоидни или хиперпластични нодули. Най-общо честотата й е около 70% от тиреоидните аспирати, а рискът за малигненост е много нисък (0-3%). Възпалителните лезии, включващи най-често тиреоидита на Хашимото и по-рядко подостриятиреоидит, обикновено се диагностицират цитологично безпроблемно, като специфичната диагноза се потвърждава клинично. При адекватни цитопрепарати повечето от доброкачествените тиреоидни нодули могат да се отдиференцират от фоликуларните неоплазми. Фалшиво негативните резултати обикновено са свързани с интерпретацията на субоптимални препарати, грешки в мястото на аспирацията (sampling error), или грешки в интерпретацията. При доброкачествената категория препоръчаното клинично поведение е проследяване с ехографски контрол на 6-18 месеца след ТАБ. Повторна ТАБ може да се обсъди ако е налице „ значимо нарастване” на нодула при ехографско изследване (104).

- Б3/Атипия с недетерминирано значение или фоликуларна лезия с недетерминирано значение

Тази категория е хетерогенна и обхваща случаите с „атипични” цитоморфологични белези неубедителни за класификация в доброкачествената или някоя от другите категории. Рискът за малигненост свързан с тази категория е 5-15%.

Резултатите от редица проучвания показаха, че е необходимо по-добро дефиниране на критериите за определянето й. Особено важно е да не се допуска свръхдиагностициране в тази категория. Препоръчва се честотата й да не надхърля 7% от всички цитопатологични

категории (50, 107, 272). В извършен от Layfield и сътр. (272) анализ се посочва, че честотата на тази диагностична категория варира от 3.3% до 14.9%, като е налице значителна вариабилност между отделните институции, а също и между отделните цитопатолози. Някои автори докладват, че използването на тази диагностична категория е свързано с повишаване на чувствителността за откриване на неопластичните тиреоидни лезии и някои варианти на ПТК, с което се намалява честотата на фалшиво-негативните и фалшиво-позитивните цитологични резултати (404, 491). Клиничното поведение за тези случаи включва корелация с клиничните и ехографски белези и повторна биопсия на 3-6-я месец (158, 235, 371).

- Б4/Фоликуларна неоплазма или суспекция за фоликуларна неоплазма

Цитологичните критерии за поставяне на аспирата в тази категория са преобладаването на микрофоликуларни групи от клетки (50-75%), наличието на плътен вискозен колоид в центъра им, нерядко струпване на клетките и оформяне на трабекули, както и припокриване на ядрата. Наличието само на ядрен атипизъм не е критерий за поставяне на лезията в тази категория. Аспиратите, съдържащи чисти популации от онкоцитни клетки без данни за съпътстващ лимфоцитарен тиреоидит също се класифицират в тази категория.

При категоризацията в Б4 също са налице проблеми като в някои проучвания честотата й достига до 30% от адекватните тиреоидни аспирати (310). Релативният риск за малигненост за тази категория е 15-30%, но в някои проучвания се установяват значими вариации (82, 189, 314, 450). Въпреки, че се отличава с висока чувствителност за откриване на малигнени нодули, то специфичността й е много ниска. Най-общо, при 50-95% от пациентите с тази категория постоперативно се установява доброкачествена фоликуларна лезия (310). ФТК и ФВПТК са най-често диагностицираните хистологично злокачествени лезии. Клиничният алгоритъм за тази категория е хирургично лечение.

- Б5/Суспекция за малигненост

Тази категория включва случаите, при които е налице суспекция за малигненост (най-често ПТК), но липсват достатъчно цитологични белези за поставянето им в малигнената категория. Според някои автори релативният риск за малигненост е 75% (481), което е в контраст с установения риск за малигненост при Б4 категорията. Поради високия риск за малигненост поведението при пациентите с тази категория включва тотална

тиреоидектомия или лобектомия с интраоперативно изследване. Последното е от полза при около 30% от случаите с тази категория (48). Потвърждаването на малигнения характер на лезията при някои случаи може да определи извършването на едноетапна радикална тиреоидектомия със или без селективна лимфна дисекция.

- Б6/ Малигнена категория

В тази категория се включват 5-15% от всички тиреоидни пунктати, а рискът за малигненост достига 100%. Най-висока е диагностичната точност при диагнозата на ПТК, който от друга страна е най-честият ТК, следвана от тази при НДТК и АТК при съответна клинична корелация.

Цитологично, ПТК се отличава с характерни белези, които позволяват поставянето на точна диагноза (ядра с по-голям размер, овални, бедни на хроматин, ядрени вгъвания и интрануклеарни включвания). Най-надеждна за диагнозата му е комбинацията от отделните белези. Определянето на отделните варианти на ПТК е свързано с диагностични трудности и рядко се извършва в ежедневната практика.

- *Система на UK Royal College of Pathologists (RCPATH) за отговор на тиреоидната цитопатология, Великобритания (108)*

Ревизираната версия на диагностичната класификация на тиреоидната цитопатология на Великобритания (UK Royal College of Pathologists) бе публикувана през 2015 г. Тя се базира на предшестващата класификационна система, включваща 5 числови категории (Thy 1 до 5). В новата версия недетерминираната категория Thy 3 (възможна неоплазма) бе подразделена на 2 подкатегории - Thy 3a, която включва тиреоидните аспирати с цитологична ядрена или архитектурна атипия, или други белези, предполагащи неоплазма, но не достатъчни за поставяне в друга категория и Thy3f , предполагаща фоликуларна неоплазма, ФВПТК и лезиите с предоминиране на онкоцитни клетки. Оценката на интеробсървър вариациите при определяне на UK категориите показва добра корелация за Thy1 и Thy5 категориите, умерена корелация - за Thy2 и Thy3f, и слаба - за Thy3a и Thy4 категориите (258). Посочва се, че цитологичната диагноза се базира на субективна оценка на морфологичните характеристики, поради което вариабилността е неизбежна. Въпреки това, повишаването на локалния опит в тиреоидната цитология, извършването на експертни консултации и анализ на случаите с хистологична верификация биха довели до намаляване на несъгласуваността между отделните

цитопатолози. Разпределянето на случаите в групи, предполагащи необходимост от консервативно поведение (Thy1, Thy2, и Thy3a категориите) или хирургично поведение (Thy3f, Thy4, and Thy5 категориите) също показа добра корелация (291, 458). При случаите с Thy4 и Thy5 категории, както и тези с Thy3a категория на повторната ТАБ се препоръчва обсъждане от мултидисциплинарен екип за определяне на последващото поведение.

- *Италианска система за отговор на тиреоидната цитология*

Новата версия на Италианската класификационна система (2014) включва две съществени промени в сравнение с предшестващата версия от 2007 г (154, 406). Първата промяна се състои в подразделяне на недиагностичната категория в недиагностична (TIR1) и не-диагностична кистична (TIR1C), а втората – в разделяне на категорията (TIR3- тиреоидна фоликуларна пролиферация) в две подкатегории - TIR3A – ниско-рискова недетерминирана лезия (low-risk indeterminate lesion/LRIL) и TIR3B – високо-рискова недетерминирана лезия (high-risk indeterminate lesion/HRIL). Релативният риск за малигненост в TIR3 субкатегориите се базира на клиничния опит и само частично е подкрепен с данни, публикувани в литературата. Въпреки това, препоръките за поведение са сходни с тези на Бетезда системата- повторна ТАБ и клинично проследяване за TIR3A и оперативно – за TIR3B. Друга разлика от Бетезда системата е препоръката за употребата на дебело-иглена биопсия на лезията при случаите с повторна недиагностична категория, която позволява хистологично изследване, както и имунохистохимично изследване (83).

- *Японската класификационна система (238)*

В предложената класификационна система в Япония недетерминираната категория (фоликуларна неоплазма) е подразделена на 4 подкатегории, включващи: A1 (доброкачествена), A2 (гранична) , A3 (малигнена) и други (атипия при не-фоликуларни лезии) (238). Относно поведението, при случаите, класифицирани в субкатегорията фоликуларна неоплазма се препоръчва извършването на допълнителни визуализиращи и клинични изследвания преди взимането на дефинитивно решение.

6.7 Анализ на употребата на различните класификационни системи за отговор на тиреоидната цитопатология

Създаването на Бетезда системата за отговор на тиреоидната цитопатология, в която всяка диагностична категория е свързана с релативен риск за малигненост и съответен

алгоритъм за клинично поведение е значим напредък в областта на тиреоидната цитология. Бетезда системата постла пътя към употребата на стандартизирана терминология за отговор на тиреоидната цитопатология. В редица проучвания се показа нейния позитивен ефект върху цитологичната диагностика на тиреоидните нодули, клиничното поведение и приложението на молекулярните тестове (373). Понастоящем Бетезда системата се прилага не само в патологичните практики в Северна Америка, но също и в редица страни в Европа и Азия. Тя е предпочитаната система за рекласификация на цитологичните отговори в редица съвременни публикации фокусирани върху диагнозата, поведението и проследяването на пациентите с тиреоидни нодули на институционално ниво. Извършеният мета-анализ от Bongiovanni M и сътр. (66) през 2012, включващ 25 445 ТБ на тиреоидни нодули, от които 6 362 (25%) хистологично верифицирани, доказа нейната сигурност и валидираност. Изчислените чувствителност, специфичност и диагностична точност в анализа са 97%, 50.7 % и 68.8%, съответно.

Въпреки широката й употреба и сходство с другите класификационни системи, в редица проучвания се докладва за проблеми с употребата на Б3 и Б4 категории и свързания риск за малигненост (272, 371, 404, 427). Възоснова на техните резултати някои автори предложиха шестте диагностични категории да се обединят в четири, а други - Б3 категорията да се подраздели на подкатегории на базата на наличието на ядрени и/или архитектурни особености (371). Беше установено, че рискът за малигненост при случаите с Б3 категория е сходен и дори по-висок от този при случаите с Б4 категория (261,303, 371, 429). Straccia P и сътр.(427) извършват мета анализ на резултатите от 51 публикации за периода 2008-2014 г, свързани с категориите Б3 и Б4 и риска за малигненост при наличие на Хюртелови клетки. Те показват, че рискът за малигненост в Б3 категорията е по-висок в сравнение с този определен в Бетезда системата и сходен с този в Б4 категорията (31%). При диагностицирането на лезиите с онкоцитни клетки се налице трудности, определящи необходимостта от уточняване на критериите за класифицирането им в Б3 или Б4 категорията. Бъдещи проспективни проучвания ще покажат дали посочения в Бетезда системата риск за малигненост от 5% до 15% и препоръчаното поведение за повторна ТАБ при Б3 категорията не налага нуждата от нейното модифициране (383). Различията в терминологията на недетерминираната категория в класификационните схеми на Великобритания и Италия, както и докладваната интра- и

интервариабилност дори между експерти в областта на тиреоидната цитопатология, също отразяват нуждата от по-точна субкласификация на фоликуларните лезии.

През изминалата година Poller и сътр. (362) публикуваха анализ на предимствата и недостатъците свързани с употребата на отделните класификационни системи на тиреоидната цитопатология. Авторите обобщават, че използването на наличните терминологии от последните 10 години подпомага по-доброто разбиране характера на тиреоидните лезиите, позволява оценка на риска за малигненост и подобряват възпроизводимостта между патолозите, давайки възможност за самооценка на техните собствени резултати, но най-важното -те позволяват една опростена, но съгласувана комуникация между лекарите от различните специалности, отговорни за диагнозата и лечението на пациентите с тиреоидни нодули. От една страна, използването на унифицирана международна система за класифициране на тиреоидната цитопатология е идеалната опция, но от друга - промяната в съществуващите национални терминологии, както е в Италия и Великобритания, не е препоръчително. В страните, в които няма утвърдена национална терминология, взимането на решение за използване на някоя от вече международно признатите терминологии ще е от полза. В редица страни по света Бетезда системата бе адаптирана изцяло. Сравнението на категориите между отделните системи е необходимо да се извършва внимателно. В някои публикации анализът на риска за малигненост определен при директното прехвърлянето на използваната национална терминология към тази на Бетезда системата може да доведе до недостоверни резултати. Въпреки, че според Бетезда системата и Италианската класификация предложените алгоритми за поведение са аналогични, то в Британската система при случаите, категоризирани като недетерминирани, суспектни за малигненост и малигнени се препоръчва мултидисциплинарно обсъждане за уточняване на правилното поведение.

В обобщение: През последните десетилетия извършването на ТАБ под ехографски контрол, както и нарастналия опит на цитопатолозите в областта на тиреоидната цитология доведе до увеличаване на диагностичната точност на метода и редукция на броя на тиреоидектомиите извършвани за доброкачествени тиреоидни нодули. Цитологичното изследване на тиреоидните нодули е универсален, цена-ефективен и утвърден диагностичен метод за оценка на тиреоидните нодули. Извършването на допълнителни изследвания (имунохистохимични и молекулярни тестове) изглежда е

единственото решение за намаляване на броя на случаите с недетерминирана цитология. Развитието на молекулярната диагностика в бъдеще се очаква да оптимизира и увеличи диагностична точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули.

7. Заключение

Данните от многобройните проучвания показват ясно значението на акуратната хистологична и цитологична диагностика в съвременния мултидисциплинарен подход на поведение при тиреоидните нодули. През последните години бе направен значим напредък в изучаването на хистологичната, имунохистохимичната и молекулярна характеристика на отделните видове и подвидове тиреоиден карцином. Натрупаха се много нови данни за диагностичното и прогностично значение на различни клинико-патологични фактори, включващи възраст, пол, отделни хистологични варианти и степен на диференциация на тиреоидния карцином, съдова инвазия, големина на метастатичните лимфни възли, наличие и обхват на екстранодалното и/или екстратиреоидно разпространение, съчетанието с автоимунен тиреоидит и други. Оценката на всички тези фактори подобрява стратификацията на риска за тумор-асоциирана смъртност и особено на появата на рецидив и/или по-агресивно поведение на тумора, имащи значение при определяне на последващото постоперативно лечение и мониториране на пациентите със злокачествени тиреоидни тумори. Установено е диагностичната и прогностична роля на различни имунохистохимични и молекулярни маркери. Въпреки многобройните и дългогодишни усилия на редица изследователи, все още има редица неизяснени въпроси относно клиничното приложение и значение на тези факти. В редица проучвания се дискутират трудностите при диференциалната диагноза на някои от туморите с фоликуларен строеж, включваща фоликуларен аденом, фоликуларен карцином или фоликуларен вариант на папиларния тиреоиден карцином. Доказателство за този проблем са докладваната интер- и интраобсървър вариабилност при диагнозата на отделни случаи, дори между експерти в тиреоидната патология. Въпреки, че приложението на отделни имунохистохимични маркери подпомага диагнозата, понастоящем липсва 100% сигурен и специфичен маркер. Клиничното значение на някои от микроскопските вариантите на ПТК, особено тези агресивните варианти на ПТК, които са са редки, също е обект на дискусия.

С широкото използване и техническото усъвършенстване на визуализиращите методи, на първо място ехографското изследване на шията, честотата на откриване на субклиничните, непалпируеми нодули значително нарастна, надхвърляща 50% при жени над 60-годишна възраст. През последните години ТАБ под ехографски контрол с последващо цитологично изследване се утвърди като метод на избор в съвременната диагностика на тиреодните нодули, чиято основна индикация е своевременна диагноза на тиреоидния карцином и подбор на пациентите за хирургическо лечение. От друга страна, в редица публикации се посочва, че широката употреба на този метод е една от причините за нарастващата честота на тиреоидния карцином (основно папиларния микрокарцином) в страните с активен скрининг на тиреоидните нодули. Нарастналият брой на извършваните биопсии, както и опита на цитопатолозите в областта на тиреоидната цитология доведе до увеличаване на диагностичната точност на метода и определи нуждата от използване на унифицирана и стандартизирана терминология за докладване на цитологичните резултати. Предложените през последните 10 години международни системи (Бетезда системата за отговор в тиреоидната цитопатология, ревизираните Британска, Италианска, Австралийска и Японска) показват съгласуваност по отношение на терминологията и класификацията на тиреоидната цитопатология. Наличието и употребата на „недетерминираната" цитология е общоприето, въпреки относително ниската съгласуваност между цитопатолозите при употребата й. В редица проучвания се докладва за трудности при класифициране на тиреоидните аспирати в отделните недетерминирани за малигненост диагностични категории и определения риск за малигненост.

Години наред редица български изследователи са работили по различни направления в областта на хистологичната и цитологична диагностика на тиреоидните нодули (1-13, 15-26), извършвани са периодични анализи, но липсва обобщена системна и задълбочена обработка. В тази насока е настоящият труд – да се характеризират злокачествените тиреоидни нодули според съвременната хистологична класификация и да оценим значението и диагностичната стойност на цитопатологичното изследване на тиреоидните нодули в един клиничен център за последните 20 години.

III. Ц Е Л И З А Д А Ч И

1. ЦЕЛ

Целта на настоящата работа бе да характеризираме злокачествените тиреоидни нодули според съвременната хистологична класификация и да оценим значението и диагностичната стойност на цитопатологичното изследване за определяне на малигнения им потенциал.

За изпълнение на горепосочената цел си поставихме следните задачи:

2. ЗАДАЧИ

I. Да се извърши проспективно-ретроспективен анализ на честотата и особеностите на отделните видове злокачествени тумори на щитовидната жлеза и се оцени динамиката за период от 20-години

II. Да се извърши проспективно-ретроспективен анализ на честотата и особеностите на отделните варианти на папиларния тиреоиден карцином и се оцени динамиката за период от 20-години

III. Да се характеризират особеностите на рядък подвариант на фоликуларния вариант на папиларния тиреоиден карцином

IV. Да се характеризира екпресионно-генетичния профил на папиларния тиреоиден карцином при български пациенти

V. Да се характеризират особеностите и да се анализира цитологичната диагностика на тиреоидните нодули в динамика за период от 20 години

VI. Да се извърши цитологично-хистологична верификация и се оцени диагностичната точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули за период от 20 години

V. М А Т Е Р И А Л И М Е ТО Д И

I. ИЗСЛЕДВАНИ ЛИЦА

В проучването са включени общо 9342 лица с тиреоидни нодули, изследвани цитологично и/ или хистологично в Клиничен Център по ендокринология, МУ, София за периода 1996 - 2015 г, разпределени в следните основни групи:

- 1532 болни със злокачествени тумори на ЩЖ, оперирани и хистологично диагностицирани (мъже-274, жени -1258). Средната възраст на изследваните пациенти бе 46.44 ± 15.19 г., от 7-83 г. Хистологичната диагноза е поставена на трайни препарати, оцветени с ХЕ и специални оцветявания (VG, Kongo и други) и/или имунохистохимични изследвания (тиреоглобулин, TTF, цитокератин 19, калцитонин, CEA, CD20 и др.) при неоходимост. При 477 болни бе налице предоперативна цитологична диагноза.
- Клинико-патологична характеристика и имунохистохимични изследвания с различни маркери бе извършена при 10 случая с дифузен/ мултинодуларен фоликуларен вариант на папиларния тиреоиден карцином (ФВПТК), 25 случая с класически вариант на ПТК и 8 случая с типичен ФВПТК.
- Характеристика на генно-експресионния профил чрез олигонуклеотиден експресионен метод на замразен материал при 18 случая с ПТК
- 8287 пациента с ТБ под ехографски контрол и цитологично изследване на лезии на ЩЖ (мъже- 1061, жени -7226). Средната възраст на цитологично изследваните пациенти бе 51.10±14.60 г, от 5 до 89 г. Ехографската диагноза на всички пациенти с ТБ на лезии на ЩЖ е дадена на табл. 11. От тях при 478 пациента ТБ бе извършена едновременно на нодул/нодули в щитовидната жлеза и на установен ехографски променен лимфен възел, а при други 59 случая - на възел в щитовидната жлеза и суспектната паратиреоидна лезия. Цитологичната диагноза при всички биопсирани (тиреоидни и екстратиреоидни) лезии бе поставена на базата на цитологичните находки в цитонамазките, оцветени с MGG.

  Цитологично-хистологична верификация бе извършена при 726 болни (мъже 120, жени 606, средна възраст 47.28±14.96 г, от 10 до 81 г.). При 249 от лицата с предоперативно цитологично изследване хистологичната диагноза бе доброкачествена, а при останалите 477 случаи –злокачествена.

Таблица 11. Ехографска диагноза и вид на ТБ според локализацията на цитологично изследвани пациенти с тиреоидни нодули за 20-годишния период на проучване

Ехо диагноза		ТБ-локализация			Общо
		ЩЖ	ЩЖ+ЛВ	ЩЖ+ПЩЖ	
Нодозна струма	n	6012	350	51	6413
	%	78	73	86	77
ТХ-нодозен вариант	n	1355	113	7	1475
	%	17	24	12	18
Базедова болест	n	303	8	0	311
	%	4	2	0	4
Подостър тиреоидит	n	80	7	1	88
	%	1	1	2	1
Общо	n	7750	478	59	8287

II. ИЗПОЛЗВАНИ МЕТОДИ

Проведохме следните изследвания**:**

1. Обработка на клинико-морфологичните (хистологични и цитологичните) данни за периода на проучването

Чрез насочено търсене в хистологичните журнали издирихме всички пациенти със злокачествено тиреоиден тумор, оперирани в Клиниката по ендокринна хирургия, УСБАЛЕ „Ак. Иван Пенчев" за периода на проучването. За целите на анализа отбелязвахме следните данни: име и инициали, пол и възраст на пациента, биопсичен и ИЗ номер, макроскопски и хистологичен вид на тумора, изследвани лимфни възли или други екстратиреоидни лезии, отбелязана информация (номер на ТБ) за предоперативно цитологично изследване.

Чрез насочено търсене в цитологичните журнали идентифицирахме всички пациенти, на които е направена ТБ под ехографски контрол на тиреоиден нодул/нодули самостоятелно или в комбинация с биопсия на лимфни възли или суспектна паратиреоидна лезия в Клиниката по заболявания на щитовидната жлеза и калциево-фосфорната обмяна, УСБАЛЕ „Ак. Иван Пенчев". За целите на анализа отбелязвахме следните данни: име и инициали, пол, възраст на пациента, локализация и брой на биосираните лезии в ЩЖ и

екстратиреоидно, брой на изпратените цитонамазки и поставената цитологична диагноза. За хистологична верификация на цитологичния резултат извършихме щателно издирване на пациентите с едновременно предоперативно цитологично и постоперативно хистологично изследване чрез откриване на съвпадение на имената им в цитологичните и хистологични журнали, както и чрез електронната база данни на отделните клиники на УСБАЛЕ „Ак. Иван Пенчев", съдържаща информация от 2005 г. до днес. За целите на цитологично-хистологична верификация на пациентите с доброкачествена, както и на тези със злокачествена хистологична диагноза, също отбелязахме следните данни: име, пол и възраст, цитологична и хистологична диагноза, съвпадение между тях.

2. Хистологично изследване

Хистологичните видове и подвидове на всички злокачествени тиреоидни тумори определихме чрез прилагане на критериите на съвременната хистологична класификация на СЗО, 2004 г (124). Накратко:

Хистологичната диагноза на ПТК се базираше на наличието на отличителните белези на ядрата, включващи следните характеристики- светли, тип матово стъкло ядра, по-големи от тези на нормалните фоликуларни клетки, припокриващи се, с еозинофилни вдреядрени включвания и/или лонгитудинални вгъвания на ядрената мембрана. На табл. 12 и фиг. 3, а-з са показани критериите и характерните хистологични белези, които използвахме при определяне на отделните микроскопски варианти на ПТК.

Хистологичната диагноза на ФТК поставихме при тумори с фоликуларен строеж и липса на ядрените белези на ПТК, при които е налице минимална капсулна/съдова инвазия (минимално инвазивен ФТК) или обширни зони на екстракапсулна туморна инфилтрация и съдова инвазия (инвазивен ФТК) (фиг.4). Хъртелов вариант на ФТК диагностицирахме при наличие на онкоцитни клетки в над 70% от тумора.

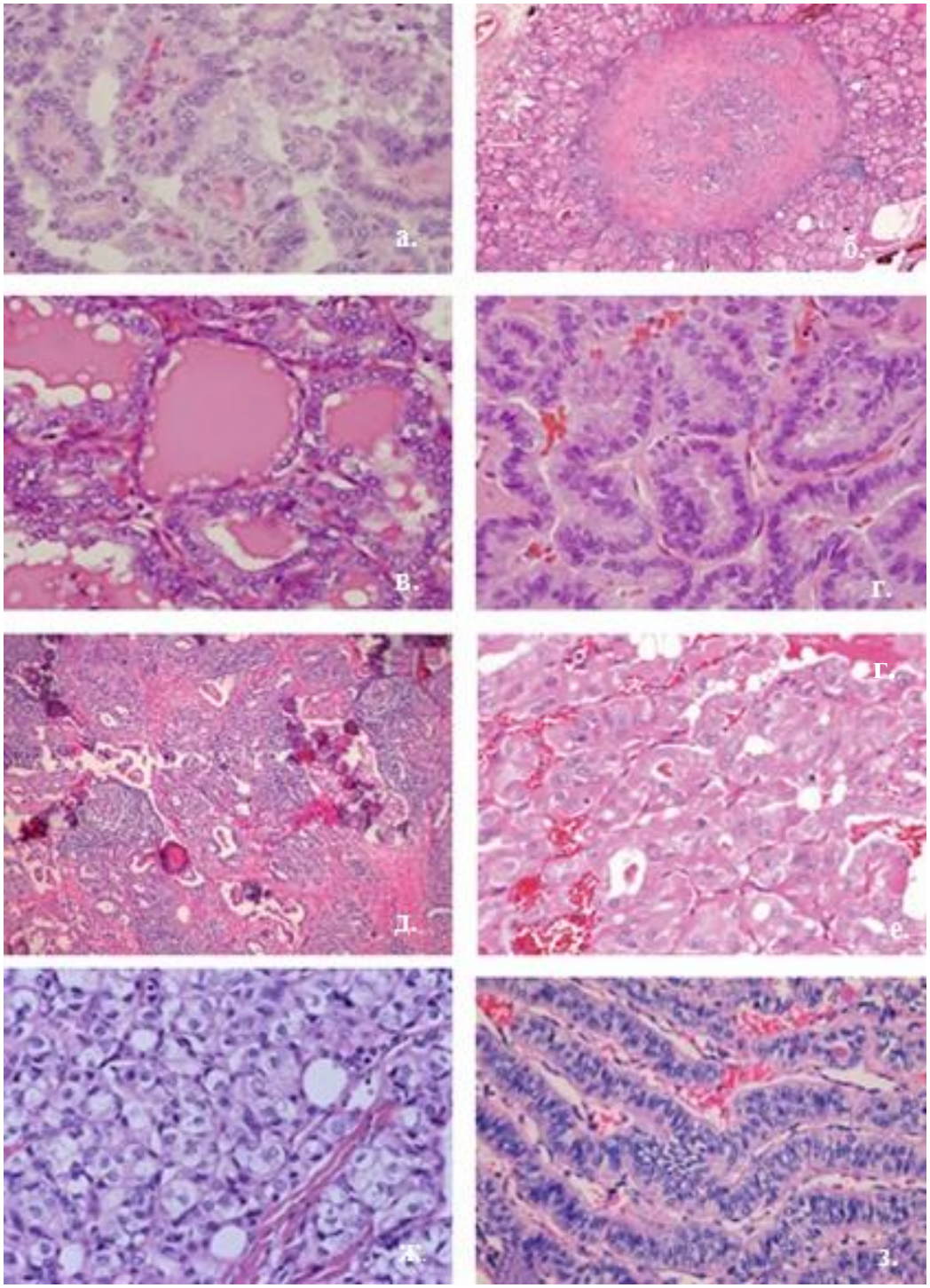
Хистологичната диагноза на НДТК определихме при наличие на тумор произлизащ от фоликуларните тиреоидни клетки със следните белези: голям размер на тумора, често с екстратиреоидна инвазия, солиден, трабекуларен или инсуларен строеж, наличие на некрози и повишена митотична активност (>3 митози/10 HPF); наличие на клетки с малки, хиперхромни с неправилна форма ядра и липса на ядрените белези на ПТК (фиг.5).

Недиференциран (анапластичен) карцином диагностицирахме при наличие на тумори (най-често нерадикално остстранени, биопсия) с обширни зони на некроза, хеморагии и

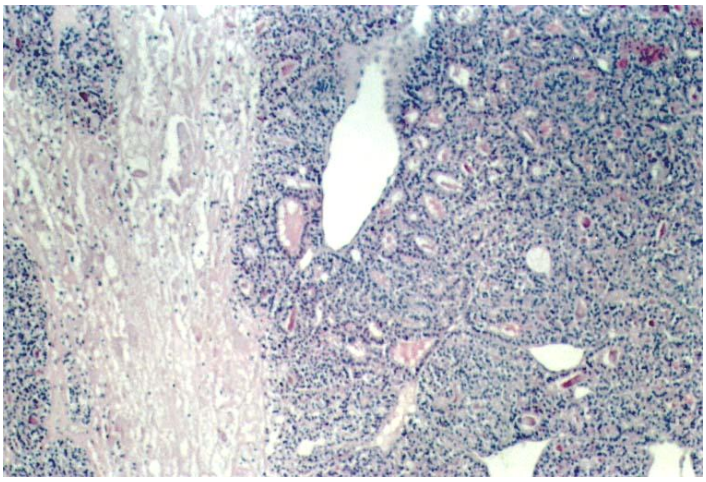
клетки с изразен клетъчен и ядрен полиморфизъм (вретеновидни, полигонални, гигантски клетки тип остеокласти). За потвърждаване на тиреоидния произход на тумора при някои от случаите с НДТК и АТК извършвахме имунохистохимични изследвания с маркерите TTF-1 и тиреоглобулин.

Таблица 12. Диагностични критерии, използвани при определяне на вариантите на папиларния тиреоиден карцином

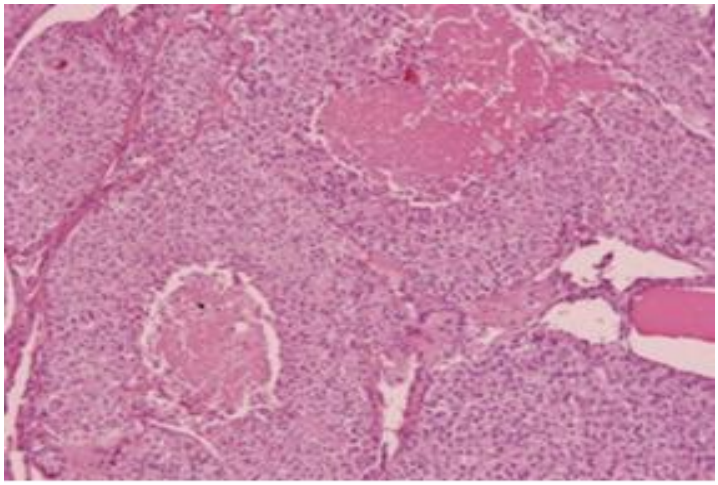
Варианти на ПТК	Диагностични критерии
Класически ПТК	Размер > 1 cm, наличие в над 50% папиларни по структура пролиферации
Папиларен мкрокарцином	Размер ≤ 1 cm
Фоликуларен вариант	> 50% фоликуларен строеж на тумора, капсулиран/инвазивен –при наличие на фиброзна капсула или инфилтративен растеж на тумора
Tall-cell вариант	> 50% от клетките –високи, цилиндрични с височина надвишаваща 2 -3 пъти ширината им
Дифузен склерозиращ вариант	Дифузен туморен растеж в ЩЖ, изразени фиброза илимфоцитна инфилтрация, множество псамомни телца
Онкоцитен вариант	> 50% от клетките с онкоцитна цитоплазма
Солиден вариант	> 50% от тумора със солиден и трабекуларен строеж
Цилиндрично-клетъчен вариант	Наличие на цилиндрични клетки със стратифицирани ядра
Warthin-like вариант	Наличие на плътна лимфоцитна инфилтрация в ствола на папиларните пролиферации



Фигура 3 а-з. а. Класически ПТК; б. Папиларен микрокарцином; в. ПТК –фоликуларен вариант; г. ПТК -tall-cell вариант; д. ПТК –дифузен склерозиращ вариант; е. ПТК – онкоцитен вариант; ж. ПТК-солиден вариант; з. ПТК-цилиндрично-клетъчен вариант.

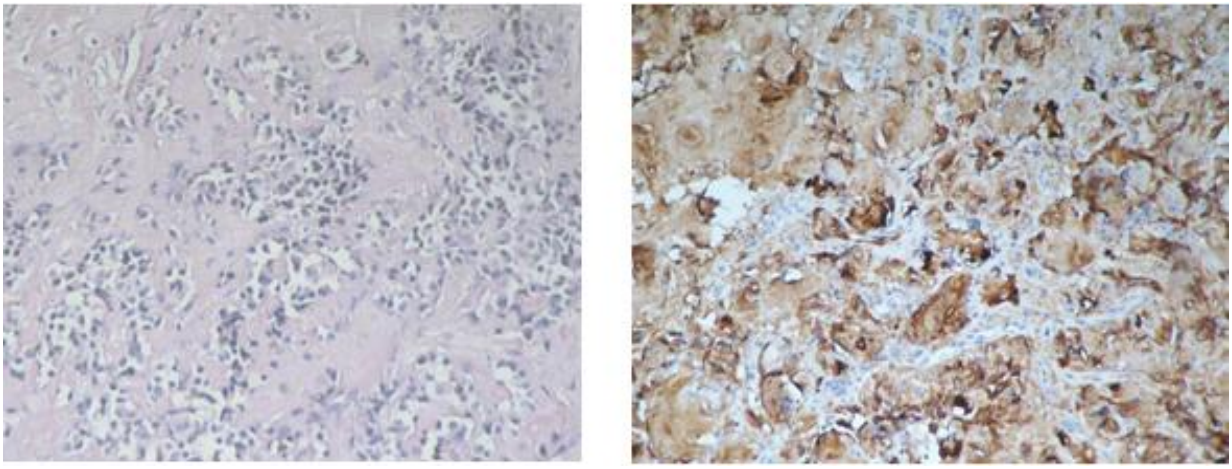


Фигура 4. Фоликуларен тиреоиден карцином – инвазивен вариант (ХЕ).



Фигура 5. Нискодиференциран тиреоиден карцином (ХЕ).

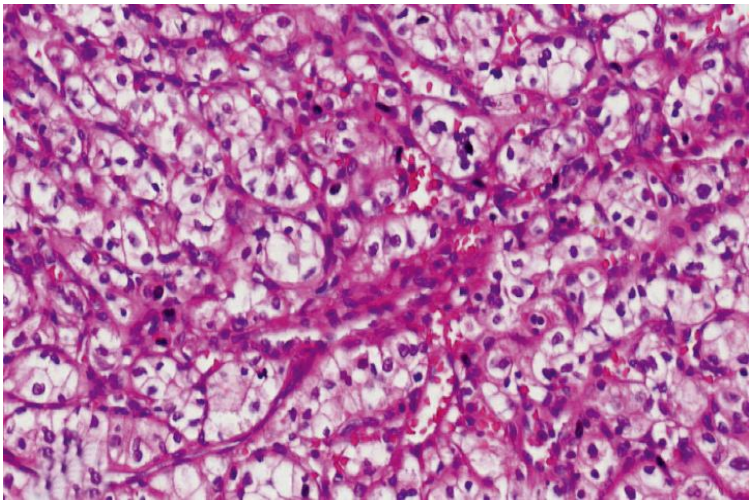
Хистологичната диагноза на МТК се базираше на наличието на инфилтриращ тиреоиден тумор със солиден/ гнезден строеж, съставен от полигонални или вретеновидни клетки с с овални ядра с дребно-зърнест хроматин (тип „сол и пипер”) и стромна дезмопластична реакция, често с амилоидни депозити (фиг.6). При всички случаи извършвахме потвърждаване на диагнозата с имунохистохимично изследване на експресията на калцитонин и някой от невроендокринните маркери хромогранин и синаптофизин и/или повишени серумни нива на калцитонина.



Фигура 6. Медуларен тиреоиден карцином –хистология (ХЕ) и експресия на калцитонин в туморните клетки (ИХХ)

Хистологичната диагноза първичен или вторичен лимфом на ЩЖ поставяхме на базата на наличието на туморна инфилтрация ЩЖ от монотонни дребно-, средно- или едроклетъчна лимфоидни клетки при клинични данни за съпътстващ автоимунен тиреоидит или нодален лимфом. За потвърждаване на диагнозата и извършване на имунофенотипизация на лимфома насочвахме пациентите към специализирана хематопатологична лаборатория.

Хистологичната диагноза метастатичен/инфилтриращ отвън карцином поставяхме при наличие на тумори, които по своя строеж и цитологични белези се различават от тези на най-честите видове първичен тиреоиден карцином при съпоставка с клиничните данни за анамнеза и/или находки суспектни за първичен карцином с друка локализация (фиг.7). При тези случаи извършвахме имунохистохимични изследвания с маркери отговарящи на имунофенотипа на първичния карцином. Хистологичната диагноза на някои редки мезенхимните тумори на ЩЖ поставихме при наличие на тумор с дифузен строеж, съставен предимно от удължени клетки, с или без повишена митотична активност и задължително след имунохистохимични изследвания с маркери, доказващи произхода на тумора.



Фигура 7. Метастатичен бъбречен карцином (ХЕ).

При всички случаи с хистологично доказан тиреоиден карцином определихме следните клинико-патологични показатели:

- Възраст и пол на пациента

  За целите на анализа разделихме пациентите на 2 групи - < 45 г и > 45 г
- Размер на тумора, екстратиреоидна инвазия и мултифокалност на тумора

  При всички тумори определихме диаметъра на тумора в cm, наличието или не на микроскопска екстратиреоидна капсулна инвазия, както и наличието на мултифокалност (Tb). При наличие на мултифокалност, стадият на тумора определеляхме според размера на най-голямото туморно огнище.
- Нодален статус - наличие и вид на хистологично доказани метастази в лимфните възли според степента на разпространението (pN1a/b)
- Патохистологичен стадий на тумора (pTN)

  Патохистологичното стадиране на всички тиреоидните карциноми е извършено според 6-та версия на TNM класификацията, предложена от IUCC/AJCC, 2004 г (табл. 13). За целите на анализа при всички тумори, диагностицирани преди тази версия бе извършено престадиране на Т стадия поради съществени разлики с предшестващата стадираща система (Т1- тумори с размер ≤ 1 cm и Т4 стадий – тумори с микроскопска екстратиреоидна капсулна инвазия).
- Оценка на наличието на лимфоидни инфилтрати/хроничен лимфоцитарен тиреоидит в съседство на тумора и останалия паренхим на ЩЖ (само при случаите с ПТК).

Таблица. 13. TNM класификация на тиреоидния карцином (124).

T- първичен тумор
Tx- първичен тумор не е изследван
T1 - ≤ 2 cm, в ЩЖ
T2 - > 2 и ≤ 4 cm, в ЩЖ
T3 - > 4 cm и тумор с всякакъв размер с данни за минимална екстратиреоидна инвазия (перитиреоидни меки тъкани)
T4a - тумор с всякакъв размер извън тиреоидната капсула, с инвазия в покожните меки тъкани, ларинкс, трахея, рекурентните ларингеални нерви
T4b - при инвазия на превертебралната фасция, каротидната артерия или медиастинални съдове
Регионални ЛВ (N)
NX - не са изследвани ЛВ
N0 - няма метастази в ЛВ
N1 - има метастази в ЛВ
N1a: метастази до ниво IV (претрахеални, паратрахеални, преларингеални) ЛВ
N1b: метастази в унилатерални, билатерални или контралатерални ЛВ или в ЛВ в горния медиастинум
Далечни метастази (M)
MX – не са изследвани далечни метастази
M0 - няма далечни метастази
M1 - има далечни метастази

В допълнение, за оценка динамиката в честотата на хистологично диагностицираните видове тиреоиден карцином и отделните му клино-патологични характеристики получените резултати анализирахме както за отделните години на периода на проучването, така и при обединяване на им за по-голям интервал от време – за 5 и 10-годишен период, съответно.

Доброкачествените хистологични диагнози на пациенти с цитологично-хистологичната верифкация, както и критериите за поставянето на диагнозата са показани на табл. 14.

Таблица 14. Видове доброкачествени тиреоидни заболявания и диагностични критерии при пациентите с цитологично-хистологична верификация.

Доброкачествена хистологична диагноза	Диагностични критерии
Нодозна фоликуларна струма	Наличие на повече от един тиреодни нодули, със слабо или добре очертана капсула, със сходен строеж на фоликулите в и извън капсулата, липса на ядрени белези на ПТК
Фоликуларен аденом	Солитарен капсулиран тумор с фоликуларен/трабекуларен строеж без капсулна и/или съдова инвазия, липса на ядрени белези на ПТК
Автоимунен тиреоидит, нодозен вариант	Наличие на дифузна лимфоидна инфилтрация с герминативно-клетъчни центрове на ЩЖ и Хъртелово-клетъчна метаплазия на фоликуларните клетки + нодули с различен строеж и клетъчен състав; липса на ядрени белези на ПТК
Базедовифицирана струма (клинични данни)	Наличие на нодули с или без огнищни белези за функционална активност и/или лимфоидни инфилтрати; липса на ядрени белези на ПТК

3. Характеристика на рядък подвариант на ФВПТК

Клинико-патологична и имунохистохимична характеристика на рядък подвариант на ФВПТК бе извъшена в Института по молекулярна патология и имунология при Университета на Порто, Португалия (IPATIMUP) (281). В серия от ПТК, оперирани и хистологично диагностицирани през периода 1997-1998 г в УСБАЛЕ" Ак. Иван Пенчев" определихме 10 случая като дифузен(или мултинодуларен) фоликуларен вариант на ПТК на базата на следните критерии: туморна инфилтрация на цялата щитовидна жлеза или единия лоб; цялостно или почти цялостно доминиране на фоликуларен строеж на тумора; липса на псамомни телца; липса на фиброза; липса/ минимална лимфоцитна инфилтрация. Клинико-патологичната характеристика на тези случаи извършихме чрез оценка на следните параметри: възраст при поставяне на диагнозата; пол; размер на тумора (диаметър на най-големия нодул); мултицентричност (синоним на интратиреоидна дисеминация); екстратиреоидна инвазия; метастази в лимфните възли и съдова (венозна) инвазия. За сравнение същите показатели оценихме при 25 случая с хистологично доказан класически вариант на ПТК и 8 случая с типичен фоликуларен вариант на ПТК.

Имунохистохимия

Експресията на urokinase-type plasminogen activactor-receptor (uPA-R), Lewis type-2 histo-blood group antigens (Lewis X, sialyl Lewis X) и MIB-1 бе изследвана чрез имунохистохимия при всички случаи с дифузен ФВПТК (*n*=10) и типичен ФВПТК (*n*=8) и при 8 от случайно подбраните случаи с класически ПТК. Имунохистохимичният анализ бе извършен чрез използване на авидин-биотин-пероксидазния метод. Накратко, хистологични срезове (4-μm дебелина) от парафиновите блокчета бяха монтирани върху желатин-покрити стъкла. Срезовете определени за изследване експресията на Sialyl Lewis X бяха промити трикратно в phosphate-buffered saline (PBS) и инкубирани с neuraminidase от *Clostridium perfringens* type VI (Sigma, Mo.), разредена с 0.1-M sodium acetate buffer, pH 5.5 до получаването на желаната концентрация (0.1 U/ml), след което последва инкубиране за 2 h на 37°C и трикратно промиване в ледена вода. За блокиране на ендогенната пероксидазна активност всички срези бяха инкубирани с 0.3% v/v H2O2 в метанол за 30 min, след което - за 20 min с нормален имунен серум (1:5 разреждане с Tris-buffered saline/TBS), съдържащ 25% говежди серумен албумин (BSA) за елиминиране на не-специфичното оцветяване. Излишния нормален серум бе отстранен и заместен със специфичните моноклонални антитела, с които бе извършена инкубация до следвашата сутрин при 4°C. Впоследствие срезите бяха подложени на инкубация (всяка по 30 min) с биотин -белязано вторично антитяло (1:200 разреждане) и авидин-биотин-пероксидазен комплекс, и последващо оцветяване с 0.05% diaminobenzidine, прясно приготвен в 0.05% Tris buffer, pH 7.6, съдържащ 0.01% hydrogen peroxide. Най-накрая срезите бяха контраоцветени с хематоксилин. Разрежданията на първичните антитела, биотин - белязаното вторично антитяло и авидин-биотин-пероксидазния комплекс бяха направени с TBS съдържащ 12.5% BSA.

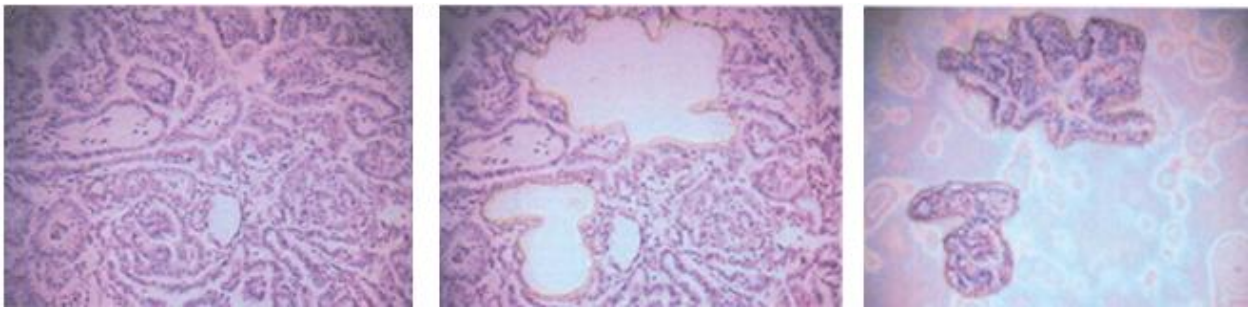
Негативни и позитивни контролни изследвания бяха извършени при оценка на експресията на различните първични антитела. Експресията на uPA-R, Lewis X и sialyl Lewis X бе оценена като позитивна и негативна, а процентът на позитивните клетки бе преценен полуколичествено чрез класифициране в следните категории: 0–при 0 до 5%; 1–при 5 до 25%; 2–при 25 до 50%; 3–при 50 до 75% и 4+ - при повече от 75% позитивни клетки. Интензивността на имунната реакция определихме като липсващ (0), слаба (1),умерена (2), или силна (3). При всички случаи и за всеки маркер, изчислихме

оцветителен скор, умножавайки стойността на процента позитивни клетки х тази на интензивността. Пролиферативната активност на тумора определихме по процента на имунореактивни клетки за MIB-1 при преброяване на 1000 туморни клетки на сляпо подбрани полета.

4. Олигонуклеотиден екпресионен микрочипов анализ за характеризиране на генно-експресионният профил на ПТК

Генно-експресионният профил на ПТК бе изследван чрез олигонуклеотиден екпресионен микрочипов анализ на замразена туморна тъкан. Част от тумора след хирургичната резекция бе фиксиран незабавно в TissueTek OCT medium (Sakura, Tokyo, Japan) и съхраняван на -80˚C. Всички изследванията са извършени в Лабораторията по Молекулна Медицина, Човешки Геномен Център, Токийски Университет, Токио, Япония по съвместен проект на Катедрата по медицинска генетика, МУ-София (16, 337).

С цел получаване на прецизен генно-експресионен профил на туморните клетки на ПТК спрямо нормалните фоликуларни епителни клетки, извършихме пречистване и селекция на клетъчните популации чрез техниката на лазерна микродисекция. Криостатни срези (с дебелина 8-μm) са оцветени с H&E за хистологично изследване. Тиреоидни туморни клетки, както и нормални фоликуларни клетки са селекционирани, използвайки ултравиолетов narrow beam-focus laser (SL Microtest GmbH,Jena, Germany) според протокола на производителя (фиг. 8). Изолираната РНК от микродисецираните нормални тиреоидни епителни клетки от общо 13 случая бе смесена и използвана като „универсална контрола" за всички туморни проби.



Фигура 8. Лазерна микродисекция на случай с ПТК. а) ПТК преди дисекцията; б) ПТК след след дисекцията; в) селекционирани туморни клетки върху прозрачния филм за трансфер на повърхността на тъканния срез (ХЕ оцветяване).

Методът на олигонуклеотидния експресионен анализ се състои в последователна двустепенна амплификация на изолираната първоначална РНК до кДНК, която се хибридизира върху използвания от нас олигонуклеотиден чип GeneChip U133Plus2.0 (Affymetrix). Хибридизацията бе извършена според прокола на фирмата Affymetrix. Изходното количество на РНК за амплификация е от 10-100 ng тотална РНК, като в настоящето проучване за амплификация на контролните проби изходното количество РНК е 10 ng, а за амплификация на туморните проби изходното количество РНК е 50 ng. кРНК се синтезира върху новополучената верига на кДНК чрез добавяне на биотиново белязани нуклеотидтрифосфати и полимеризацията на принципа на комплементарността. Биотинът се детектира чрез свързване с авидини (авидин или стрептавидин), при което се генерира флуоресцентно светене. Процесът на измерване на генната експресия чрез олигонуклеотидни чипове е известен още като "експресионен анализ" или "експресионно профилиране". Чипът GeneChip U133Plus2.0 (Affymetrix) съдържа повече от 54, 000 двойки проби, съответстващи на повече от 47,000 транскрипти и около 38,500 добре-характеризирани човешки гени. Върху чипа различните двойки проби дават възможност за множествени, независими измервания за всеки транскрипт. ДНК секвенциите на всички двойки проби, представени върху чипа, са селектирани от широко известните бази данни GenBank, dbEST и RefSeq. Олигонуклеотидните проби, комплементарни на всяка кореспондираща секвенция, са синтезирани in situ върху чипа. 11 двойки олигонуклеотидни проби се използват за измерване на нивото на транскрипция на всяка секвенция, представена върху U133 Plus 2.0 и скенирани чрез използване на конфокален лазер GeneChip scanner 3000 (Affymetrix).

Данните, които са получени при сканирането на експресионния чип са обработени с помощта на софтуеърната програма GeneChip Operating System (GCOS software). Програмата представя абсолютните стойности на интензитета на сигнала от всеки район на олигонуклеотидния чипа. Цялостната нормализация при таргетна стойност 500 бе извършена автоматично и бе приложена спрямо всички 19 микрочипа (18 - с ракова РНК от ПТК и 1 –контролен, нормални фоликуларни клетки), като сканираните данни от текстовите файлове са внесени за обработка в системата Microsoft Excel. За целите на анализа селектирахме гените, които бяха отчетени от програмата като статистически значими (експресия над нивото на фоновия шум) при повече от 50% от изследваните

случаи (поне 9 от 18-те тумора). Гените, чието експресионно съотношение r (карцином/нормални тиреоидни клетки) бе по-голямо от 5.0 при повече от 50% от информативните случаи, бяха считани за повишени или свръхекспресирани и обратно, гените (или генните транскрипти), чието експресионно съотношение бе по-малко от 0.2 при повече от 50% от информативните случаи, бяха дефинирани като понижени или гени с понижена експресия в туморните проби.

Допълнително определихме дялът на С-клетките сред популацията от нормалните тиреоидни клетки чрез измерване на сигналния интезитет на *CALCA*(Calcitonin), специфичния хормон за тези клетки. При сравняване на сигналния интезитет на този ген в общата нормална тиреоидна тъкан с този в микродисецираните нормални фоликикуларни. епителни клетки, установихме че дялът на С-клетките в проучваната от нас популация е ~2.6%.

5. Цитологично изследване на тиреодните нодули, лимфните възли и суспектните паратиреоидни лезии

- Категоризация на цитологичния отговор на ТБ на тиреоидните нодули според предложена от нас (институционална) система

Цитологичните резултати на всички пациенти, при които е извършена ТБ на тиреоиден нодул/нодули за периода на проучването (n=8287) бяха категоризизиран на базата на извършената цитологична интерпретация в 5 диагностични групи: 1.Недиагностична (неадекватна); 2. Доброкачествена; 3. Недетерминирана/фоликуларни пролиферации; 4. Суспектна за малигненост; 5. Малигнена. Използвахме следните критерии:

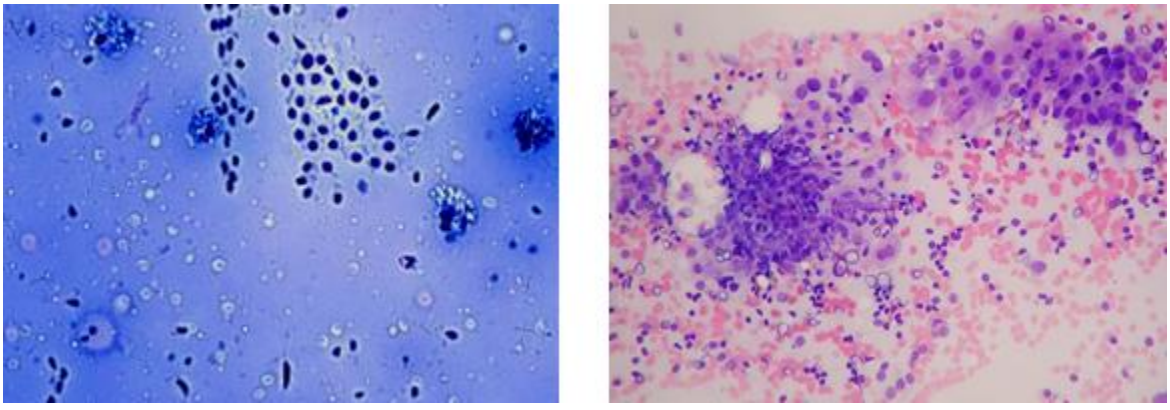
1. Недиагностична (неадекватна) цитология: Цитологичният аспират бе категоризиран като неадекватен в случаите с предоминиране на кръвните елементи, липса на колоид и фоликуларни клетки, както и при недостатъчен брой групи от клетки (поне 6) в минимум 2 препарата.

Поведение при случаите с тази категория бе повторна ТБ на нодула, а при тези с недиагностична категория на ребиопсията обсъждахме необходимостта от хирургия резекция.

2. Доброкачествена цитология: В тази група включихме случаите, при които липсват цитологични белези за малигненост, но съвместими с диагнозата на колоиден/аденоматозен нодул, колоидна киста лимфоцитарен тиреоидит на Хашимото,

подострия (грануломатезен) тиреоидит, Базедовата хиперплазия и други (фиг. 9). Цитологичната диагноза на колоидните/аденоматозни нодули се базираше на наличието на колоид (най-често преобладаващ) и единични и на групи (повлекла тип „пчелна пита”), с и без макрофоликули от фоликуларни клетки без атипични белези. При наличие на съответни ехографски данни, случаите с преобладаване на колоид и макрофаги, дори при липса или неадекватен брой фоликуларни клетки, диагностицирахме като колоидна киста. Диагнозата на лимфоцитарния тиреоидит на Хашимото се базираше на наличието на множество лимфоидни клетки, включително такива характерни за герминативния център на лимфните фоликули, както и на единични онкоцитни фоликуларни клетки. Диагнозата на подострия тиреоидит се базираше на наличието на умерено изразен целуларитет на аспирата, клетъчен дебрис, фоликуларни клетки с дегенеративни/регресивни белези, лимфоцити и неутрофилни левкоцити и единични многоядрени гигантски клетки. Цитологичните белези, съвместими с Базедовата хиперплазия са наличие на оскъден колоид, вариращ целуларитет на аспирата с наличие на монослойни повлекла от фоликуларни клетки със слабо набелязан полиморфизъм с или без интрацитоплазмени вакуоли.

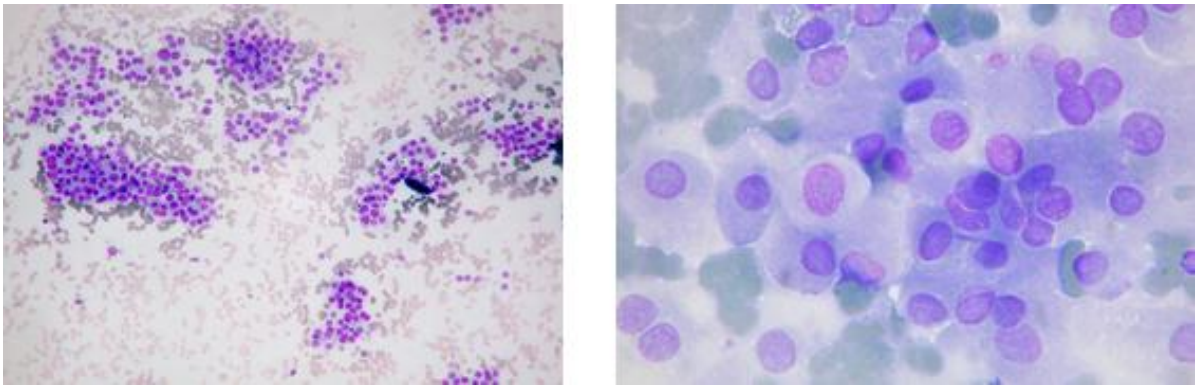
Поведение при случаите с тази цитологична група е клинично и ехографско проследяване, включително повторна ТБ при данни за нарастване размера или промяна в структурата на тиреоидния нодул.



Фигура 9. Доброкачествена цитология – колоиден нодул; лимфоцитарен тиреоидит на Хашимото (MGG).

3. Недетерминирана цитология/фоликуларни пролиферации: В тази хетерогенна група включихме всички случаи с наличие на някои цитологични особености в аспирата, които не позволяват категоризирането им в друга цитологична група, а именно тези с по-оскъден колоид, с наличие на макро- и микрофоликарни пролиферации или само единични фоликуларни клетки с атипични белези (фиг. 10). Цитологичната диагноза на фоликуларната неоплазма или суспекцията за фоликуларна неоплазма (=фоликуларен тумор) се базираше на наличието на изразен целуларитет на аспирата, оскъдно колоид, множество повлекла от клетки с преобладаване на микрофоликулите, както и поединично фоликуларни клетки с оскъдна или умерено изразена цитоплазма. При преобладаване на онкоцитните клетки допускахме, че се касае за Хъртелово-клетъчен тумор

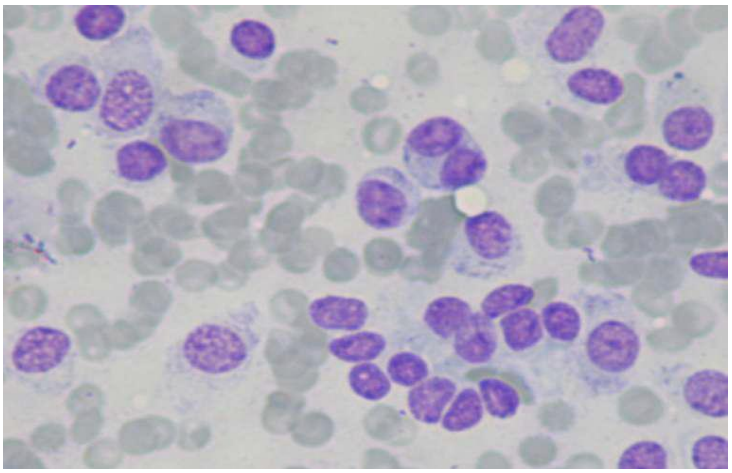
Последващото поведение при случаите с тази цитологична група се определяше не само от цитологичния резултат, но също на базата на клиничните и ехографски особености на тиреоидния нодул.



Фигура 10. Недетерминирана цитология- фоликуларна хиперплазия; групи от онкоцитни (Хъртелови) клетки (MGG).

4. Суспектна за малигненост цитология: В тази група включихме случаите при които са налице някои белези за малигненост, най-често за ПТК или МТК, определящи суспекция за малигненост, но не достатъчни за твърда диагноза (фигура 11).

Препоръчаното поведение при случаите с тази цитологична група е хирургия.



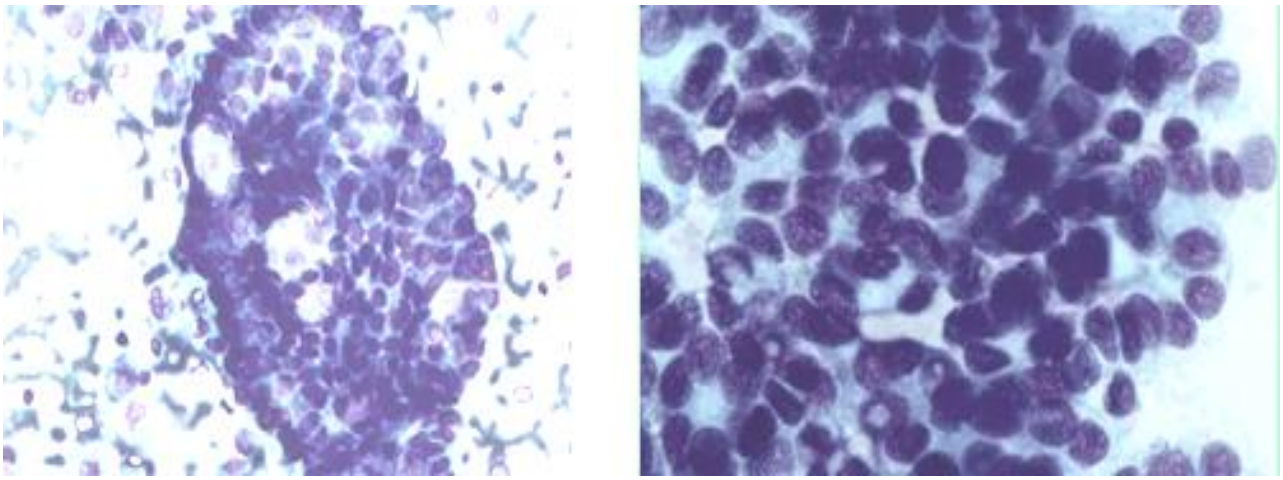
Фигура 11 . Суспектна за малигненост цитология - медуларен тиреоиден карцином (MGG)

5. Малигнена цитология

В тази група включихме случаите с цитологични белези, съвместими с отделните видове тиреоиден карцином – ПТК, МТК, АТК, метастатичен. Цитологичната диагноза на ПТК се базираше на наличието на множество епителни ламели, повечето с папиларна структура с характерните белези на ядрата (по-голям размер, овални, бедни на хроматин, с ядрени вгъвания и интрануклеарни включвания) (фиг. 12). Цитологично МТК се диагностицираше при наличие на диспергирани клетки, наподобяващи плазматичните клетки, с ядра с дребно-зърнест хроматин тип „сол и пипер". Поради съществуването на различни варианти на МТК, цитологичните находки често наподобяват други първични или вторични тиреоидни тумори. При всеки тиреоиден аспират с наличие на изолирани клетки с необичайни белези бе необходимо извършването на диференциална диагноза, включваща МТК и препоръчвахме изследване на серумното ниво на калцитонина. Наличието на клетки с характерните high-grade цитологични белези (ядрен атипизъм, гигантски или вретеновидни клетки, некрози), успоредно със съответни клинични особености позволява диагностицирането на анапластичен карцином. Диференциалната диагноза включва метастатичен тиреоиден карцином. При пациенти с тиреоидит на Хашимото в редки случаи се налага диференциалната диагноза с първичен лимфом на ЩЖ, който цитологично се характеризира с наличие на монотонна популация от дребно-, средно или едроклетъчна лимфоидна популация. За доказване на тиреоидния лимфом, както и на МТК, и метастатичния карциноми е необходима съпоставка с клиничните

данни и извършването на допълнителни имунохистохимични или други изследвания при възможност.

Поведението при случаите с тази цитологична група е препоръка за хирургично лечение.



Фигура 12. Малигнена цитология-папиларен тиреоиден карцином (MGG)

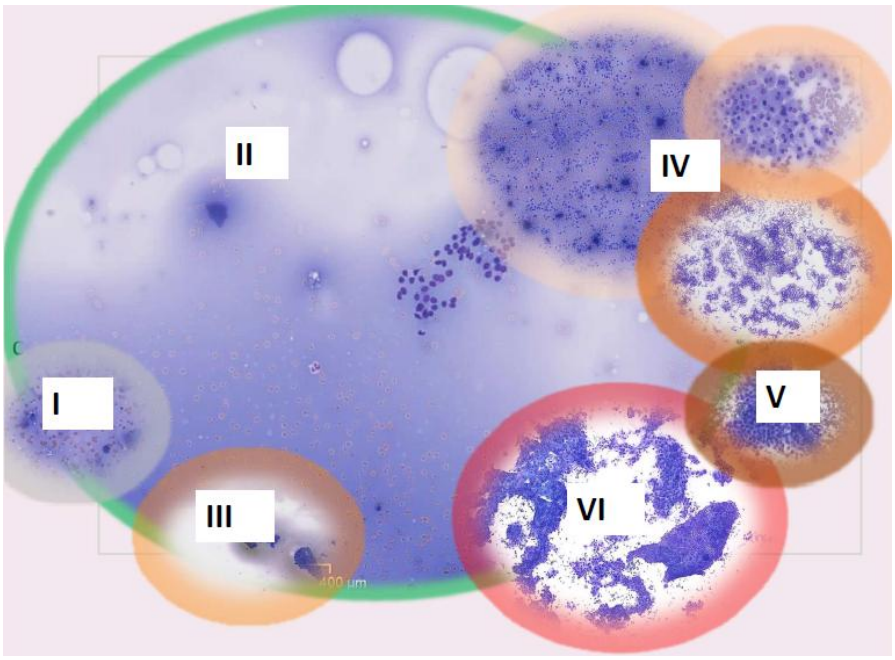
След извършване на категоризацията на цитологичния отговор, оценихме честотата на различните цитологични групи през отделните години на периода на проучването, както и за 5- и 10-годишните субпериоди. Допълнително потърсихме връзка с възрастта и пола на пациентите с проведена ТБ на тиреоидните нодули. За целите на анализа отново разделихме пациентите на 2 групи - < 45 г (млада възраст), и > 45 г (възрастна група).

- Категоризация на цитологичния отговор на ТБ на тиреоидните нодули според Бетезда системата

В допълнение, всички цитологични резултати прекатегоризирахме на базата на извършената цитологична интерпретация в 6-те диагностични категории на Бетезда системата за отговор на тиреоидната цитопатология, които са свързани с определен риск за малигненост и съответен алгоритъм за поведение. Отделните диагностични категории и съответните критерии за класифициране на тиреоидния цитопатологичен отговор са дадени на табл. 15 и фиг. 13.

Таблица 15. Цитопатологични категории и диагностични критерии според Bethesda системата за отговор в тиреоидната цитопатология

Категории по Бетезда	**Цитологични критерии**
Б1 - Недиагностична или недостатъчен материал	Само кистично съдържимо, без клетки Липса или недостатъчен брой клетки Други (неадекватна фиксация, оцветяване)
Б2 –Доброкачествена	Белези съвместими с доброкачествен фоликуларен нодул (колоиден нодул, аденоматозен нодул) Белези, съвместими с лимфоцитарен (Хашимото) тиреоидит при съответен клиничен контекст Белези съвместими с грануломатозен (подостър) тиреоидит Други
Б3 - Атипия с неопределено значение или фоликуларна лезия с неопределено значение	Клетъчни белези, които не позволяват лесното класифициране на лезията в Б2, Б5 или Б6 категориите: -8 предложени ситуации, вкл. наличие на микрофоликули или онкоцити в аспират с малък целуларитет; наличие на единични (фокално) фоликуларни клетки с атипични цитоплазмени/ядрени белези
Б4 - Фоликуларна неоплазия или суспекция за фоликуларна неоплазия	Наличие на изразен целуларитет, оскъдно колоид, предоминиране на микрофоликули , структури тип „розетки”
Б5 - Суспекция за малигненост	Белези суспектни за ПТК Белези суспектни за МТК Белези суспектни за метастатичен карцином Белези суспектни за лимфом Други
Б6- Малигнена	Белези съвместими с ПТК Белези съвместими с НДТК Белези съвместими с МТК Белези съвместими с АТК (недиференциран) (ПТК Белези съвместими с плоско-клетъчен карцином Белези съвместими с метастатичен карцином Белези съвместими с Неходжкинов лимфом Други

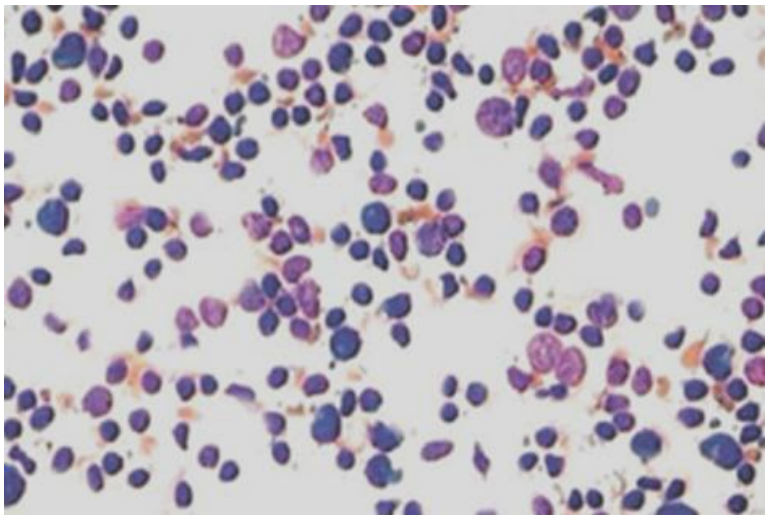


Фигура 13. Цитологични критерии използвани при определяне на 6-те цитопатологичните категории според Бетезда системата.

- Категоризация на цитологичния отговор на ТБ на лимфни възли

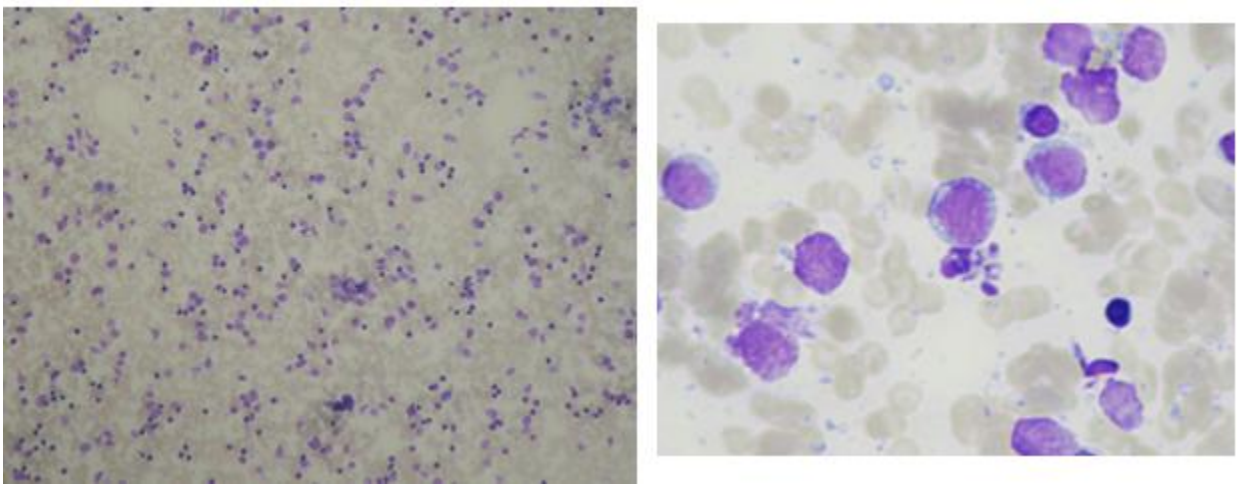
Цитологичните находки в биопсиите от лимфни възли (n=478) разпределихме в 5 диагностични категории –недиагностична; доброкачествена (реактивна лимфоидна хиперплазия); суспектна за метастаза от тиреоиден/нетиреоиден карцином или лимфом; малигнена/метастаза от тиреоиден карцином и малигнена/метастаза от нетиреоиден карцином. Цитологичните критерии, които използвахме при класифициране на ТБ на лимфните възли в отделните категории са следните:

1. Недиагностична категория определихме при наличие само на кръвни елементи в аспирата, без лимфоидни клетки, характерните за лимфен възел
2. Доброкачествена категория (реактивна лимфоидна хиперплазия) определихме при наличие на хетерогенна популация от лимфоидни клетки, включваща преобладаващ брой малките зрели лимфоцити и плазматични клетки, лимфохистиоцитни агрегати, макрофаги, неутрофилни и/или еозинофилни левкоцити (фиг. 14); наличието на множество левкоцити определяше диагнозата лимфаденит (бактериален?)



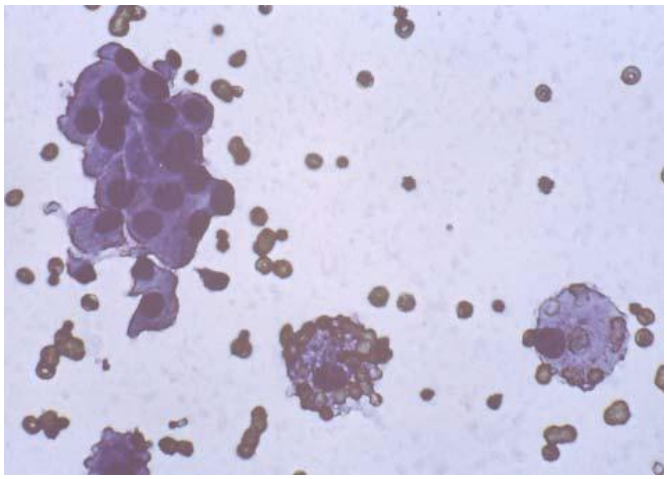
Фигура 14. ТБ на лимфен възел с реактивна лимфоидна хиперплазия (MGG)

3. Суспектна за метастаза от тиреоиден/нетиреоиден карцином категория определихме при наличието на единични атипични епителни клетки на фона на хетерогенна лимфоидна популация при съпътстваща малигнена тиреоидна цитология или доброкачествена тиреоидна цитология с или без анамнестични данни за съпътстваща диагноза на карцином с друга локализация, съответно; суспекция за лимфопролиферативен процес (Неходжкинов лимфом) допускахме при преобладаване в аспирата на монотонна лимфоидна пролиферация от малки, средни или едро-клетъчни лимфоидни клетки, като в тези случаи посочвахме необходимостта от хистологично изследване за потвърждаване на диагнозата (фиг. 15).



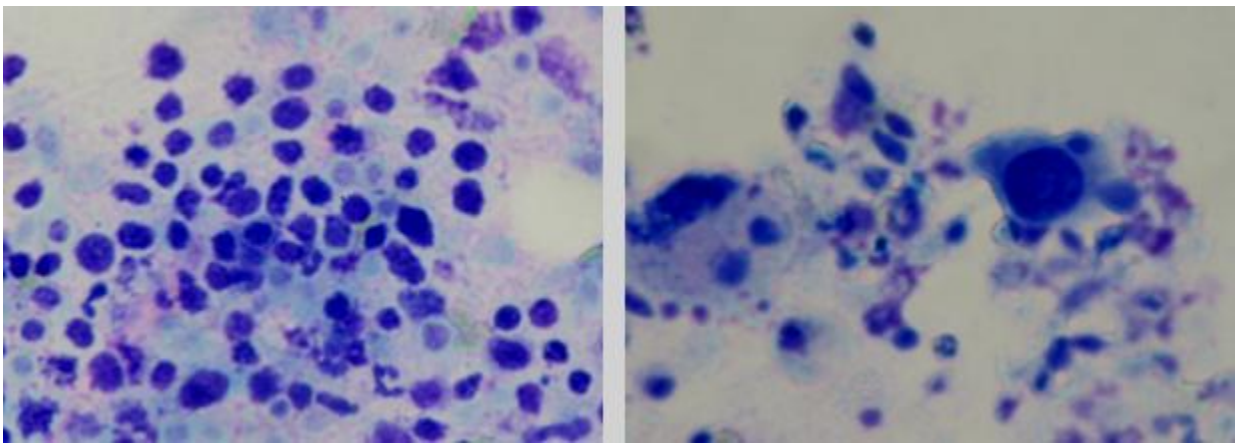
Фигура 15. ТБ на лимфен възел –суспекция за Неходжкинов лимфом (MGG)

4. Малигнена категория, включваща метастаза от тиреоиден карцином определихме най-често при случаите с метастатичен ПТК. В тези случаи наблюдавахме често папиларни структури от клетки с белези на ядрата, характерни за ПТК, както и колоидофаги (фиг. 16).



Фиг. 16. ТБ на лимфен възел -метастаза от ПТК с наличие на колоидофаги (MGG)

5. Малигнена категория, включваща метастаза от нетиреоиден карцином определихме най-често при случаите с категорични данни за наличие на групи от атипични епителни клетки с набелязан клетъчен и ядрен полиморфизъм в съчетание с доброкачествена тиреоидна цитология и/или диагностициран карцином с различна локализация от тази на щитовидната жлеза – гърда, бял дроб, колон, меланом (фиг.17).



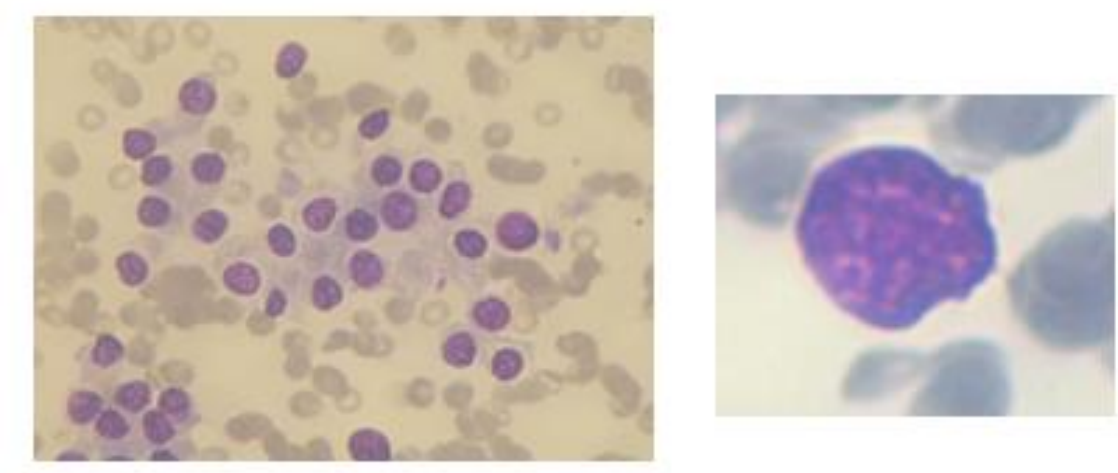
Фиг. 17. ТБ на лимфен възел с метастаза от никодиференциран карцином (плоско-клетъчен? (MGG)

- Категоризация на цитологичния отговор на ТБ на суспектни паратиреоидни лезии

Цитологичните находки в биопсиите от суспектни паратиреоидни лезии (ПТЛ) (n=59) класифицирахме в 3 категории - недиагностична, суспектна за ПТЛ и позитивна за ПТЛ На табл. 16 и фиг. 18 са показани критериите и характерните цитоморфологични белези, които използвахме при определяне на отделните категории.

Таблица 16. Цитоморфологични категории и критерии, прилагани при ТБ на суспектна паратиреоидна лезия:

Цитологични категория	Цитологични критерии
Недиагностична	Кръвни елементи, без епителни клетки
Суспектна за ПТЛ	Наличие на единични клетки суспектни за паратиреоиден произход –малки клетки с оскъдна цитоплазма или без (тип „голи ядра”); ядра –кръгли, с дребно-зърнест хроматин („сол и пипер”)
Позитивна за ПТЛ	Наличие на множество паратиреоидни клетки, поединично или в кохезивни групи , ± трабекули, микроацини Характерни белези - малки по размер клетки, с оскъдна цитоплазма и ядра с дребно-зърнест хроматин, ± псевдоколоид



Фиг. 18. Позитивна цитология за ПТЛ – групи от паратиреоидни клетки, с оскъдна цитоплазма, с не добре очертани граници и ядра с дребно-зърнест хроматин (MGG)

6. *Оценка на диагностичната точност, чувствителност и специфичност на тиреоидната цитопатология след извършване на цитологична-хистологична верификация*

За тази цел издирихме случаите с предоперативна цитологична диагноза и постоперативна хистопатологична диагноза, които съпоставихме (цитологична-хистологична верификация).

При случаите с доброкачествената цитологична диагноза, потвърдена хистологично (доброкачествена хистологична диагноза), цитологичният резултат бе определен като истински негативен (T negative-true negative). При случаите с доброкачествената цитологична диагноза, но с хистологични данни за злокачествен тиреоиден тумор, цитологичният резултат бе класифициран като фалшиво негативен (Fnegative=false negative). При случаите с малигнена цитологична диагноза, потвърдена хистологично (тиреоиден карцином), цитологичният резултат бе определен като истински позитивен (Tpositive=true positive), а при тези без съвпадение – като фалшиво позитивен (Fpositive=false positive). За целите на анализа при пациентите с недетерминирана за малигненост категория или суспектна за малигненост категория и злокачествена хистологична диагноза резултатът класифицирахме като условно истински позитивен (условно Tpositive), а при тези с доброкачествена хистологична диагноза- цитологичният резултат класифицирахме като условно фалшиво позитивен (условно F positive). Изчисленията на отделните пареметри извършихме по утвърдените в практиката формули:

- **Чувствителност –** показва дялът на пациентите със злокачествен тиреоиден нодул, имащи позитивна за малигненост предоперативна цитологична диагноза
    - = Tpositive / Tpositive+ Fnegative.100
- **Специфичност** – показва дялът на пациентите с доброкачествен тиреоиден нодул, имащи позитивна за малигненост предоперативна цитологична диагноза
    - = Tnegative / Tnegative+ Fpositive.100
- **Точност** – показва дялът на случаите с позитивна и негативна за малигненост, отнесени към общия брой пациенти
    - = Tpositive + Tnegative /Общ брой случаи.100

- **Позитивна предиктивна стойност (ППС) -** показва вероятността за малигнен тиреоиден нодул при наличие на позитивна за малигненост цитологична диагноза предоперативно
    - = Tpositive /Tpositive+ Fpositive.100
- **Негативна предиктивна стойност (НПС)** - показва вероятността за доброкачествен тиреоиден нодул при наличие на негативна за малигненост цитологична диагноза предоперативно
    - = Tnegative / Tnegative+ Fnegative.100
- **Фалшиво негативни резултати**
    - = (1 –Чувствителност).100
- **Фалшиво позитивни резултати**
    - = (1 –Специфичност).100

Статистически анализ. За анализ на данните е използван статистически пакет SPSS for Windows версия 16 (Chicago USA). За оценка на достоверността на получените резултати използвахме следните статистически анализи: *описателна статистика* (количествени променливи –средна стойност, стандартно отклонение и 95% доверителен интервал и качествени променливи-абсолютни честоти, относителни и кумулативни честототи, графичен анализ –за визуализация на получените резултати); *параметрични и непараметрични методи* - t-тест за чифтни разлики за анализ на промяна на данните във времето и Mann-Whitney тест при не-Гаусово разпределение на данните; еднофакторен дисперсирсионен анализ (ANOVA) за сравняване на постоянни променливи; метод хи квадрат и тест на Fisher (Fisher’s exact test) за търсене на връзка между качествени променливи; методи на Kolmogorov-Smirnov и Shapirov-Wilk за оценка на нормалното разпределение на количествени променливи; *корелационен анализ* с използване на параметричен (Pearson) и непараметричен (Spearman) коефиценти на корелация за изследване на взаимовръзката между количествени променливи. Получените резултати оценихме като статистически достоверни при прагово ниво на значимост $p<0.05$.

VI. Р Е З У Л Т А Т И И О Б С Ъ Ж Д А Н Е

I. ПРОСПЕКТИВНО-РЕТРОСПЕКТИВЕН АНАЛИЗ НА ЧЕСТОТАТА И ОСОБЕНОСТИТЕ НА ХИСТОЛОГИЧНИТЕ ВИДОВЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕНИ ТУМОРИ НА ЩИТОВИДНАТА ЖЛЕЗА В ДИНАМИКА ЗА ПЕРИОД ОТ 20-ГОДИНИ.

Литературните данни показват, че през последните години честотата на новодиагностицираните пациенти с тиреоиден карцином нараства в световен мащаб. Хистологично се различават 5 основни вида – папиларен тиреоиден карцином (ПТК), фоликуларен тиреоиден карцином (ФТК), нискодиференциран тиреоиден карцином (НДТК) и недиференциран/анапластичен тиреоиден карцином (НТК/АТК), произлизащи от фоликуларния епител на щитовидната жлеза и медуларния тиреоиден карцином (МТК), произлизащ от тиреоидните С-клетки. Тиреоидният карцином е около три пъти по-чест при жените в сравнение с мъжете. Пациентите под 45 години и над 45 години могат да имат различна прогноза при тумори със сходна характеристика по отношение на хистологичния вид и стадия на тумора. Именно затова ние си поставихме за цел да оценим честотата на различните хистологични видове тиреоиден карцином, диагностицирани в един клиничен център за период от 20 години и да проучим тенденциите в заболеваемостта през отделните 5 – годишни периоди (1996-2000 г, 2001-2005 г, 2006-2010 г и 2011-2015 г, съответно) и 10-годишни периоди (1996-2005 г и 2006-2015 г, съответно), обхващащи целия период на проучването. Допълнително извършихме анализ на патохистологичното стадиране на туморите при поставяне на диагнозата и оценихме връзката между хистологично диагностицираните видове тиреоиден карцином една страна страна, и пола и възрастта на пациентите от друга страна.

1. Хистологична класификация на злокачествените тиреоидни тумори и оценка на динамиката в хистологичната диагнозата за период от 20 години

- *Хистологична класификация на злокачествените тиреоидни тумори*

Хистологичният анализ на злокачествените тиреоидни тумори за целия период на проучването е показан на табл. 17. Най-голям бе дялът на хистологично диагностицираните ПТК (90%), следван от този на МТК (3%) и ФТК (2,8%) и НДТК (1.3%). Най-ниска бе честотата на недиференцирания тиреоиден карцином (НТК) – под

1% (0.4%.). В групата разни (n=36, 2.3%) отнесохме злокачествените тумори на щитовидната жлеза, които не се отнасят към основните видове тиреоиден карцином - метастатичните /инфилтриращи първични карциноми с друга локализация (n=20) - бъбрек, бял дроб, трахея, ларинкс, колон, гърда, меланом; лимфом (n=12) -по-често нодален, инфилтриращ ЩЖ по съседство и само при 3 случая –първичен лимфом на ЩЖ в съчетание с тиреоидит на Хашимото; 2 случая с мукоепидермоиден карцином на ЩЖ и други 2 случая със сарком на ЩЖ.

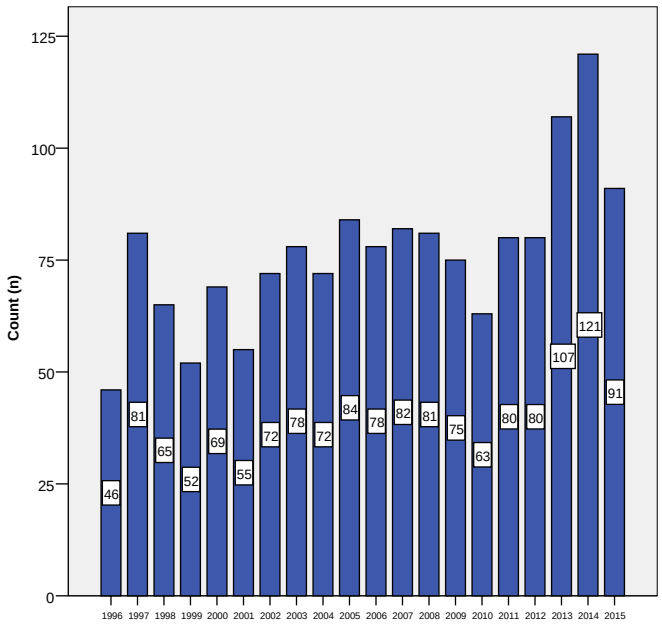
Таблица 17. Хистологична класификация на злокачествените тиреоидни тумори, диагностицирани за 20-годишен период.

Хистологична диагноза	n	%
Папиларен карцином	1374	89,7
Фоликуларен/Хъртелов карцином	43	2,8
-минимално-инвазивен (n=24) - инвазивен (n=19)		
Медуларен карцином	46	3,0
Нискодиференциран карцином	27	1.8
Недиференциран карцином	6	0,4
Разни	36	2,3
- метастатичен карцином (n=20) - лимфом (n=12) - мукоепидермоиден карцином (n=2) - сарком (n=2)		
Общо	1532	100,0

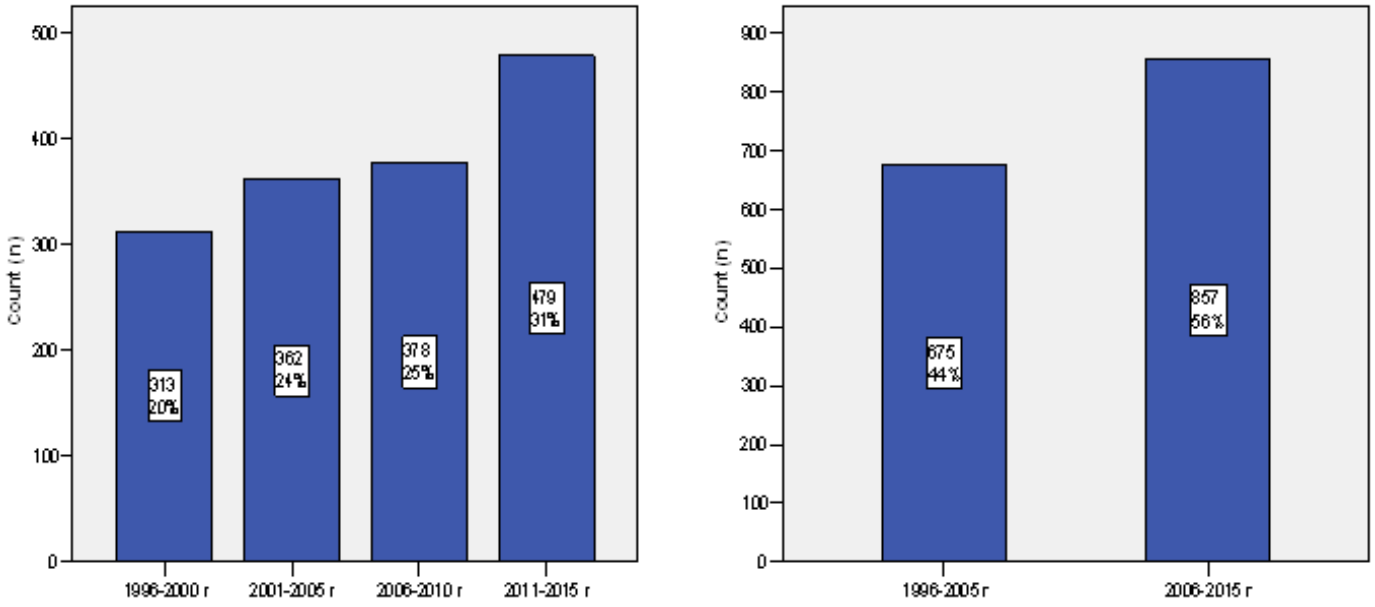
- *Оценка на честотата на хистологичните видове злокачествените тиреоидни тумори в динамика за период от 20 години*

Извършеният анализ на броя на хистологично диагностицираните злокачествени тумори на ЩЖ през отделните години на 20-годишния период на проучването показа стабилна тенденция за нарастване, въпреки наличието на известна вариабилност (фиг. 19). Средният брой диагностицирани злокачествени тумори за целия период на проучването бе 77/годишно, като най-малък брой бе отчетен през 1996 г (n=46), а най-голям брой - през

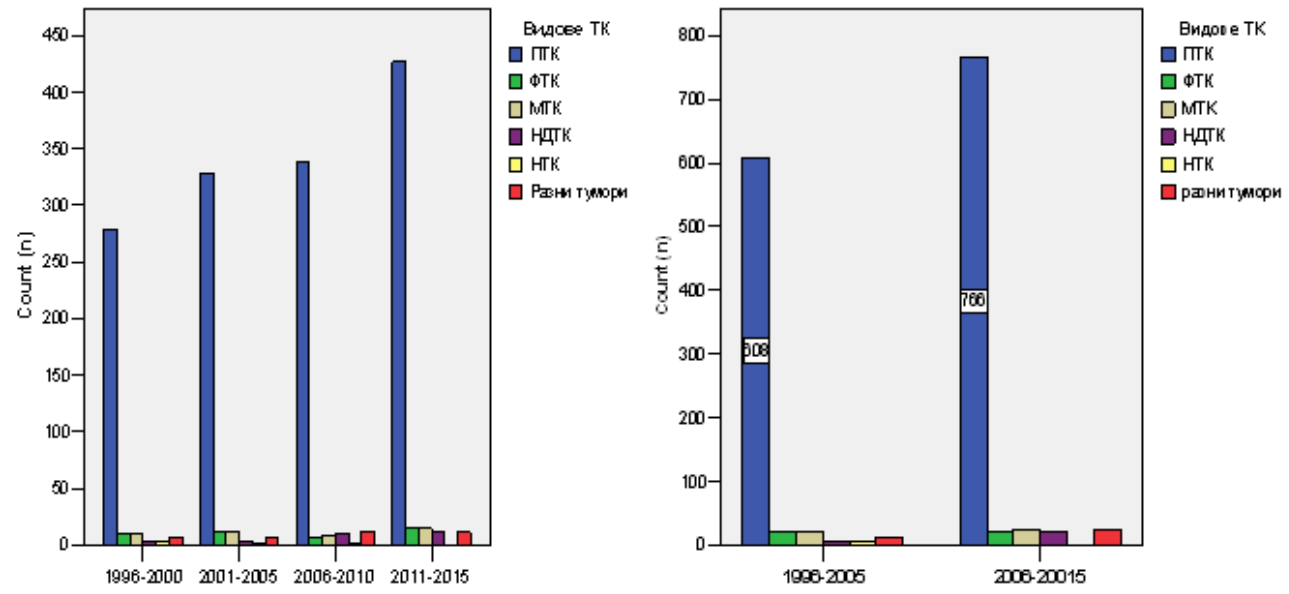
2014 г (n=121). При сумиране на броя на хистологично диагностицираните злокачествени тумори за 5- и 10 години установихме значимо нарастване на оперираните случаи за всеки следващ период спрямо предходния (p=0.006 -0.001) (фиг.20, а, б). Дялът на оперираните злокачествени тумори за първия 5-годишен период (1996-2000) бе 20%, а този за последния 5-годишен период (2011-2015 г) –30% от всички случаи. При сравнение на броя на диагностицираните злокачествени тумори за периодите 1996-2005 г и 2006-2011 г отчетохме 22% нарастване за втория 10-годишен период. Сравнявайки броя на случаите за отделните 5- и 10-годишни периоди според хистологичния им вид, установихме значимо нарастване само на случаите с ПТК (p=0.001). Отчетохме 1.5 пъти увеличение на броя на диагностицираните ПТК за последния 5-годишен период (2011-2015 г- n=427) спрямо този през първия 5-годишен период (1996-2000 г - n=287). При сравнение на броя на случаите с ПТК, диагностицирани за двата 10-годишни периода (n=610/1996-2005 г и n=766/2006-2011 г) нарастването бе с 25% в края на втория период. Не установихме значима разлика при оценка на честотата на останалите видове злокачествени тиреоидни тумори в динамика т.е за отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването (фиг. 21, а,б).



Фиг. 19. Динамика в броя хистологично диагностицирани тиреоидни карциноми през отделните години на периода на проучването.



Фиг. 20 Динамика в броя на хистологично диагностицирани тиреоидни карциноми през (а) четирите 5-годишни периода и (б) двата 10-годишни периода на проучването.



Фиг. 21. Динамика в броя на различните хистологични видове тиреоиден карцином през (а четирите 5-годишни периода) и (б) двата 10-годишни периода на проучването.

Злокачествените тумори на щитовидната жлеза са редки, с честота 1% от всички карциноми с различна локализация от една страна, но от друга –те са най-честите злокачествени тумори на ендокринната система. Съвременната хистологична класификация на тиреоидните тумори на СЗО (124) включва голямо разнообразие от хистологични видове и подвидове, разделени на групи според своя клетъчен произход на епителни и мезенхимни, на първични и вторични. Точната хистологичната диагноза на злокачествените тиреоидни тумори е от съществено значение за определяне на прогнозата и особено за взимането на решение за последващото поведение в съвременния мултидисцинарен подход на лечение на пациентите с тези тумори. ПТК и ФТК се отличават с много добра прогноза и са обединени в групата на високодиференцираните тиреоидни карциноми. Същевременно определянето на отделните варианти на ПТК и ФТК също има прогностично значение. През последните години в редица проучвания се обсъжда клиничното значение на определянето на микроскопските варианти на ПТК. От друга страна определянето на вариантите на ФТК, а именно минимално инвазивен, инвазивен и/или Хъртелов вариант на базата на степента на ангио-инвазивност и преобладаването на онкоцитните клетки, е с доказано прогностично значение. От диференцираните тиреоидни карциноми, МТК е с по-лоша прогноза в сравнение с ПТК и ФТК. Въпреки това, спорадичният и фамилният МТК също се отличават по своето биологично поведение. Доказването на мутацията на RET прото-онкогена и определянето на нейната локализация в отделните кодони е с доказано прогностично значение и определя необходимостта, както и времето за извършване на профилактична тиреоидектомия при членовете на фамилиите с МТК. НДТК и НТК са двата хистологични вида тиреоидни карциноми, които според съвременните схващания се развиват най-често на базата на дедиференциация на предшестващ ДТК и са със значително по-лоша прогноза.

В това проучване, прилагайки утвърдените морфологични критерии за диагностика, ние извършихме анализ на честотата на отделните видове злокачествени тумори на ЩЖ, оперирани и хистологично диагностицирани в УСБАЛЕ „Ак. Иван Пенчев” през последните 20 години (1996-2015 г). Резултатите от извършения анализ показаха преобладаване на случаите с хистологична диагноза на ПТК в много голяма степен –в около 90%. За отбелязване е ниската честота на случаите с хистологична диагноза ФТК

(2.8%), която е сравнима с тази на МТК (3%). Дяловете на НДТК и НТК, са под 2% и 0.5%, съответно. Установената от нас честота на основните хистологични видове тиреоиден карцином за целия 20-годишен период на проучването най-общо съответства на данните в литературата по този въпрос, въпреки някои вариации. В публикуван наскоро обзор върху биологичните и клинични перспективи на тиреоидния карцином докладваната честота на ПТК е около 85%, на ФТК –от 2 до 5%, на МТК – около 4%, на НДТК – до 6%, на НТК – около 1% и на метастатичния ТК – 1% (156). При проучване на голяма серия тиреоидни карциноми, произлизащи от фоликуларния епител (n=4000), диагностицирани през периода 2001-2009 г, се установява, че честотата на ПТК е 96% (n=3841), на ФТК -0.4% (n=17), на НДТК -2.1% (n=84), на НТК -0.02% (n=8) (311). Допуска се, че това значимо намаление на процента на хистологично диагностицираните ФТК през последните години, сравнявайки данните от първата половина на миналия век, може да е свързано със спазването на стриктните критерии за капсулна и съдова инвазия при поставяне на диагнозата му, както и и в някои случаи със свръхдиагностицирането на ФВПТК (290, 418). Различията в честотата на случаите с хистологично диагностициран НДТК може да се дължат на липсата на добре дефинирани критерии за диагнозата доскоро, имайки предвид случаите с белези на ПТК и ФТК с фокални зони на дедиференцация (466). Относно МТК, в литературата са налице значителни вариации в процентът на хистологично диагностицираните МТК -от 1.4–15.7% (424). Извършеният от нас анализ показа, че при повечето случаи диагнозата МТК е поставена следоперативно, на базата на извършените имунохистохимични изследвания и/или данните за повишени нива на калцитонина. Само при 2 случая бяха налице предоперативни данни за доказан фамилен МТК, а при други 6 случая бе извършена ТБ под ехографски контрол и цитологичният резултат бе суспекция за МТК.

Оценката на динамиката в хистологично диагностицираните злокачествени тумори на ЩЖ през отделните 5- и 10-годишни периоди, обхващащи целия 20 годишен период на проучването показа стабилно нарастване на новодиагностицираните пациенти с тиреоиден карцином през по-късните 5- и 10-годишни периоди спрямо предшестващите ги, по-ранни периоди. Честотата на хистологично диагностицираните тиреоидни тумори за втория 10-годишен период достигна 122% спрямо първия 10-годишен период. Ние показахме също, че това нарастване е резултат единствено на увеличения брой оперирани и хистологично

диагностицирани пациенти с ПТК. Извършеният от нас анализ не показа динамика в броя на пациентите с хистологични диагнози ФТК, МТК, НДТК и АТК в по-късните спрямо по-ранните 5- и 10 годишни периоди на проучването. Процентът на хистологично диагностицираните ПТК за втория 10-годишен период бе 125% спрямо първия 10-годишен период. Тези резултати са в пълно съответствие с публикуваните данни за нарастваща честота на тиреоидния карцином, по-специално на ПТК, както у нас, така и по-целия свят (14, 102, 116, 143, 246, 263, 372). В редица скорошни проучвания в САЩ, Канада и различни страни на Европа се докладва нарастваща поява на ТК. Тази нарастваща честота е свързана с повишеното откриване на ПТК (по-често микрокарцином) в резултат на рутинно провежданото ехографско изследване на щитовидната жлеза и ТБ под ехографски контрол на тиреоидните нодули. Данните на Националния раков регистър за заболяемост от рак в България, 2011 също показват нарастваща честота на ТК, като за периода между 1990 г и 2011 г заболеваемостта от 1.6/100 000 е достигнала 4.9/100 000 при жените и от 0.8/100 000 до 1.1/100 000 при мъжете (14).

В обобщение, извършеният от нас анализ на хистологичните диагнози в един клиничен център за период от 20 години показа наличие на широк спектър от хистологични видове и подвидове злокачествени тумори на щитовидната жлеза. Процентът на ПТК доминира пред този на другите основни хистологични видове ТК. Най-нисък е процентът на нискодиференцирания и недиференцирания/анапластичен ТК. Честотата на тиреоидния карцином нараства стабилно за периода на проучването за сметка на нарастващата честота на ПТК. Честотата на останалите видове тиреоиден карцином не показва промяна за периода на проучването.

2. Стадиране (pTN) на отделните хистологично диагностицирани видове тиреоиден карцином за целия период на проучването

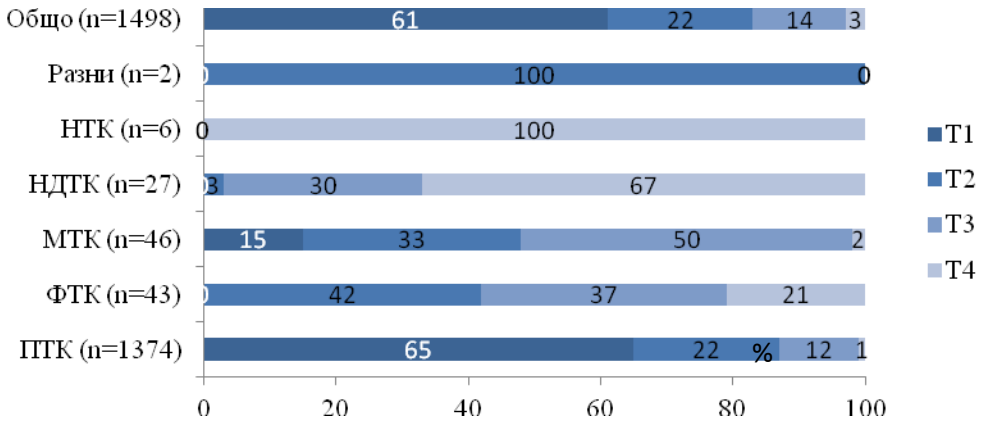
- *Стадии на тумора (pT)* (n=1498)

Хистопатологичното стадиране на отделните видове тиреоиден карцином (от групата разни са включени само двата случая с мукоепидермоиден карцином) е показано на табл. 19 и фиг. 22. Извършеният анализ установи, че туморите с ранен туморен стадий (pT1 и

р Т2) са най-много (83%). Тази честота съответства на големия брой случаи с ПТК със същия туморен стадий (рТ1 65% и рТ2 22%. Тиреоидните карциноми в напреднал стадий (рТ3 и рТ4) бяха само 17% в общата група тумори. С авансирал туморен стадий са почти всички случаи с НДТК и НДК и над половината от случаите с МТК и ФТК (инвазивен вариант).

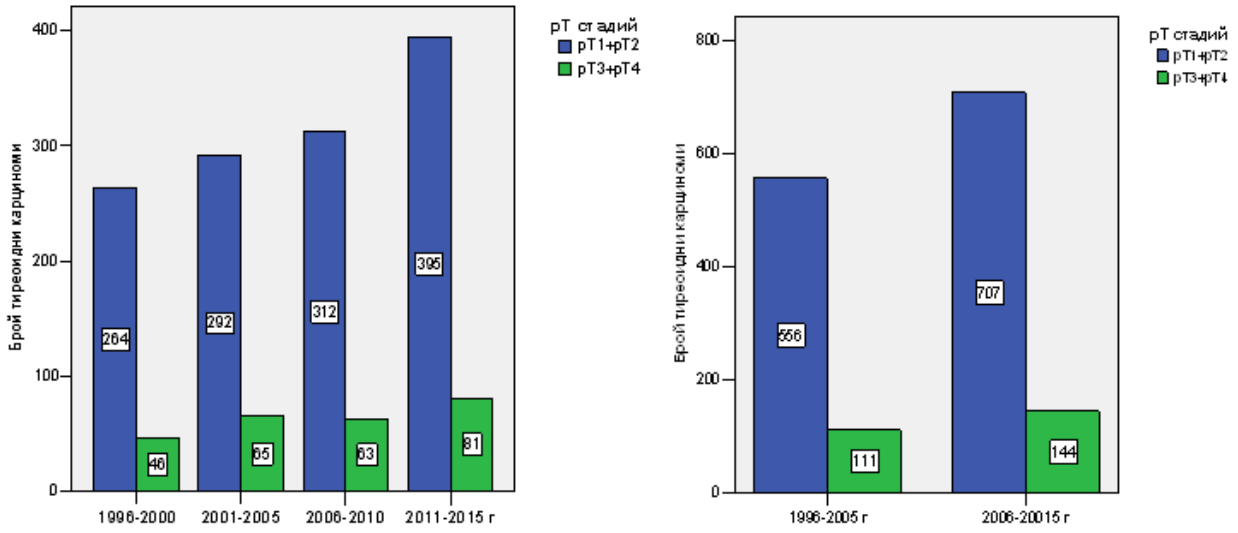
Таблица 19. Стадиране (рТ) на различните видове тиреоиден карцином за целия период на проучването

Хистологична диагноза	T1 n (%)	T2 n (%)	T3 n (%)	T4 n (%)
Папиларен карцином (n=1374)	902 (65)	300 (22)	165 (12)	7 (1)
Фоликуларен карцином (n=43)	0 (0)	18 (42)	16 (37)	9 (21)
Медуларен карцином (n=46)	7 (15)	15 (33)	23 (50)	1 (2)
Нискодиференциран карцином (n=27)	0 (0)	1(4)	8 (30)	18 (67)
Недиференциран карцином (n=6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (100)
Разни (n=2)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
Общо (n=1498)	909 (61)	336 (22)	212 (14)	41 (3)



Фиг. 22 Дялове на отделните стадии на тумора (рТ1-Т4), определени при различните хистологични видове тиреоиден карцином

Допълнително оценихме наличието на динамика в дяловете на туморите с ранен (pT1 и T2) и напреднал стадий (pT3 и pT4) за четирите 5-годишни и двата 10-годишни периода на проучването. Резултатите от извършения анализ показаха липса на значима разлика в честотата на злокачествените тиреоидни тумори в ранен и напреднал стадий през отделните периоди на проучването както в общата група тумори, така и при отделните хистологични видове (фиг. 23 а, б).



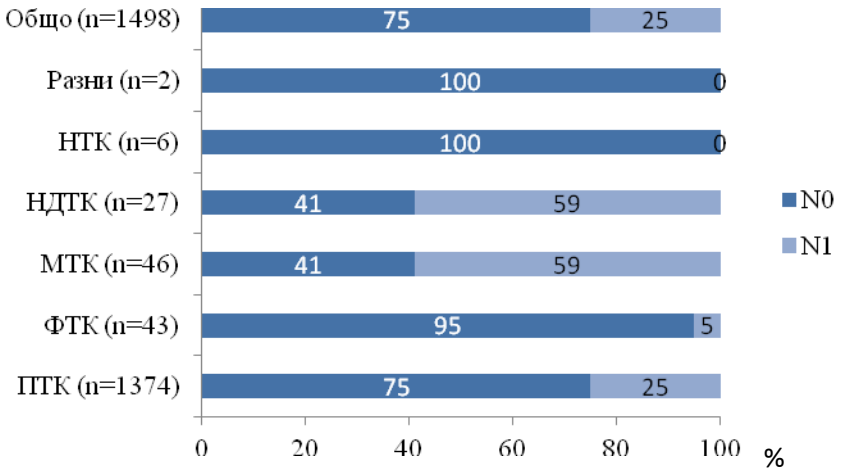
Фиг. 23. Динамика в броя на хистологично диагностицираните случаи тиреоиден карцином според стадия на тумора през (а) четирите 5-годишни периода и (б) двата 10-годишни периода на проучването.

- *Нодален статус (pN0/N1) (n=1498)*

Хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1) отбелязахме при 25% от всички случаи с първичен тиреоиден карцином (табл.20, фиг. 24). Този процент се определя основно от дяла на ПТК с pN1 стадий. В около 60% от случаите с МТК и НДТК също бяха налице данни за N1, но относителния дял на тези случаи е много малък. Само при 2 случая с ФТК (Хъртелов вариант) е установен pN1 стадий. При оценка на динамиката в броя на случаите с метастази в лимфните възли за отделните 5- и 10 годишни периоди не открихме статистически значими разлики.

Таблица 20. Нодален статус (pN) на различните видове тиреоиден карцином за целия период на проучването.

Хистологична диагноза	N0	N1
	n (%)	n (%)
Папиларен карцином (n=1374)	1038 (76)	336 (24)
Фоликуларен карцином (n=43)	41 (95)	2 (5)
Медуларен карцином (n=46)	19 (41)	27 (59)
Нискодиференциран карцином (n=27)	11 (41)	16 (59)
Недиференциран карцином (n=6)	6 (100)	0 (0)
Разни (n=2)	2 (100)	0 (0)
Общо (n=1498)	1117 (75)	381 (25)



Фиг. 24. Дялове на pN0 и pN1на различните хистологични видове тиреоиден карцином

Тиреоидният карцином е най-честият ендокринен злокачествен тумор, с нарастваща честота през последните 20 години. Нарастващата честота на ТК е свързана с различни по своя характер социални и икономически последствия. Известно е, че при пациентите с ДТК тумор-асоцииранатa смъртност е ниска, като докладванатa 5-годишна преживяемост е 97.9% (409). Въпреки отличната прогноза, рискът за поява на рецидив на тумора е не малък (до 30%). Именно тези пациенти се нуждаят от по-агресивно лечение и проследяване. Целта на рисковата стратификация е определянето на точен алгоритъм за лечение и контрол, чрез който да се намали риска за рецидив и същевременно да се

ограничат излишните разходи свързани с евентуално свръхлечение. През последните 20 години бе постигнат значителен напредък както в изучаването на биологията на тиреоидния карцином, така и в идентифицирането на различни прогностични фактори (клинични, хистологични, имунохистохимични, молекулярни) при стратификацията на рискови групи за рецидив (305). Постоперативното патохистологично стадиране (pTNM), базирано на American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC) стадираща система, е универсален и стандартен метод за класификация на тиреоидния карцином. TNM стадиращата система се прилага при всички карциноми с различна локализация и се придържа към биологията на туморите. Нейната цел е да раздели пациентите в групи според прогнозата и определи нуждата от постоперативно лечение.

В това проучване патохистологичното стадиране (pTN) на всички хистологично диагностицирани тиреоидни карциноми за последните 20 години бе извършено според критериите на 6-та версия на TNM класификацията, предложена от IUCC/AJCC (124). Туморният стадий (pT) при всички случаи бе определен на базата на размера на тумора и данните за наличие на екстратиреоидна инвазия (минимална/pT3 или обширна/p/T4), а нодалният статус според наличието или не на хистологични данни за метастази (pN0/pN1). През последните години прогностичното значение на размера на тумора, степента на екстратиреоидната инвазия, както и наличието на метастатични лимфни възли, включително тяхното разпространение и големина, при пациентите с тиреоиден карцином бе обект на обсъждане в редица проучвания. Съществените промени в стадирането на тиреоидния карцином в 6-та версия на TNM класификацията спрямо предишната 5-та версия се базират на данните на ретроспективните проучвания поради липсата на проспективни рандомизирани проучвания. Те съответстват напълно на съвременните концепции за лечение на тиреоидния карцином и необходимостта от провеждане на адювантна терапия. Извършеният от нас анализ показа, че над 80% от всички хистологично диагностицирани тумори са pT1 и pT2 стадий , и една четвърт от случаите - pN1. Тези данни съвпадат почти напълно с резултатите от хистопатологичното стадиране (pTN) на ПТК. Този резултат е логичен във връзка с високата честота на ПТК в нашето проучване. Дялът на туморите с авансирал стадий (pT3 и pT4) в общата група тиреоидни карциноми бе малък (17%). Анализът на данните за туморния стадий (pT) и нодалния

статус (pN1) според хистологичния вид на тиреоидния карцином показа някои съществени различия, които съответстват на натрупаните данните за тяхното биологично поведение и прогноза. Въпреки, че ПТК и ФТК се класифицират заедно в групата на ДТК, те показват специфични клинико-патологични особености, биологично поведение и клиничен изход (111, 292, 409). При пациентите с ПТК, туморът е най-често индолентен, с вариращ размер, като в близо половината от случаите може да са налице мултифокални лезии и/или метастази в регионалните лимфни възли. ФТК по-често се изявява в напреднал стадий на тумора и с наличие на далечни метастази, а метастазите в лимфните възли са изключително редки (439). Нашите данни показаха, че при случаите с ПТК най-голям е процентът на pT1 туморите (65%), следван от този на pT2 (22%), а дялът на pT4 туморите бе само 1%. При случаите с ФТК дяловете на pT2 и pT3 туморите бяха сходни (42% и 37%, съответно), а дялът на pT4 - 21%. Хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1) бяха налице в 24% и 5% сред случаите с ПТК и ФТК, съответно. Биологичното поведение на МТК е различно, бивайки както индолентен така и агресивен тумор, асоцииран с висока смъртност. Докладваната 10-годишната преживяемост на пациентите с интратиреоиден МТК и pN0 е 96% (411). Наличието на метастази в шийните или медиастиналните лимфни възли влошава прогнозата, като 5-годишна преживяемост е около 75%. Нашите данни показват, че в половината от случаите с МТК бе налице pT3 тумор, а в другата половина –pT1 и pT2 тумор. Дялът на pN1 туморите бе също голям (59%). НДТК са агресивни тумори, най-често резистентни на радиойод терапия. Докладваната 5-годишна преживяемост при пациентите с НДТК варира от 60% до 85% (212, 466, 480). В нашето проучване почти всички НДТК (97%) бяха с авансирал туморен стадий, а наличие на метастатични лимфни възли бе отчетено в 100%. АТК е много агресивен тумор, рефрактерен на радиойодтерапия, химиотерапия и лъчетерапия, с почти 100% тумор-асоциирана смъртност, при средната преживяемост около 6 месеца. Всички наши случаи с АТК бяха нерезицируеми (само биопсирани) и стадирани като pT4 според критериите на 6-тата версия на TNM класификация.

В обобщение, извършеният анализ на хистопатологичното стадиране на хистологично диагностицираните ТК за период от 20 години показа преобладаване на туморите в ранен стадий (pT1 и pT2) и наличие на метастази в лимфните възли в една четврт от случаите Различията в патохистологичното стадиране (pTN) на различните хистологични видове

тиреоиден карцином съответстват на натрупаните данни за тяхното биологично поведение и прогноза. Липсва динамика в честотата на тиреоидните карциноми в ранен и напреднал стадий през отделните периоди на проучването, както в общата група тумори, така и при отделните хистологични видове.

3. Полови и възрастови различия на пациентите с тиреоиден карцином

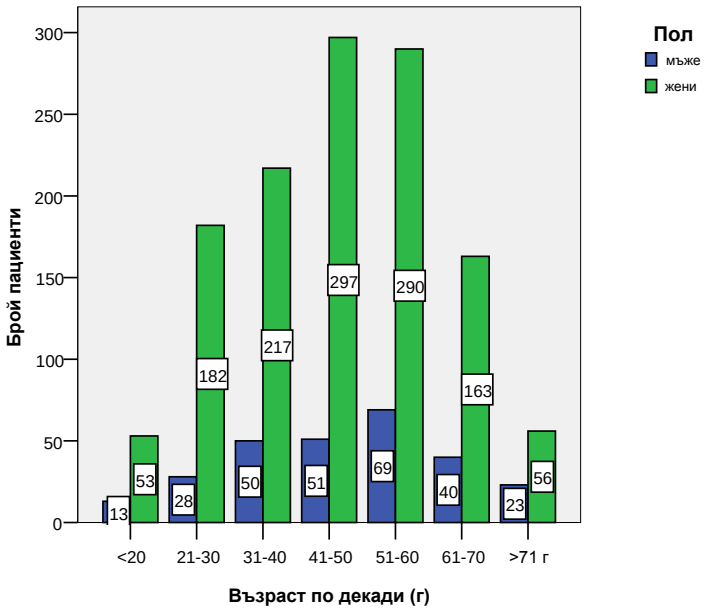
Характеристиката на пациентите с отделните хистологични видове злокачествени тиреоидни тумори според възрастта и пола, както и възраст под и над 45 г., е дадена на табл. 21. Извършеният анализ показа, че честотата на тиреоидния карцином в общата група е 4 пъти по-голяма при жените спрямо тази при мъжете (81% срещу 19% или 4:1). Дялът на жените бе значимо по-висок в сравнение с мъжете при всички групи пациенти, разпределени според хистологичния вид на злокачествения тиреоиден тумор. Най-висок бе дялът на жените при лицата с ПТК (84%), а най-нисък - при случаите с МТК (59%) и НДТК (63%). Средната възраст на пациентите от мъжки пол бе значимо по-висока в сравнение със средната възраст на жените с тиреоиден карцином (48,26±15,78 г с/у 46,05±15,03 г, F= 4,728, p=0.03). Дялът на лицата над 45 г при мъжете (n=162/274, 59%) бе по-голям в сравнение с този при жените над 45г (n=653/1258, 51%) (p=0,018). Допълнително определихме дяловете на пациентите от мъжки и женски пол според възрастта разпределена по възрастови декади (фиг. 25). Извършеният анализ показа, че дялът на злокачествените тиреоидни тумори при жените бе най-голям във възрастовите декади 41-50 г и 51-60 г (24% и 23%, съответно), следван от този във възрастовите декади 21-30 г и 31-40 г (15% и 17%, съответно). Дяловете на жените с тиреоиден карцином на възраст под 20 г и над 70 г бяха сходни (4.2% и 4.5%, съответно). Дялът на мъжете с тиреоиден карцином на възраст 51-60 г. бе най-голям (25%), следван от този на мъжете на възраст 31-40 и 41-50 г (18% и 19%, съответно). Дялът на мъжете с тиреоиден карцином над 70 г бе близо 2 път по-голям в сравнение с този на мъжете под 20 г (8.4% и 4.7%, съответно).

Средната възраст на всички пациенти с хистологично диагностицирани злокачествени тиреоидни тумори бе 46,44±15,19 г, а дяловете на пациентите под и над 45 г със сходна големина (47% и 53%, съответно). Средната възраст на пациентите с ПТК бе значимо по-ниска спрямо тази на групите пациенти с останали видове злокачествени тиреоидни

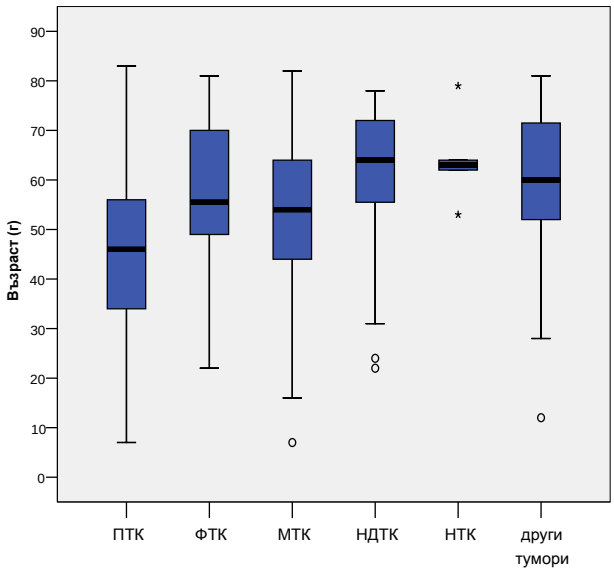
тумори (p=0.0001) (фиг. 26). Дяловете на пациентите с ПТК под и над 45 г. също бяха еднакви. Средната възраст на пациентите с ФТК не показа разлика при сравнението с тази на останалите групи пациенти, като дялът на пациентите над 45 г бе по-голям при сравнение с този на случаите под 45 г -77% с/у 23%. При случаите с МТК, средната възраст бе по-ниска в сравнение с тази на групите с НДТК и разни тумори (p=0.18 и p=0.027, съответно). Най-висока бе средната възраст на групата пациенти с НТК (64,00±8,39 г), като всички случаи бяха над 45 г.

Таблица 21. Характеристика на пациентите с различните хистологични видове злокачествени тиреоидни тумори по пол, възраст и възраст над и под 45 г.

Хистологична диагноза	Пол		Средна възраст	Възраст	
	Мъже n (%)	Жени n (%)	S±X	< 45 г n (%)	>45 г n (%)
Папиларен карцином (n=1374)	218(16)	1156(84)	45,21±14,72	685 (50)	689(50)
Фоликуларен карцином (n=43)	15(35)	28(65)	56,19±14,61	10 (23)	33(77)
Медуларен карцином (n=46)	19(41)	27(59)	52,85±15,73	15(33)	31(67)
Нискодиференциран карцином (n=27)	10(37)	17 (63)	60,30±15,10	4 (15)	23(85)
Недиференциран карцином (n=6)	2(33)	4(67)	64,00±8,39	-	6(100)
Разни (n=36)	10 (23)	26(72)	59,97±14,56	3 (8)	33(92)
Общо (n=1532)	274 (19)	1258 (81)	46,44±15,19	717 (47)	815(53)



Фиг. 25. Дялове на пациентите със злокачествени тиреоидни тумори разпределени по пол и възрастови декади.



Фиг. 26. Средна възраст (г) на пациентите с тиреоиден карцином според хистологичния вид.

Половите и възрастови различия при пациентите с хистологично диагностициран тиреоиден карцином оценихме за динамика през отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването (табл. 22). По отношение на пола, не установихме разлика в дяловете на пациентите от мъжки и женски пол с диагностициран ТК през отделните периоди на проучването. По отношение на възрастта, установихме нарастване на дяла на пациентите над 45 г с напредване на периода на проучването (p=0.02). Докато дялът на лицата над 45г през първото десетилетие (1996-2005 г) бе еднакъв с този на лицата под 45 г., то през второто десетилетие се отбеляза значимо нарастване, с около 6% (p=0.013).

Таблица 22. Оценка на динамиката в броя на хистологично диагностицираните тиреоидни карциноми за отделните периоди на проучването според пола и възрастта на пациентите.

Брой тиреоидни карциноми през отделните периоди	Пол		Възраст	
	Мъже n (%)	Жени n (%)	< 45 г n (%)	>45 г n (%)
5-годишни периоди				
1996-2000 г (n=313)	60 (19)	253(81)	173 (55)	140(45)
2001-2005 г (n=362)	58(16)	304(84)	15(46)	197(54)
2006-2010 г (n=378)	64(17)	314 (83)	153(40)	225(60)
2011-2015 г (n=479)	92(19)	387(81)	226(47)	253(53)
10-годишни периоди				
1996-2005 г (n=675)	118(17)	557 (83)	338 (50)	337(50)
2006-2015 г (n=857)	156 (18)	701 (82)	379(44)	478(56)

Допълнително оценихме влиянието на пола и възрастта на пациентите с хистологично диагностициран тиреоиден карцином върху туморния стадий (pT) и нодалния статус (pN). Резултатите от извършения анализ показаха, че сред пациентите от мъжки пол дялът на туморите в напреднал стадий (pT3 и pT4) бе по-голям в сравнение с този при жените – 34% срещу 13% (p=0.0001). По отношение на нодалния статус установихме същата тенденция – в групата на мъжете дялът на метастатичните лимфни възли бе по-голям в сравнение със съответния дял при жените – 38% срещу 24% (p=0.0001). При пациентите над 45 г дялът на туморите в напреднал стадий (pT3 и pT4) бе по-голям в сравнение със съответния дял при пациентите под 45 г - 21% срещу 12% (p=0.0001). Обратно, дялът на

метастатичните лимфни възли бе по-голям при пациентите под 45 г в сравнение със съответния дял при лицата над 45 г – 31% срещу 22% (p=0.0001).

Данните на многобройните епидемиологични и клинични проучвания показват, че тиреоидният карцином е значимо по-чест при жените в сравнение с мъжете. От друга страна, възрастта и полът са основни клинични фактори с прогностично значение. Младата възраст, под 45 г., се асоциира с добра прогноза независимо от стадия на разпространението на тумора (133). Мъжкият пол е рисков фактор за по-големи тумори (301), по-лоша прогноза при доказан фоликуларен или Хъртелов карцином (264), както и по-често развитие на метастази в ЛВ и рецидив в случаите с ПТК (216, 373, 443, 494).
В това проучване ние характеризирахме възрастовите и полови различия при пациентите с хистологично доказан тиреоиден карцином за период от 20 години. Нашите резултати показаха, че злокачествените тиреоидни тумори са 4 пъти по-често диагностицирани при жените в сравнение с мъжете (80%). Въпреки, че женският пол доминираше при всички видове злокачествени тиреоидни тумори поотделно, налице бяха някои различия. Подобно на други автори, ние също установихме, че дялът на жените с ПТК (84%) е по-голям в сравнение с този на жените с МТК (59%) и НДТК (63%). Пикът на поява на тумора бе при жените на 40-50 г, а при мъжете – на 50-60 г. Дялът на жените с ТК в най-младата възраст, макар и малък, бе сходен с този на жените в най-голямата възрастова група (над 70 г), докато при мъжете в напреднала възраст ТК бе 2 пъти по-чест в сравнение с мъжете под 20 години. В допълнение по данни на Националния раков регистър от 2011 г тиреоидният карцином е първо място по честота сред всички злокачествените заболявания при жените на възраст между 15-29 г, на IV-то място - при тези на възраст 30-44 г и на VII-мо място – при тези на възраст 45-59 г (14). Извършеният анализ на динамиката в честотата на тиреоидния карцином през отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването не показа значими промени в съотношението мъже:жени. В други проучвания също се установява успоредно нарастване на броя диагностицираните ТК при пациентите от мъжки и женски пол (278, 496). Нашите резултати за по-голямите проценти на туморите в напреднал стадий и метастатични лимфни възли при мъжете в сравнение с жените са в подкрепа на данните на други автори за негативна прогностична стойност на мъжкия пол.

Получените от нас резултати при анализ на възрастта на пациентите с хистологично диагностициран тиреоиден карцином за периода на проучването както в общата група, така и в подгрупите пациенти според хистологичния вид напълно съответстват на данните в литературата по този въпрос. Средната възраст на общата група пациенти със злокачествен тумор на щитовидната жлеза бе ниска и с голям обхват (46,44±15,19) и почти еднаква с тази на пациентите с ПТК. И в двата случая, средната възраст на мъжете бе по-голяма от тази на жените, а дяловете на пациентите в млада възраст (под 45 г) и средна възраст (над 45 г) бяха сходни, около 50%. При оценка на динамиката в дяловете на пациентите под и над 45 г за отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването, ние установихме значимо нарастване на броя на диагностицираните пациенти в средна възраст (над 45 г) в по-късните периоди, а именно за периода 2006 -2015 спрямо предшестващия 10-годишен период (1996-2005 г). Този резултат съответства на данните на Hughes и сътр. (219) за диспропорционалното нарастване на диагнозата на ПТК (основно микрокарциноми) при пациентите над и под 45 г . Извършвайки репроспективна оценка на появата на ПТК в САЩ за периода 1973-2006 г, авторите установяват, че за периода до 1999 г са преобладавали пациентите с ПТК в млада възраст, а след 1991 61% от случаите с ПТК са били на възраст над 45%. Оценявайки прогностичната стойност на възрастта под и над 45 г ние открихме по-голям брой тумори в напреднал стадий, но по-малък брой с pN1 сред пациентите над 45 години в сравнение с пациентите в млада възраст. Прогностичното значение на възрастта под и над 45 г е доказано и този параметър бе включен в 6-тата версия на TNM класификацията. Според нея всички пациенти в млада възраст се класифицират в I-ви стадий независимо от размера на тумора и наличието на метастази в лимфните възли или във II-ри стадий ако са налице данни за далечни метастази. Възможно обяснение за по-големият дял на метастатични лимфни възли в групата пациенти под 45 г в нашето проучване е по-големия брой млади пациенти с клинично изявен и диагностициран ПТК предоперативно.

В обобщение, злокачествени тиреоидни тумори за периода на проучването са четири пъти по-чести при жените в сравнение с мъжете. Дяловете на пациетите в млада и средна възраст са еднакви, като е налице нарастване на броя на пациентите над 45 г в по-късните периоди на проучването. Налице са характерни възрастови и полови различия според хистологичния вид на тиреоидния карцином, съответстващи на тяхната биологична

характеристика. Резултатите от нашето проучване показват още веднъж негативната прогностична стойност на мъжкия пол и възрастта над 45 г при пациентите с тиреоиден карцином.

II. ПРОСПЕКТИВНО-РЕТРОСПЕКТИВЕН АНАЛИЗ НА ЧЕСТОТАТА И ОСОБЕНОСТИТЕ НА ОТДЕЛНИТЕ ВАРИАНТИ НА ПАПИЛАРНИЯ ТИРЕОИДЕН КАРЦИНОМ В ДИНАМИКА ЗА ПЕРИОД ОТ 20-ГОДИНИ

Литературните данни, както и нашите, показват че ПТК е най-честият хистологичен вид, с нарастваща честота на диагнозата му през последните години. Хистологичната диагноза на ПТК се базира на наличието на характерните белези на ядрата. Освен класическия ПТК, хистологично се различават редица други микроскопски варианти на ПТК на базата на размера на тумора (папиларен микрокарцином), архитектурния строеж на тумора (фоликуларен, макрофоликуларен, солиден), клетъчните характеристики на тумора (tall cell, цилиндрично-клетъчен, светло-клетъчен, онкоцитен) или особеностите на стромата (дифузен склерозиращ вариант, с фасциит-подобна строма) (124, 330, 481). Някои от вариантите на ПТК се отличават с по-агресивно поведение в сравнение с класическия ПТК, което определя важността от тяхното хистологично диагностициране. Именно затова ние си поставихме за цел да оценим честотата на различните микроскопски варианти на ПТК, диагностицирани в един клиничен център за период от 20 години и да проучим тенденциите в диагностиката им през отделните 5- и 10-годишни субпериоди. Допълнително оценихме връзката на отделните хистологични варианти на ПТК с различните клинико-хистпатологични параметри с доказано прогностично значение, както и с хистологичните данни за съпътстваща лимфоцитна инфилтрация/хроничен лимфоцитарен тиреоидит в паренхима на щитовидната жлеза.

1. Хистологична класификация на микроскопските варианти на папиларния тиреоиден карцином и оценка на динамиката в хистологичната диагнозата за период от 20 години

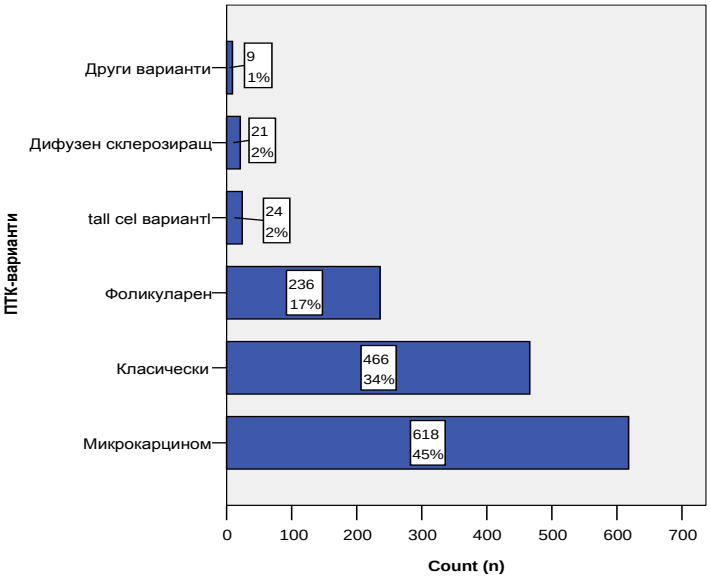
- *Хистологична класификация на микроскопските варианти на ПТК (n=1374)*

Резултатите от хистологичното типизиране на вариантите на ПТК за целия период на проучването е показано на табл. 23 и фиг. 27. Най-голям бе дялът на хистологично диагностицирания папиларен микрокарцином (45%), следван от този на класическия ПТК (35%) и фоликуларния вариант на ПТК (капсулиран и инфилтративен вид, 17%). Двата варианта на ПТК с по-агресивно поведение - дифузният склерозиращ вариант и tall cell варианта бяха диагностицирани в значимо по-малък, но сходен брой случаи (n=21 и n=24,

съответно), а дяловете на пациентите с тези варианти на ПТК бяха 1.5% и 1.7%, съответно. В групата други варианти включихме единичните случаи с Хъртелово-клетъчен вариант на ПТК (n=7) и солиден вариант на ПТК (n=2). Техният дял бе под 1% от всички случаи с ПТК за целия период на проучването.

Таблица 23. Хистологични (микроскопски) варианти на ПТК за периода на проучване.

Видове ПТК	n	%
Микрокарцином	618	44,8
Класически	466	34,1
Фоликуларен вариант	236	17,1
Tall cell вариант	24	1,7
Дифузен склерозиращ вариант	21	1,5
Други варианти	9	0,7
Общо	1374	100



Фигура 27. Дялове на хистологично диагностицираните варианти на ПТК за целия период на проучване.

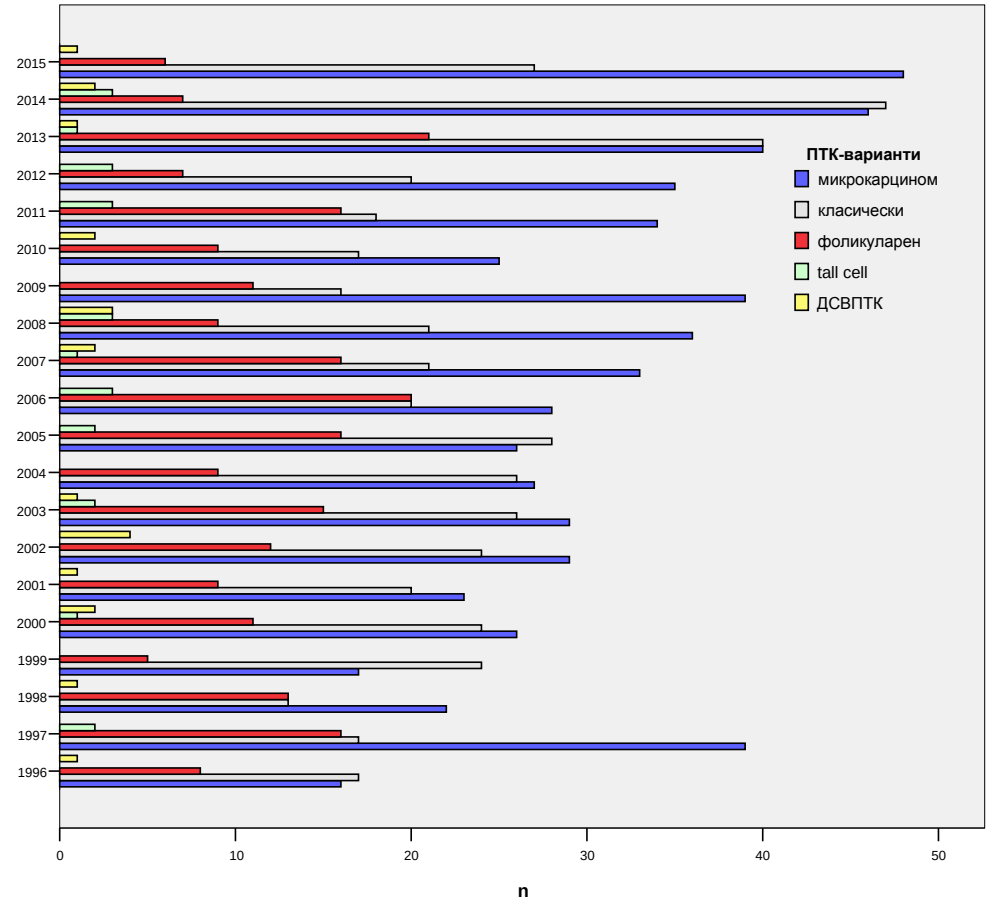
Данни за предоперативно цитологично изследване идентифицирахме в над 1/3 от всички случаи с ПТК (n=449), като броят на пациентите с хистологично верифициран папиларен микрокарцином (ПМК) и класически ПТК бе най-голям (табл. 24). Резултатите от цитологично-хистологичната верификация на тези случаи са представени отделно, при оценка на диагностичната точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули.

Таблица 24. Разпределение на пациентите с предоперативна цитологична диагноза според микроскопския вариант на ПТК за целия период на проучването.

Хистологични варианти	ТБ (-)	ТБ (+)
	n (%)	n (%)
Микрокарцином (n=618)	364 (59)	254 (41)
Класически вариант (n=466)	321 (69)	145 (31)
Фоликуларен вариант (n=236)	197 (84)	39 (16)
Дифузен склерозиращ вариант (n=21)	14 (67)	7 (33)
Tall cell вариант (n=24)	20 (81)	4 (19)
Други варианти (n=9)	9 (100)	-
Общо (n=1374)	925 (67)	449 (33)

- *Оценка на честота на отделните микроскопски варианти на ПТК в динамика за период от 20 години*

Извършеният анализ на броя на хистологично диагностицираните варианти на ПТК през отделните години на 20-годишния период на проучването показа стабилна тенденция за нарастване на броя на случаите с ПМК, класически и ФВПТК, въпреки наличието на значими вариации (фиг. 28). Средният брой на диагностицираните папиларни микрокарциноми (ПМК)/годишно бе 31, като най-малък брой бе отчетен през 1996 г (n=16), а най-голям брой - през 2015 г (n=48). Средният брой на случаите с класически ПТК бе 23/годишно, като най-малък брой бе броят през 2009 г -n=16, а най-голям през 2014 -n=47. При случаите с ФВПТК, средният брой на тази диагноза бе 12 случая/годишно, а най-малкият (n=5) и най-големият брой (n=20) бяха отчетени за 1999 г и 2006 г, съответно.



Фиг. 28. Динамика в броя хистологично диагностицирани варианти на ПТК през отделните години на периода на проучването.

Динамиката в броя на случаите според микроскопския вариант на ПТК за отделните четири 5-годишни и двата 10-годишни периода на проучването е показана на фиг. 29 а, б. Налице бе статистически значимо нарастване в броя на диагностицираните пациенти с ПМК за всеки 5-годишен период спрямо предходния период (x^2= 25.922, p= 0.0001). Сравнявайки броя на пациентите с отделните подвидове ПТК за двата 10-годишни периоди също открихме сигнификантно увеличение на броя на диагностицираните случаи с папиларен микрокарцином (x^2= 19.579, p=0.0001) и tall cell вариант (x^2= 4.167, p=0.041) за втория период на проучването (2006-2015 г).

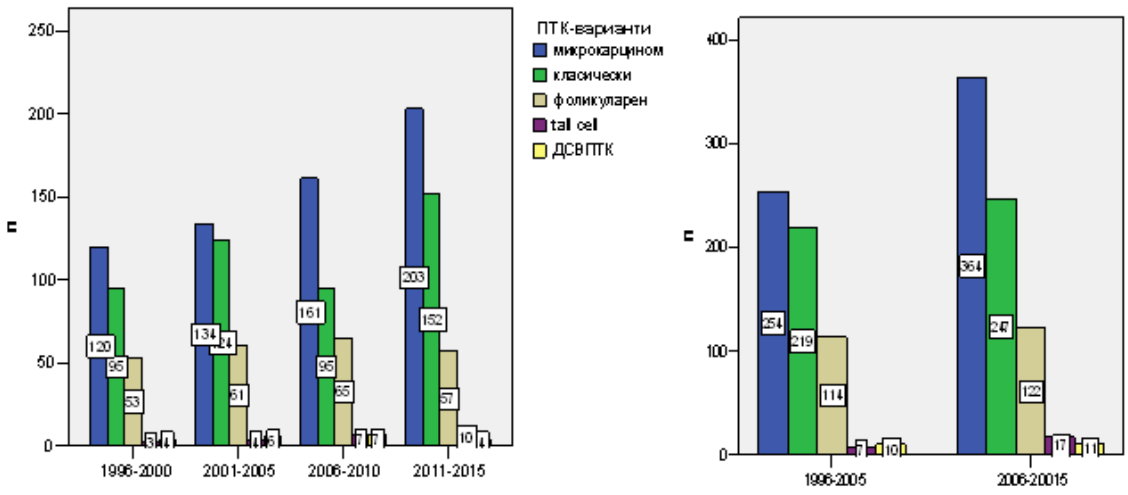
Процентът на оперираните случаи с ПМК за първия 5-годишен период (1996-2000) бе 19%, а този за последния 5-годишен период (2011-2015) –33%. При сравнение на дяловете

на ПМК за двата 10-годишните периода (41%/1996-2005 г и 59%/2006-2011 г) отчетохме 18% нарастване на ПМК за втория 10-годишен период.

Дяловете на диагностицираните хистологично случаи с класически ПТК за първия и третия 5-годишен период бяха еднакви (по 20%/ 1996-2000 и 2006-2010 г) и значимо по-малки при сравнение с тези за втория (26%/ 2001-2005 г) и последния 5-годишен период (33%/2011-2015 г) (x^2= 19.236, p=0,0001). При сравнение на дяловете на класическия ПТК за двата 10-годишните периода (47% и 53% за 1996-2005 г и 2006-2011 г, съответно) не отчетохме статистически значима разлика.

Дялът на оперираните случаи с tall cell вариант за първия 5-годишен период (1996-2000) бе 13%, а този за последния 5-годишен период (2011-2015) –42% от всички случаи. Разликата в дяловете на tall cell вариант за двата 10-годишните периода (29%/1996-2005 г и 71%/2006-2011 г, съответно) бе 42%.

При сравнение на дяловете на диагностицираните случаи с ФВПТК и ДСВПТК както през отделните 5-годишни субпериоди, така и за двата 10-годишни периода не установихме значима разлика.



Фиг. 29. Динамика в броя на различните микроскопски варианти на ПТК през (а) четирите 5-годишни периода и (б) двата 10-годишни периода на проучването.

Папиларният тиреоиден карцином е най-честият високодиференциран карцином на ендокринната система, произлизащ от фоликуларните епителни клетки на щитовидната жлеза и с много добра прогноза. Диагнозата му се базира на характерните, отличителни

белези на ядрата. През последните 20 години познанията ни за произхода и биологията на ПТК значително нарастнаха. Напредъкът в молекулярната биология, клинико-патологичните проучвания на отделните варианти на ПТК, широкото използване на ехографското изследване на ЩЖ и ТБ на тиреоидните нодули допринесоха за по- ранната диагноза на тези тумори. Във връзка с този напредък възникнаха редица въпроси, някои от които все още неразрешени, свързани както с цитологичната и хистологичната диагностика на тиреоидните нодули, така и с оптималното лечение на пациентите с ПТК (286). В резултат на високата диагностична точност на ехографското и цитологично изследване, през последните години честотата на ПМК нарастна в световен мащаб. Папиларният микрокарцином се отличава единствено с размера си (≥ 1 cm), а архитектурния му строеж и клетъчните му характеристики са еднакви с тези, наблюдавани при по-големите ПТК. Литературните данни показват, че това е най-честият хистологично диагностициран вариант на ПТК и е с по-добра прогноза в сравнение с класическия ПТК (124, 331, 357, 385, 481). Фоликуларният вариант на ПТК е също често диагностициран тумор, който се отличава с редица особености, нерядко затрудняващи както патолозите, така и клиницистите по отношение на диагнозата и лечението му. Двата основни вида ФВПТК (капсулиран и инфилтративен) показват някои характерни биологични и молекулярни белези, които го отличават от класическия ПТК. Близо половин век след идентифицирането му като отделен вариант на ПТК, все още са налице дискусии относно хистологичната му диагноза и категоризация (88). Редица автори отбелязват, че при повечето случаи на ФВПТК папиларните ядрените белези са по-трудно доловими в сравнение с класическия ПТК, което е причина и за докладваната несъгласуваност при диагнозата (52, 261, 281, 431). В редица проучвания се оценяват хистопатологичните критерии за поставяне на диагнозата му, както и мястото на различни имунохистохимични и молекулярни маркери за подпомагане на диференциалната му диагноза с другите тиреоидни лезии с фоликуларен строеж. Докато инвазивният ФВПТК е с по-висок метастатичен потенциал и риск за рецидив, но сходен с този на класическия ПТК, то капсулираният ФВПТК е индолентен тумор, с често откривани RAS мутации и с много нисък риск за прогресия (49, 173, 282, 247, 441, 462). Поради тези му особености в биологичното поведение, наскоро бе предложено последният да се преименува в „неинвазивна фоликуларна неоплазма с папиларно-подобни ядрени белези”,

диагностициращ се на базата на алгоритъм, включващ строги морфологични критерии (331). В контраст на честото диагностициране на класическия ПМК, ПМК и ФВПТК в ежедневната практика, то диагнозата на отделните потенциално агресивни варианти на ПТК е изключително рядка. Във връзка с ниската честота на агресивните варианти на ПТК са налице трудности в изучаването на тяхното биологично поведение. Голяма част от познанията ни по този въпрос се базират на публикуваните анализ на малък брой брой случаи, диагностицирани и проследени в отделни клинични центрове. През последните години бе отбелязан значим напредък както в изясняването на морфологичните критерии за диагноза на тези редки варианти на ПТК, така и в оценката на тяхната независимата прогностична стойност.

В това проучване ние оценихме честотата на отделните варианти на ПТК, хистологично диагностицирани в един клиничен център за период от 20 години и наличието на динамика в хистологични диагнози през периода на проучването. Резултатите от извършения анализ показаха, че дялът на ПМК е най-голям, обхващащ близо половината от всички пациенти с ПТК (45%). Следваща по честота бе хистологичната диагноза на класическия ПТК, в близо 1/3 от всички пациенти с ПТК. Честотата на диагнозата на ФВПТК в нашето проучване бе 17% или около 1/5 от всички хистологично диагностицирани ПТК. Дялът на агресивните варианти на ПТК бе най-ниският - общо 3.2% и включваше почти еднакъв брой случаи с ДСВПТК (n=20) и tall cell вариант на ПТК ((n=24). В оделна група отделихме единичните случаи с онкоцитен ПТК и солиден вариант на ПТК, чийто дял общо бе под 1%. Нашите резултати потвърждават още веднъж факта, че ПМК е най-често диагностицираният микроскопски вариант на ПТК. Нашите данни, показват че в над 1/3 от случаите с ПМК е налице суспектна или малигнена цитологична диагноза предоперативно. Установената от нас честота на отделните микроскопски варианти на ПТК за целия 20-годишен период на проучването най-общо съответства на данните в литературата по този въпрос, въпреки някои вариации. В публикуван наскоро обзор върху биологичните особености на ПТК докладваната честота на ПМК е 33%, на класическия ПТК – 32%, на ФВПТК -27% (17% капсулиран ФВПТК), tall cell вариант на ПТК -7% и други варианти -1% (156). Честотата на ФВПТК според други автори също е около 30%, с преобладаване на капсулирания ФВПТК (114, 440). Докладваната честота на tall cell вариант на ПТК варира от 3.2 до 19% от всички ПТК

(279, 312, 330). Обсъжда се, че големите вариации в честотата на този вариант може да се дължат на различните критерии, прилагани за диагнозата му. Дифузният склерозиращ вариант на ПТК е с докладвана честота около 3% (0.7–6.6%) (124, 330, 403, 481). Докладваната честота на солидният вариант на ПТК е също около 3% от всички ПТК (101, 328), а тази на онкоцитния вариант на ПТК варира между 1-11 % от всички ПТК (58, 124, 330).

Извършеният анализ на броя на хистологично диагностицираните варианти на ПТК през отделните години, както и 5- и 10 годишните субпериоди на целия 20-годишния период на проучването показа тенденция за нарастване на броя на случаите с ПМК, класически ПТК, ФВПТК и tall cell вариант на ПТК, въпреки наличието на някои вариации. При сравнение на броя на диагностицираните случаи с отделните варианти на ПТК за двата 10-годишни периода, значима разлика установихме в посока нарастване само при ПМК (с 18%) и tall cell вариант на ПТК (42%). При класическия ПТК значимо нарастване отелязахме при сравнение на броя на хистологично диагностицираните случаи за последния 5-годишен период спрямо първия и третия 5-годишен субпериод. Извършеният от нас анализ не показа значима разлика в броя на пациентите с хистологично диагностициран ФВПТК и ДСВПТК както за отделните 5-годишни субпериоди, така и за двата 10-годишни периода.

Тези резултати са в пълно съответствие с публикуваните данни за нарастваща честота на ПТК, по-специално на ПМК, в различни страни по света. Тази нарастваща честота според литературните данни, а също и според нашите резултати е свързана с по-ранното диагностициране на ПТК или ПМК в резултат на рутинно извършваното ехографско изследване на щитовидната жлеза и ТБ под ехографски контрол на тиреоидните нодули. В нашето проучване в над 1/3 от случаите с хистологично диагностициран ПМК бяха налице данни за извършена ТБ под ехографски контрол на тумора. В проучване на клинико-патологичните характеристики на голям брой случаи с ПТК, използвайки SEER база данните (The Surveillance, Epidemiology, and End Results), се установява че за периода 1988-2008 г честотата на ПТК е нарастнала с 60.8%, а тази на ДСВПТК и tall cell вариант на ПТК с 126% (P (trend) = 0.052) и 158% (P (trend) = 0.002), съответно (243). Авторите обсъждат, че нарастналата поява на агресивните варианти на ПТК може да е резултат на

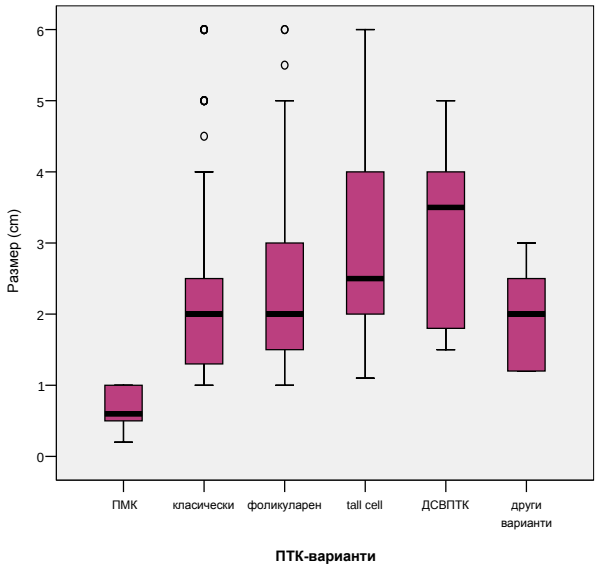
подобреното откриване на тези тумори, както и на подобрената му хистологична диагностика през последните години.

В обобщение, резултатите от нашето проучване показаха, че сред всички микроскопски варианти на ПТК водеща е честота на ПМК, следвана от тази на класическия ПТК и фоликуларния вариант на ПТК. Дялът на агресивните варианти (ДСВПТК и tall cell вариант) е много малък. Налице е също значимо увеличение на процентите на диагностицираните случаи с ПМК и tall cell вариант на ПТК през втория 10-годишен субпериод в сравнение с тези през първия 10-годишен период.

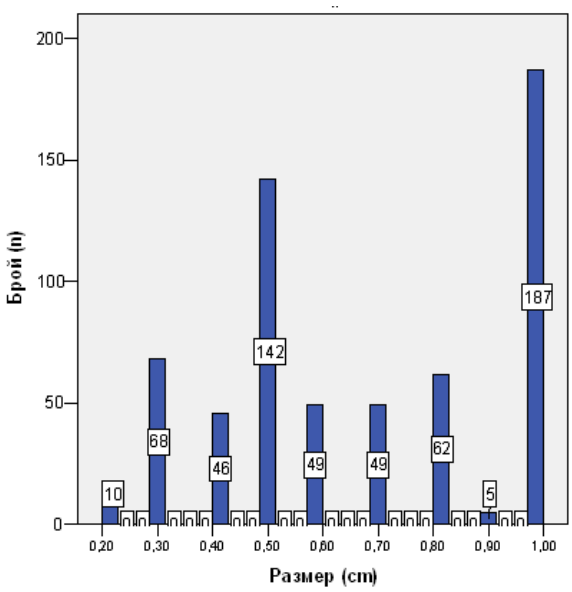
2. Размер на тумора, мултифокалност (Tm) и хистопатологично стадиране (pTN) на отделните варианти на ПТК за целия период на проучването

- *Размер на тумора при отделните варианти на ПТК*

Средният размер на тумора според микроскопския вариант на ПТК е показан на фиг. 30. Най-голям бе размерът на тумора при случаите с ДСВПТК и tall cell варианта на ПТК, а най-малък - при случаите с ПМК. При пациентите с ПМК размерът на тумора варираще от 0.2 до 1 cm, като в 43% от случаите бе до 0,5 cm (фиг. 31). Средният размер на тумора при ФВПТК бе значимо по-голям в сравнение с този при класическия ПТК ($p<0,001$) и не показа разлика с този на групата други варианти на ПТК.



Фиг. 30. Среден размер на тумора при отделните микроскопски варианти на ПТК.



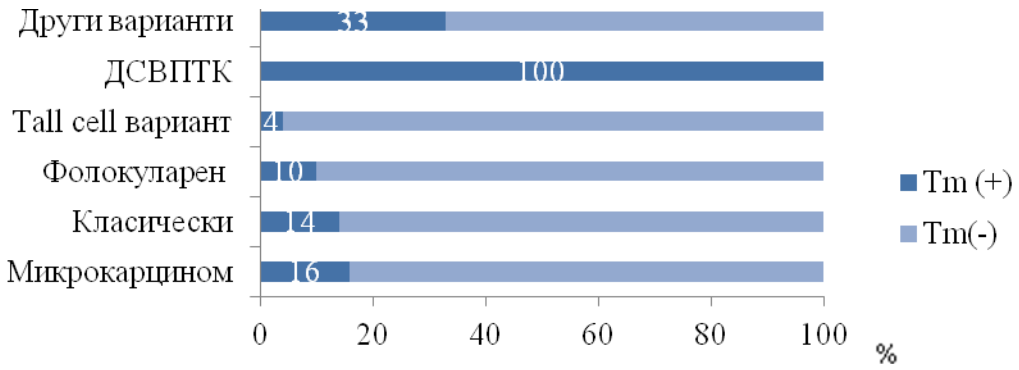
Фиг. 31. Размер на тумора (cm) при случаите с папиларен микрокарцином.

- *Мултифокалност на тумора (Tm) при отделните варианти на ПТК*

Честотата на мултифокалните тумори сред хистологично диагностицираните ПТК за целия период на проучването бе ниска -12% (n=168), (табл. 25). Наличие на мултифокален тумор (Tm) установихме при всички варианти на ПТК с вариращa честота, с изключение на ДСВПТК, при който мултифокалността е основна характеристика (100%) (фиг. 32). В групата на ПМК наличие на мултифокален тумор бе отбелязано при 50 случая (8%).

Таблица 25. Честота на туморна мултифокалност (Tm) при отделните варианти на ПТК.

Хистологични варианти на ПТК – мултифокалност (Tm)	Tm (+)	Tm (-)
	n (%)	n (%)
Микрокарцином (n=618)	50 (8)	568 (92)
Класически вариант (n=466)	64 (14)	402 (86)
Фоликуларен вариант (n=236)	29 (12)	207 (88)
Tall cell вариант (n=24)	2 (8)	22 (92)
Дифузен склерозиращ вариант (n=21)	21 (100)	0(0)
Други варианти (n=9)	2 (22)	7 (78)
Общо (n=1374)	168 (12)	1206 (88)



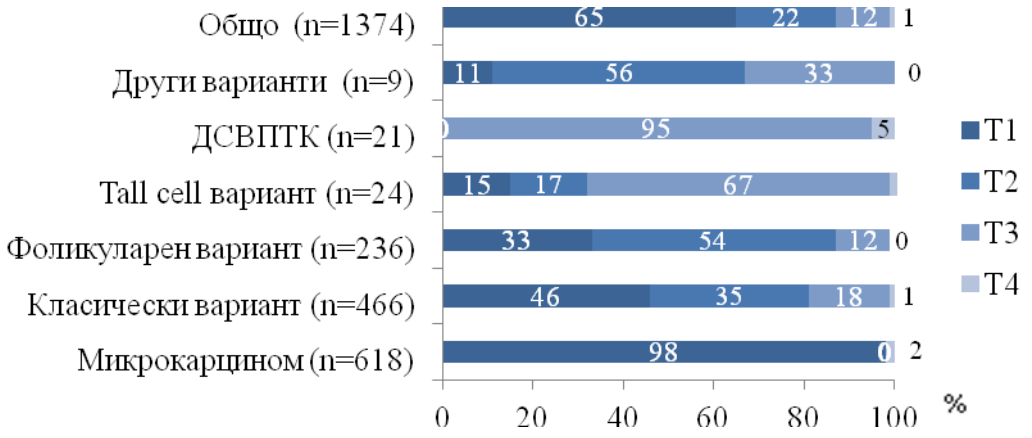
Фиг. 32. Дялове на туморна мултифокалност (Tm) при отделните варианти на ПТК

- *Стадий на тумора (pT) при отделните варианти на ПТК*

Дяловете на пациентите с отделните микроскопски варианти на ПТК според стадия на тумора (pT) са дадени на табл. 26 и фиг. 33. Почти всички ПМК бяха pT1a (98%), с изключение на 13 случая, при които бе определен стадий pT3 (периферна локализация на тумора и начална капсулна инфилтрация на щитовидната жлеза). При класическия ПТК, pT1 бяха 46% от туморите, pT2 - други 35%, и останалите случаи бяха с pT3 и pT4 -18% и 1%, съответно. При пациентите с ФВПТК, дялът на pT2 тумори бе най-голям (54%), следван от този на pT1 туморите (33%), а дялът на pT3 туморите –най-малък (12%). При случаите с tall cell вариант на ПТК и ДСВПТК дялът на pT3 туморите бе най-голям - 67% и 97%, съответно. В групата други ПТК, преобладаващият брой тумори бяха pT2.

Таблица 26. Стадиране на тумора (pT) при отделните варианти на ПТК

Хистологични варианти	T1 n (%)	T2 n (%)	T3 n (%)	T4 n (%)
Микрокарцином (n=618)	605(98)		13(2)	
Класически вариант (n=466)	214(46)	163(35)	84(18)	5(1)
Фоликуларен вариант (n=236)	79(33)	128(54)	29(12)	
tall cell вариант (n=24)	3 (15)	4 (17)	16 (67)	1 (4)
Дифузен склерозиращ вариант (n=21)			20(95)	1(5)
Други варианти (n=9)	1 (11)	5 (56)	3 (33)	
Общо (n=1374)	902 (65)	300 (22)	165 (12)	7 (1)



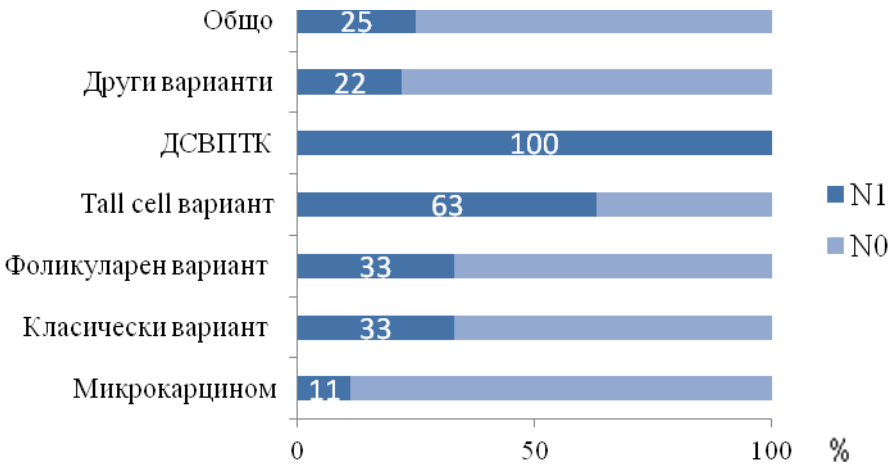
Фиг. 33. Дялове на туморния стадий (pT) при отделните подвидове ПТК

- *Нодален статус (N0/N1) при отделните варианти на ПТК*

Хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1) отбелязахме в 25% от всички случаи с ПТК. Дяловете на pN1 при отделните вариантите на ПТК е показана на табл. 27 и фиг. 34. Всички случаи с ДСВПТК, както и 2/3 от тези с tall cell вариант на ПТК бяха pN1. При класическия ПТК и ФВПТК установихме еднаква честота на pN1, в 1/3 от случаите (по 33%). При случаите с ПМК честота на pN1 бе 10%.

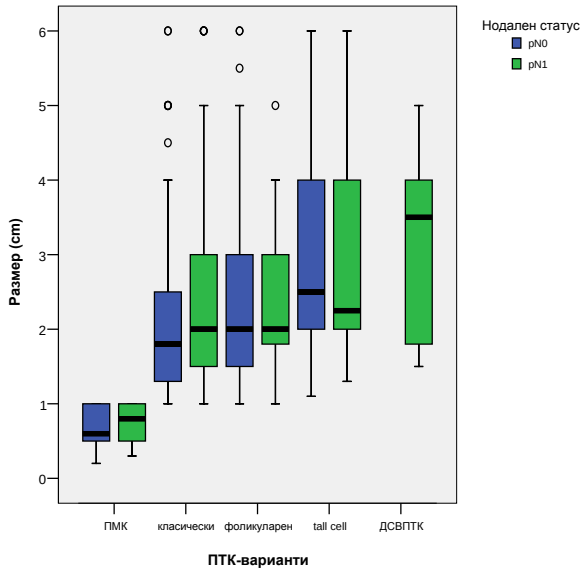
Таблица 27. Нодален статус (pN) при отделните варианти на ПТК

Хистологични варианти	N1	N0
	n (%)	n (%)
Микрокарцином (n=618)	65 (10)	553 (90)
Класически вариант (n=466)	154(33)	312 (67)
Фоликуларен вариант (n=236)	79 (33)	157 (67)
Tall cell вариант (n=24)	15 (63)	9 (37)
Дифузен склерозиращ вариант (n=21)	21 (100)	0 (0)
Други варианти (n=9)	2 (22)	7 (78)
Общо (n=1374)	336 (25)	1038 (75)



Фиг. 34. Дялове на pN0/N1 при отделните варианти на ПТК

В допълнение, потърсихме връзка между наличието на метастази (pN1) от една страна и размера и мултифокалността на тумора от друга страна при отделните подвидове ПТК. Извършеният анализ показа позитивна връзка между нодалния статус (pN1) и размера на тумора при класическия ПТК (F=7,617, p=0,006) и ПМК (F=3.926, p=0,048), (фиг. 35). Налице бе също връзка между наличието на метастази в лимфните възли и мултифокалността на тумора при ПМК, класическия и ФВПТК (табл. 28).



Фиг. 35. Размер на тумора (cm) според нодалния статус на отделните подвидове ПТК.

Таблица 28. Връзка между нодалния статус и туморната мултифокалност (Tm) при отделните варианти на ПТК

Хистологични варианти на ПТК	N стадий	Tm (+)	Tm (-)	P=
		n (%)	n (%)	
Класически вариант (n=466)	N0 (n=312)	36 (12)	276 (88)	0,036
	N1 (n=154)	28 (18)	126(82)	
Микрокарцином (n=618)	N0 (n=553)	34 (6)	519 (94)	0,0001
	N1 (n=65)	16 (25)	49 (75)	
Фоликуларен вариант (n=236)	N0 (n=157)	9 (6)	148 (94)	0,0001
	N1 (n=79)	20 (25)	59 (75)	

Конвенционалното лечение на пациентите с тиреоиден карцином се базира на клинико-патологичната стратификация на заболяването, което е с доказана ефективност от дълги години и понастоящем универсално средство в онкологичната практика. TNM класификацията е най-често използвана при рисковата стратификация на злокачествените тумори с различна локализация. ПТК е най-общо индолентен тумор, с добра прогноза след хирургичната му резекция. При някои случаи, свързани с наличие на специфични клинико-патологични параметри прогнозата е по-лоша. Метастазите в лифните възли в централния и латералния компартмент (N1b), обширната екстратиреоидна инвазия (T4) и далечните метастази (M1) са независими фактори, които корелират с по-лошата прогноза пациентите с тиреоиден карцином (224). Мултифокалните тумори при пациентите с ПТК са чести, и в някои проучвания са асоциирани с по-лоша прогноза (308). Според други автори тази характристика няма връзка с късната преживяемост на пациентите (76, 208, 396). Размерът на метастатичните лифни възли, както и наличието на екстра-капсулно разпространение повлияват риска за рецидив/персистиране на ПТК (368, 490). Наличието на съдова инвазия също има прогностично значение и показва връзка с по-агресивното поведение на тумора и по-високата честота на рецидиви (157, 177, 338). Ito и Miyauchi оценяват ефекта на редица клиникопатологични фактори върху карцином-свързана смъртност и появата на рецидиви при голям брой пациенти с ПТК (226). Авторите установяват, че при пациентите с ПТК най-голямо прогностично значение имат възрастта

над 55 г, наличието на далечни метастази при диагнозата или големи лимфни възли (≥ 3 cm), както и наличието на екстранодална или обширна екстратироидна туморна инвазия; с умерена прогностичната стойност са големия размер на тумора (над 4 cm), наличието на метастатични лимфни възли под 3 cm и мъжкия пол, а латентните метастатични лимфни възли и мултифокалността на тумора са със слаба прогностична стойност. Познаването и диагностицирането на различните варианти на ПТК има значение не само за патолозите, но също така и за клиницистите т.к някои от тях се асоциират с прогностично по-благоприятно, а други с по- агресивно поведение в сравнение с класическия ПТК.

През последните години в редица клинико- патологични проучвания на ПТК се оценява прогностичната стойност на диагнозата на отделните варианти на ПТК с цел подобряване на индивидуализираното лечение на многобройните пациенти с ПТК.

В това проучване ние оценихме връзката между отделните микроскопски варианти на ПТК, диагностицирани в нашия клиничен център за период от 20 години с другите хистопатологични фактори с доказано прогностично значение, включени в патохистологичното стадиране на тиреоидните карциноми (pTN), а именно размер на тумора, мултифокалност на тумора, pT стадий и pN статус. Нашите резултати показаха, че при случаите с ПМК средният размер на тумора логично е най-малък в сравнение с другите варианти на ПТК, но варира в широки граници от 0.2 до 1 см; най-голям дял от туморите бяха в най-ранния туморен стадий (pTa) и само 2% бяха pT3; мултифокален тумор (Tm) и pN1 отбелязахме също в малък брой случаи (8 и 10%, съответно). От друга страна, наличието на метастази в лимфните възли показа връзка с по-големия размер на тумора и туморната мултифокалност. Тези резултати са в съгласие с данните на другите автори, че в по-голяма си част ПМК са тумори с нисък малигнен потенциал, който е в основата на по-консервативното му хирургично лечение. Във връзка с високата му честота и доброкачественото му клинично поведение наскоро бе предложен терминът „ папиларен микротумор” вместо ПМК. Тази терминология, обаче, изключва туморите при пациенти под 19-годишна възраст и тези с метастази, които могат да са биологично различни (380). Наличието на ПМК с по-агресивно поведение е причина за един от най-дискутираните въпроси в тиреоидната хирургия, а именно кой е оптималният метод за хирургично лечение, свързан с обема на резекцията и индикациите за лимфна дисекция. При проучване на туморната характеристика на 321 случая с ПМК, при които е проведена

тотална тиреоидектомия с и без лимфна дисекция се установява, че 35.1% от туморите са агресивни, 25.2% мултицентрични, с близо два пъти по-често фокуси в контралатералния лоб в сравнение с ипсилатералния лоб и 18.2% с pN1 (130). Извършеният мултивариационен анализ открива, че мултицентричността в контралатералния лоб и мъжкия пол са рискови фактори за pN1. Авторите обобщават, че туморната характеристика на ПМК е по-малко рискова в сравнение с по-големите по размер класически ПТК, но при немалка част от пациентите с ПМК е налице по-агресивно поведение на тумора и необходимост от строга преценка на терапевтичния/хирургичен подход. Резултатите на други автори показват, че рискът за рецидив при ПМК и класическия ПТК е сходен след корекция за пол, след корекция за пол, възраст, проведена лимфна дисекция и/или радиойодтерапия (298). Авторите заключават, че терапевтичното поведение при случаите с ПМК не може да се базира само на диаметъра на тумора и препоръчват по-строг подход и контрол на пациентите с ПМК. Данните от извършен мета анализ показват, че в 28% от случаите с ПМК може да има метастази в лимфните възли, но карцином-свързаната смъртност е 0.3% (385). Като рискови фактори се посочват мъжкия пол, размер на тумора над > 5 mm, билатерални/мултифокални тумори, метастази в лимфните възли при диагностицирането, капсулна инвазия/екстратиреоидна инвазия, BRAF мутация и стромната фиброза. За отбелязване е, че по-ниската честота на туморна мултифокалност и pN1 в нашето проучване вероятно е резултат на големия брой случай с ПМК през последните години, при които е извършена само лобектомия и не са изследвани лимфни възли.

При случаите с ФВПТК установихме по-голям среден размер на тумора в сравнение с класическия ПТК, но по-малък при сравнение с двата агресивни варианта; дяловете на pT2 и pT3 бяха по-голям и по-малък при сравнение с тези на класическия ПТК, съответно, а честотата на Tm и pN1 при двата варианта бе сходна. Наличието на pN1 показа връзка с туморната мултифокалност и при двата варианта, но не и с размера на тумора при ФВПТК. Подобно на нашите резултати, други автори също установяват по-голям среден размер на тумора и по-рядко наличие на капсулна и екстратиреоидна инвазия при пациентите с ФВПТК в сравнение с класическия ПТК при ФВПТК (448). Извършвайки анализ на ехографските белези на тумора при тези случаи, авторите посочват, че по-големия размер на тумора при ФВПТК може да е резултат на по-голямата честота на

ниско рисковите ехографски белези за малигненост в сравнение с тази при класическия ПТК (348, 448). Tunca F и сътр. сравняват хистопатологичните параметри при 258 случая с класически ПТК и 153 случая с ФВПТК, при които е извършена тотална тиреоидектомия (448). Те установяват липса на значима разлика в средния размер на тумора между двата варианта и значимо по-висок дял на тиреоидна капсулна инвазия, екстратиреоидно разпространение и метастази в лимфните възли при случаите с класически ПТК.
На базата на тези резултатите и данните за локален рецидив при проследяването, авторите заключават, че късната прогноза на пациентите с двата чести варианта на ПТК е сходна, на фона на проведеното адекватно хирургично и постхирургично поведение. Най-убедителни са данните за диференцирания прогностичен риск на ФВПТК в сравнение с класическия ПТК и tall cell вариант на ПТК (TCV) в проведеното наскоро мултицентрично проучване от Shi X и сътр., включващо 6282 пациенти с ПТК (403). Авторите установяват значими различия в честотата на високо-рисковите клинико-патологични параметри между отделните варианти, включително екстратиреоидна инвазия, метастази в лимфните възли, авансирарал стадий III/IV, поява на рецидиви и тумор-специфична смъртност и необходимост от радиойод терапия ($p < .001$), които са подредени в следния ред – най-високи при TCV на ПТК, най-ниски при класическия ПТК и междинни при ФВПТК (TCV > класически ПТК ≫ ФВПТК). Те обобщават, че получените резултати имат важно клинично отражение с оглед индивидуализираното лечение на пациентите с ПТК.

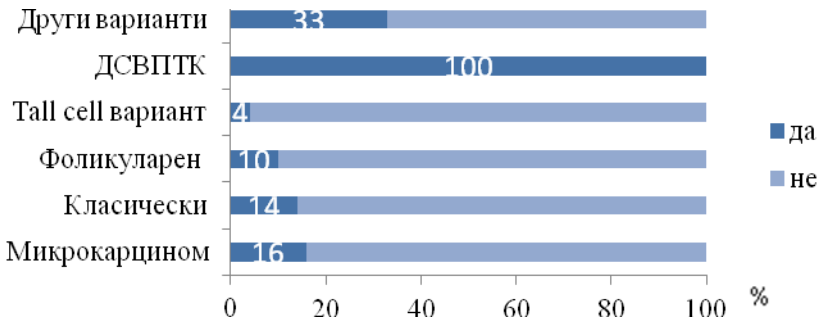
Подобно на другите автори, ние също установихме, че при двата агресивни варианта на ПТК, а именно ДСВПТК и tall cell вариант (TCV) средният размер на тумора бе по-голям в сравнение с всички останали варианти; при почти всички пациенти с ДСВПТК туморът бе pT3, а Tm и pN1 отчетохме в 100%; при TCV дяловете pT3, Tm и pN1 бяха по-малки в сравнение с ДСВПТК, но по-големи (без Tm) в сравнение с тези на по-малко агресивните варианти ПТК (ПМК, ФВПТК и класически ПТК). В редица проучвания се оценява самостоятелната прогностистична стойност на отделните агресивни варианти на ПТК. Някои автори обсъждат, че прогнозата на пациентите с ДСВПТК е вероятно сходна с тази на случаите с класически ПТК, въпреки по-честите метастази в лимфните възли или далечни метастази при ДСВПТК (91, 415). Други автори докладват, че 5- и 10-годишната преживяемост при пациентите с ДСВПТК е 95% и 93%, съответно и сходна с тази, установена при пациентите с класическия ПТК (29, 211). Данните от проведени проучания

показват, че tall cell вариантът на ПТК е клинично по-агресивен тумор от класическия ПТК, с по-висока честота на рецидиви и тумор специфична смъртност (25% /10 г.) Пациентите с този вариант се отличават с наличие на редица негативни прогностични фактори –по-възрастни, по-голям размер на тумора, по-често наличие на некрози и митотична активност, както и екстратиреоидна инвазия (124, 183, 236, 331). Girardi и сътр. (186) установяват, че дялът на агресивните варианти на ПТК (5.6%) е малък в сравнение с общия брой проучени пациенти с ПТК (n=517) и наличие на връзка между агресивните варианти и някои хистопатологични фактори с доказано прогностично значение (по-голем диаметъра на тумора, pT стадия, съдовата инвазия и капсулната инвазия на ЩЖ). Те допускат, че тези фактори могат самостоятелно да повлияват прогнозата на пациентите с потенциално по-агресивни варианти на ПТК. В проучване на голям брой пациенти с ДСВПТК (n=261) и TCV (n=573), използвайки SEER база данните за периода 1988-2008 г, също се показва, че агресивните варианти са свързани с по-висока честота на екстратиреоидна инвазия, Tm и лифни, или далечни метастази ($p < 0.001$) в сравнение с класическия ПТК (243). Метастазите в лимфните възли са по-чести при ДСВПТК (72.2% vs. 66.8% TCV vs. 56.3% класически ПТК, $p < 0.001$), а далечните метастази са по-чести при TCV (11.1% vs. 7.3% ДСВПТК vs. 4.3% ПТК, $P < 0.001$). След корекция, 5-годишната преживяемост при случаите с ДСВПТК [hazard ratio (HR) 1.8, $P = 0.007$] и TCV (HR 1.9, $P < 0.001$) е значимо по-ниска (87.5% ДСВПТК, 80.6% TCV vs. 93.5% класически ПТК, $P < 0.001$). Размерът на тумора е независим негативен предиктор при TCV (HR 1.29, $P < 0.001$), но не и при ДСВПТК. Авторите обобщават, че ДСВПТК и tall cell варианта на ПТК са с по-лоша прогноза в сравнение с класическия ПТК и пациентите с тези варианти трябва да се лекуват агресивно с тиреоидектомия и радиойод, независимо от размера на тумора. Данните от скорошен мета анализ също показват, че tall cell вариантът на ПТК е негативен прогностичен фактор, определящ необходимостта от точното му хистологично диагностициране и агресивно лечение (229). Анализирайки данните за 131 случая с TCV на ПТК на базата на публикуваните до 2010 г случаи, авторите установяват, че комбинираното odds ratio за рецидив на тумора спрямо класическия ПТК е 4.50 (95% CI 2.90 -6.99), а комбинираното odds ratio за тумор-асоцииранатa смъртност при tall cell варианта в сравнение с класическия ПТК е 14.28 (95% CI 8.01 -25.46).

В обобщение, извършеният анализ на хистопатологичното стадиране (pTN) показа различия в честотата на отделните патохистологични параметри с доказано прогностично значение при различните микроскопски варианти на ПТК, диагностицирани за период от 20 години. При ПМК, въпреки ниския му малигнен потенциал като цяло, са налице тумори с Tm и pN1. При ФВПТК и класическия ПТК честотата на отделните хистопатологични параметри бе сходна. При ДСВПТК и tall cell вариант на ПТК честотата на патохистологичните параметри с негативна прогностична стойност бе най-голяма.

3. Оценка на наличието на лимфоидни инфилтрати/хроничен лимфоцитарен тиреоидит при отделните микроскопски варианти на ПТК

Наличие на лимфоидни инфилтрати/хроничен лимфоцитарен тиреоидит (ЛТ) в паренхима на жлезата в съседство на тумора установихме при 195 (14%) от общия брой случаи с ПТК. Отделно оценихме наличието на съпътстващ хроничен ЛТ според вида на микроскопския вариант на ПТК (фиг. 36). Хроничен ЛТ най-често установихме при случаите с ДСВПТК и единичните случаи с Хъртелов вариант на ПТК. В групата на ПМК наличие на хроничен ЛТ отбелязахме при 98 случая (16%), а в тези на класическия ПТК и ФВПТК–при 64 случая (14%) и 23 случая (10%), съответно.



Фиг. 36. Дялове на хистологично установени лимфоидни инфилтрати/ хроничен лимфоцитарен тиреоидит при отделните варианти на ПТК.

За оценка на прогностичната стойност на този параметър при ПТК потърсихме връзка между наличието на ЛТ от една страна и от друга с размера на тумора, туморния стадий,

нодалния статус, пола и възрастта на всички пациентите с ПТК. Средният размер на тумора при случаите с ПТК и съпътстващ хроничен ЛТ бе значимо по-малък в сравнение със средния размер на тумора при случаите с ПТК без съспътстващ ЛТ (1,23±0.76 cm срещу 1,57±1.22 cm, F=14.188, p=0.0001). Дялът на туморите в напреднал стадий (pT3 и pT4) при случаите със съпътстващ ЛТ бе значимо по-малък в сравнение с този при случаите без ЛТ (6.2% срещу 12.7%, x^2= 6.325, p=0,004). Съпътстващ хроничен ЛТ бе налице значимо по- често при жените с ПТК в сравнение с мъжете (94% срещу 6%, x^2= 16.918, p=0.0001). Не установихме връзка между наличието на лимфоидни инфилтрати в съседство на тумора от една страна и от друга с възрастта на пациентите с ПТК или нодалния статус (pN1).

Литературните данни, включително и нашите резултати, показват, че при пациентите с ПТК нерядко се установява хистологично наличие на лимфоидни инфилтрати/хроничен лимфоцитарен тиреоидит в паренхим на ЩЖ в съседство на тумора. Известно е, че хроничния ЛТ и ПТК имат сходни епидемиологични и молекулярни особености. Въпреки, че докладваната честота на лимфоцитна възпалителна реакция при ПТК е вариращa, точната взимовръзката между тези две чести тиреоидни заболявания е все още обект на дискусия. Особено актуален е въпроса за ефекта на хроничния/автоимунен ЛТ върху прогнозата на пациентите с ПТК. Докато някои автори докладват за по-лоша или сходна прогноза на пациентите с ТК и хроничен ЛТ, в редица проучвания се посочва позитивна прогностична стойност на лимфоцитната инфилтрация в тези случаи (41, 110, 185, 217, 241, 251, 347). Посочва се, че детайлното проучване на клиничното значение на автоимунитета при ПТК би допренесло за усъвършенстване на имунотерапията при пациентите с тиреоиден карцином (110). Именно затова, в настоящето проучване ние оценихме връзката между лимфоцитната инфилтрация/хроничния ЛТ и някои клинико-патологичните параметри при всички случаи с хистологично диагностициран ПТК за период от 20 г.

Извършеният от нас анализ показа наличие на лимфоцитна инфилтрация/хроничен ЛТ при ~ всеки седми пациент с ПТК, но при всички случаи с ДСВПТК и онкоцитен вариант на ПТК. При ПМК, класическия ПТК и ФВПТК дялът на лимфоцитна инфилтрация/хроничен ЛТ бе сходен, от 10 до 16%. Оценявайки връзката между

хроничния ЛТ и отделните клинико-патологични параметри с доказано прогностично значение, ние установихме че при случаите с ПТК и съпътстващ ЛТ е налице значимо по-голям дял на жените и на туморите в ранен стадий (pT1 и pT2), както и по-малък размер на тумора, в сравнение с тези с ПТК без данни за лимфоцитна инфилтрация. От друга страна не установихме връзка между хроничния ЛТ и възрастта под и над 45 г и pN1. Подобни резултати се съобщават и от други автори (185, 217). Те обсъждат, че по-добрата прогноза на случаите с ПТК с асоцииран ТХ може да е резултат на съчетанието с клинико-патологичните фактори с доказан благоприятен ефект върху прогнозата или на потенциален анти-туморен ефект на лимфоцитната инфилтрация. В подкрепа на схващането, че наличието на ЛТ при пациентите с ПТК е независим предиктор за неагресивно поведение са наскоро пубикуваните резултати на Kim SK и сътр. (251). Авторите установяват значимо по-ниска честота на BRAF мутацията при пациентите с ПТК и ЛТ както и позитивна прогностична стойност на ЛТ при случаите с ПТК, независимо от статуса на на BRAF мутацията. Други автори проучват връзката между лимфоцитната инфилтрация в ЩЖ и появата на рецидив при 25 пациента с ПТК (15 класически и 10 ПМК), проследени за период от 5-10 г (347). Поява на рецидив отчитат само при 3 случая без съпътстващ ЛТ ((n=13) и при нито един от пациентите с ПТК и данни за ЛТ (n=12). Авторите допускат, че лимфоцитната инфилтрация в ЩЖ е благоприятен прогностичен маркер, въпреки че е необходимо проучване на по-голяма група пациенти с ПТК със и без съпътстващ ЛТ.

В обобщение, наличието на съпътстваща лимфоцитна инфитрация/ хроничен лимфоцитарен тиреоидит при пациентите с хистологично диагностициран ПТК за период от 20 години в нашето проучване е нерядко (всеки 7-ми случай) и показва връзка с женския пол, по-малкия среден размер на тумора и ранния туморен стадий.

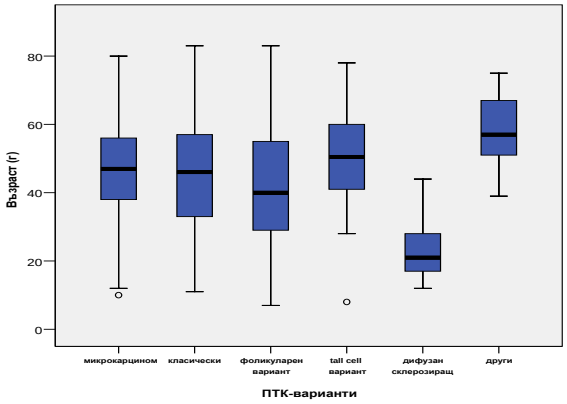
4. Полови и възрастови различия на пациентите според микроскопския вариант на ПТК

Характеристиката на пациентите с отделните подвидове ПТК според пола, възрастта и възраст над и под 45 г. е дадена на табл. 29. При всички подвидове ПТК дялът на пациентите от женски пол бе по-голям в сравнение с този на мъжете ($p< 0.001$), с

изключение на tall cell варианта, при който липсваше полова разлика. Най-висок бе дялът на жените при лицата с ПМК (м:ж 1:7), следван от този при ФВПТК (м:ж 1:5)) и класическия ПТК (м:ж 1:4). Най-нисък бе дялът на жените спрямо мъжете при случаите с ДСВПТК (м:ж 1:1.6) и tall cell вариант на ПТК (м:ж 1:1.2). Средната възраст на жените бе значимо по-ниска в сравнение с тази на мъжете само в подгрупата пациенти с ФВПТК (40,46±15,68 с/у 46,33±15,96, F= 4,539, p=0.034). Дялът на мъжете над 45 г бе значимо по-голям в сравнение с този при жените над 45 г при случаите с класически ПТК (61% с/у 48%, x^2= 4.842, p=0,014) и ФВПТК (56% с/у 35%, x^2= 5.414, p=0,011). Средната възраст на пациентите с ДСВПТК бе най-ниска при сравнение с тази на случаите от всички други подгрупи (p=0.0001), а дялът на случаите под 45 г бе 100%. Най-голяма бе средната възраст на случаите с други варианти на ПТК, следвана от тази на случаите с tall cell вариант, като в двете групи преобладаваха пациентите на възраст над 45 г. (89% и 67%, съответно) (фиг. 37). Средната възраст на пациентите с ФВПТК бе значимо по-ниска от тази на случаите с ПМК (Z=-4, 763, p<0.001) и класически ПТК (Z=-3.251, p=0.001). Не открихме разлика при сравнение на средните възрасти на подгрупите с ПМК и класически ПТК. За отбелязване е също, че и в двете подгрупи дяловете на пациентите под и над 45 г бяха около 50%.

Табл. 29. Характеристиката на пациентите с отделните подвидове ПТК по пол, възраст и възраст над и под 45 г.

Хистологични варианти на ПТК	Пол		Средна възраст	Възраст	
	Мъже n (%)	Жени n (%)	S±X	< 45 г- n (%)	>45 г - n %)
ПМК (n=618)	66 (11)	466 (89)	46,74±12,85	280 (45)	338(55)
Класически вариант (n=466)	91(20)	375 (80)	45,44±15,84	230 (49)	236(51)
ФВПТК (n=236)	39 (17)	197 (83)	41,85±15,73	145(61)	91(39)
Tall cell вариант (n=24)	11 (46)	13 (54)	49,27±16,12	8 (33)	16 (67)
ДСВПТК (n=21)	8 (38)	13 (62)	23,33±9,47	21(100)	
Други варианти (n=9)	3 (33)	6 (67)	58,56±12,13	1 (11)	8 (89)



Фиг. 37. Средна възраст (г) на пациентите според хистологичния вариант на ПТК.

Половите и възрастови различия при пациентите с отделните микроскопски варианти на ПТК оценихме за динамика през отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването. По отношение на пола, не установихме разлика в дяловете на пациентите от мъжки и женски пол в нито една от подгрупите варианти на ПТК през отделните периоди на проучването, включително за ПМК (табл. 30). По отношение на възрастта, също не установихме значима разлика в дяловете на пациентите под и над 45 г при всички варианти на ПТК за отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването. При ПМК бе налице тенденция за нарастване на дяла на случаите на възраст над 45 г през втория спрямо първоя 10-годишен период, но без статистическа значимост (57%/2006-2015 г срещу 52%/1996-2005 г).

Таблица 30. Оценка на динамиката в броя на хистологично диагностицираните ПМК за отделните периоди на проучването според пола и възрастта на пациентите.

Брой ПМК през отделните периоди	Пол		Възраст	
	Мъже n (%)	Жени n (%)	< 45 г n (%)	>45 г n (%)
5-годишни периоди				
1996-2000 г (n=120)	12 (10)	108(90)	61 (51)	59(49)
2001-2005 г (n=134)	18 (13)	116(87)	62(46)	72(54)
2006-2010 г (n=161)	13 (8)	148 (92)	58(36)	103(64)
2011-2015 г (n=203)	23 (11)	180(89)	99(49)	104(51)
10-годишни периоди				
1996-2005 г (n=254)	30(12)	224 (88)	123(48)	131(52)
2006-2015 г (n=364)	36(10)	328(90)	157(43)	207(57)
Общ брой/20 години (n=618)	66 (11)	466 (89)	280 (45)	338(55)

Допълнително оценихме влиянието на пола и възрастта на пациентите с отделните микроскопски варианти на ПТК върху туморния стадий (pT) и нодален статус (pN). Резултатите от извършения анализ показаха, че сред мъжете процентът на авансиралите тумори (pT3 и pT4) бе значимо по-голям в сравнение с този при жените единствено в групата пациенти с класически ПТК (32% срещу 16%, x^2= 10.929, p=0.001). По отношение на нодалния статус установихме обратна тенденция – в групата на мъжете дялът на метастатичните лимфни възли (pN1) бе по-малък в сравнение със съответния дял при жените в групите с ПМК (21% срещу 79%, x^2=7. 752, p=0.005) и класически ПТК (25% срещу 75%, x^2=3.704, p=0.034). При пациентите над 45 г дялът на туморите в напреднал стадий (pT3 и pT4) бе значимо по-голям в сравнение със съответния дял при пациентите под 45 г както при пациентите с класически ПТК (24% срещу 14% , x^2= 6.041, p=0.007), така и при тези с ФВПТК (18% срещу 9% , x^2= 3.094, p=0.041). Дялът на метастатичните лимфни възли бе по-голям при пациентите под 45 г в сравнение със съответния дял при лицата над 45 г в групите с ПМК (61% срещу 32%, x^2=7. 008, p=0.004) и класически ПТК (57% срещу 43%, x^2=4.271, p=0.019).

В това проучване ние оценихме връзката между отделните микроскопски варианти и основните клинични фактори с доказано прогностично значение, а именно пола и възрастта. Нашите резултати показаха, женският пол е значимо по-чест при почти всички микроскопски варианти на ПТК, като са налице някои съществени различия. Установеното от нас високо отношението мъже: жени 1:7 при ПМК прогресивно намаля до 1:5, 1:4, 1:1.6 и 1:1.2 при групите пациенти с класически ПТК, ФВПТК, ДСВПТК и tall cell вариант на ПТК. При оценката на половите различия в динамика през отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването не установихме разлика в дяловете на пациентите от мъжки и женски пол при нито една от подгрупите варианти на ПТК, включително ПМК. Този резултат е в съответствие с публикуваните в други проучвания данни за паралелно нарастване на броя на диагностицираните случаи с ПТК от двара пола през последните години (278, 496). В нашето проучване връзка на мъжкия пол с по-авансирал туморен стадий установихме само при случаите с класически ПТК, а дялът на pN1 бе значимо по-малък в сравнение с жените. В контраст, в няколко проучвания се докладва, че мъжкият пол е независим рисков фактор при ПТК за поява на метастази в регионалните лимфни

възли (131, 216). Едно от възможните обяснения за този резултат в нашето проучване е голямата полова разлика в честотата на ПТК при най-честите варианти на ПТК, а метастази в лимфните възли само в една четвърт от всички случаи.

Резултатите по отношение на възрастовите особености на пациентите с отделните микроскопски варианти на ПТК в нашето проучване съответстват на данните в литературата по този въпрос. Подобно на други автори, ние установихме, че пациентите с ДСВПТК са по-млади в сравнение със всички останали групи пациенти с ПТК. В едно проучване се докладва, че ДСВПТК е най-честият микроскопски вариант на ПТК при пациенти под 20 г (91). Подобно на други автори, ние отбелязахме че средната възраст на случаите с tall cell вариант, както и дялът на тези на възраст над 45 г., са по-голями при сравнение с пациентите с класически ПТК. В някои проучвания се допуска, че по-лошата прогноза на пациентите с tall cell вариант може да е резултат както на напредналия стадий на тумора, така и на по-голямата им възраст. В други проучвания, обаче, се докладва, че рискът за рецидив при този вариант остава по-висок в сравнение с класическия ПТК дори при контролиране на възрастта и стадия на тумора (183, 316, 331). За отбелязване е, че в нашето проучване не установихме разлика във възрастта на пациентите с класически ПТК и ПМК, а дяловете на случаите под и над 45 г. бяха почти еднакви. Единствено, средната възраст на случаите с ФВПТК бе по-ниска в сравнение с тази на случаите с ПМК и класически ПТК. За отбелязване е, че в нашето проучване не установихме значима разлика в дяловете на пациентите под и над 45 г при всички варианти на ПТК за отделните 5- и 10-годишни периоди на проучването. За разлика от резултатите в други проучвания, при нашите случаи с ПМК установихме само тенденция за нарастване на дяла на случаите на възраст над 45 г през втория 10-годишен период спрямо първия, но разликата не бе статистическа значима. Оценявайки прогностичната стойност на възрастта под и над 45 г ние открихме по-голям брой тумори в напреднал стадий при случаите с класически ПТК и ФВПТК, но по-малък брой случаи с pN1 сред пациентите над 45 години в сравнение с пациентите в млада възраст в групите с ПМК и класически ПТК. Възможно обяснение за този резултат е по-големия брой млади пациенти с клинично изявен и диагностициран предоперативно ПТК в нашата серия.

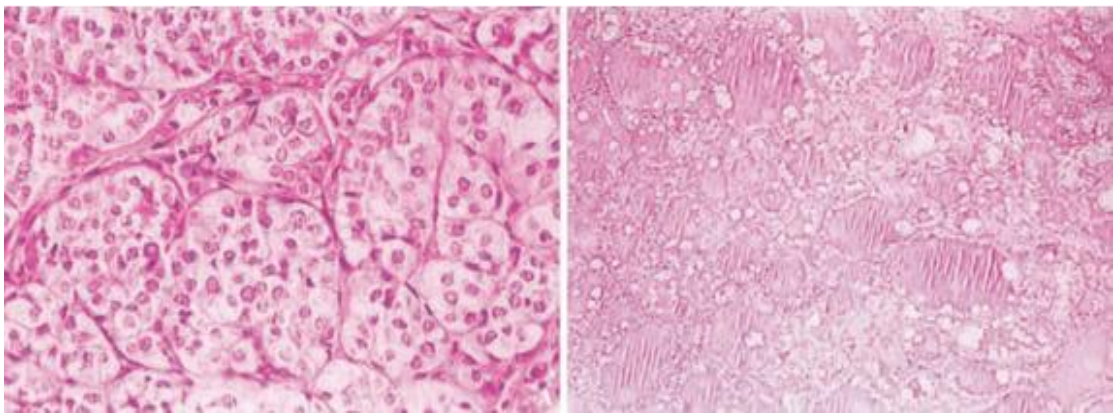
В обобщение, ПМК и класическият ПТК са от седем до пет пъти по-чести при жените в сравнение с мъжете. Дяловете на пациетите в млада и средна възраст при ПМК са еднакви, като е налице тенденция за нарастване на броя на пациентите над 45 г в по-късните периоди на проучването. Налице са характерни възрастови и полови различия според микроскопския вариант на ПТК, съответстващи на тяхната биологична характеристика. Резултатите от нашето проучване потвърждават негативната прогностична стойност на мъжкия пол и възрастта над 45 г върху туморния стадий, но не и върху нодалния статус при пациентите с най-честите варианти на ПТК.

III. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ОСОБЕНОСТИТЕ НА РЯДЪК ПОДВАРИАНТ НА ФОЛИКУЛАРНИЯ ВАРИАНТ НА ПТК

Фоликуларният вариант на ПТК (ФВПТК) е един от най-честите варианти на ПТК, при който се различават 2 основни подвида –капсулиран и инфилтративен. Освен това са описани и други два много редки подварианта –дифузен и макрофоликуларен вариант на ПТК. В серия от ПТК, оперирани и хистологично диагностицирани в нашия клиничен център, ние класифицирахме 10 случая като дифузен (или мултинодуларен) ФВПТК и извършихме сравнителен клинико-патологичен и имунохистохимичен анализ с различни туморни маркери (uPA-R, Lewis X, Sialyl Lewis X, MIB-1) чрез проучване на случаи с класически ПТК и класически ФВПТК (228).

- *Хистологични особености на дифузния ФВПТК*

Отличителните хистологични белези на нашите случаи с дифузен ФВПТК са туморна инфилтрация на цялата щитовидна жлеза или единия лоб, доминиране на микрофоликуларния строеж на тумора и малки огнища от фоликули с умерен и голям размер, съставени от фоликуларни клетки с белези на ядрата на ПТК при липса на псамомни телца, фиброза и лимфоцитна инфилтрация (фиг. 38 а, б).



Фиг. 38. а, б**.** Хистологични белези на дифузния фоликуларен вариант на ПТК **(**H&E, x400 и x100, съответно).

- *Клинико-патологични характеристика на дифузния ФВПТК*

Клинико-патологични праметри и сравнението на случаите с дифузен ФВПТК, класически ПТК и класически ФВПТК са дадени на табл. 31. Средната възраст на пациентите с дифузен ФВПТК (26.8±3.3 г) е значимо по-ниска от тази на пациентите с класически ПТК (42.5±3.3 г) и ФВПТК (40.3±2.3 г). Не установихме значима разлика при сравнение на средния размер на най-големия нодул при случаите с дифузен ФВПТК и този на класическия вариант на ПТК и класическия ФВПТК. Обратно, при случаите с дифузен ФВПТК наличието на мултицентричност, екстратиреоидна инвазия, метастази в лимфните възли и венозно-съдова инвазия бе значимо по-често.

Таблица 31. Сравнителна клинико-патоломорфологична характеристика на дифузния ФВПТК, класическия ПТК и конвенционалния ФВПТК.

	Класически ПТК (n=25)	p[a]	Дифузен ФВПТК (n=10)	P[b]	Конвенционален ФВПТК (n=8)	P[c]
Пол (мъже;жени)	8;17	NS	1;9	NS	0;8	NS
Средна възраст (x±SD)*	42.5±3.3	0.008	26.8±3.3	0.008	40.3±2.3	NS
Размер на тумора (cm) (x±SD)*	2.0±0.2	NS	2.5±0.3	NS	2.3±0.4	NS
Мултифокалност (%)	24.0	0.002	80[d]	0.0007	0	NS
Екстратиреоидна инвазия	12.0	0.0006	70	0.003	0	NS
Метастази в ЛВ (pN1), (%)	36	0.019	80	0.004	12.5	NS
Съдова инвазия (%)	20	0.0009	80	0.0007	0	NS

[a] Сравнение между дифузен ФВПТК и класически ПТК
[b] Сравнение между дифузен ФВПТК и конвенционален ФВПТК
[c] Сравнение между класически ПТК и конвенционален ФВПТК
[d] При 2 случая туморът обхващаше целия тиреоиден лоб
[*] Използван е Mann-Whitney test, а при останалите 2-test

- *Имунохистохимичен анализ на дифузния ФВПТК*

Резултатите от извършения имунохистохимичен анализ на експресията на маркерите uPA-R, Lewis X, Sialyl Lewis X и MIB-1 са показани на табл. 32. Стойността на изчисления от нас скор на експресията на *uPA-R* при дифузния ФВПТК бе значимо по-висока в

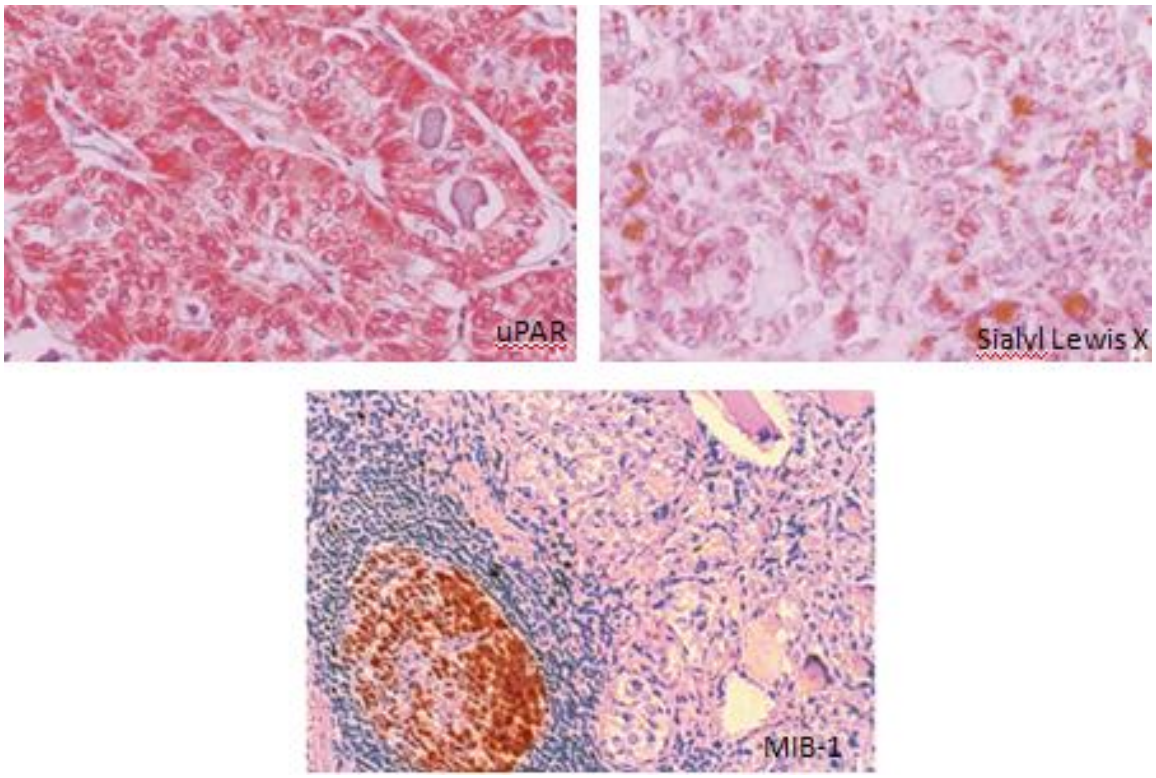
сравнение с тази на класическия ПТК (фиг. 38 в), както и процентът на позитивните клетки за *uPA-R* (p=0.01). Стойността на скора за uPA-R бе по-висока при случаите с дифузен ФВПТК и при сравнение с тази на изследваните от нас случаи с класически ФВПТК, но без статистически значима разлика. Имунохистохимичният скор за Lewis X antigen, както и интензитета на реакцията бяха значимо по-високи при класическия ПТК в сравнение с дифузния и класически варианти на ФВПТК (p=0.03). Имунохистохимичният скор за Sialyl Lewis X (фиг. 38, г) и интензитета на експресията бяха значимо по-високи при дифузния ФВПТК в сравнение с класическия ФВПТК (p=0.020). Скорът за Sialyl Lewis X на случаите с ФВПТК бе по-висок при сравнение и с този на класическия ПТК, но без статистически значима разлика. Резултатите показаха, че изчисленото отношение на скоровете за Sialyl Lewis X и Lewis X бе значимо по-високо при дифузния ФВПТК в сравнение с това на класическия ПТК (p=0.0004) и класическия ФВПТК (p=0.018). При оценка на пролиферативната активност на тумора чрез MIB-1 не установихме статистически значими разлики между трите групи с отделните варианти на ПТК. Процентът на туморните клетки, експресиращи MIB 1 бе много нисък и сходен с този на дифузния ФВПТК (1.3±0.2), класическия ПТК (0.9±0.2), и ФВПТК (1.4±0.3). Позитивна експресия за MIB1 наблюдавахме също в огнищата на екстратиреоидна инвазия и венозна инвазия на дифузния ФВПТК (фиг. 38 е).

В допълнение, потърсихме връзка между имунохистохимичната експресия на отделните туморни маркери и клинико-патологичните параметри. Скорът за uPA-R бе по-висок, но без статистически значима разлика, при случаите с екстратиреоидна инвазия в сравнение с тези без екстратиреоидна инвазия. Позитивна корелация бе установена между стойностите на MIB 1 индекса и скора за uPA-R (p=0.04). Експресията на Sialyl Lewis X също показа връзка с наличието на мултицентричност (интратиреоидна дисеминация; p=0.006) и екстратиреоидната инвазия (p=0.016). Не открихме връзка между експресията на Lewis X и нито един от отделните клинико-патологични параметри.

Таблица 32. Имунохистохимична експресия на uPA-R, Lewis X и Sialyl Lewis X и MIB-1 при дифузния ФВПТК, класическия ПТК и конвенционалния ФВПТК.

	Класически ПТК (n=8)	p[a]	Дифузен ФВПТК (n=10)	P[b]	Конвенционален ФВПТК (n=8)	P[c]
Скор uPA-R (x±SD)	5.0±1.3	0.016	9.9±1.1	NS	8.0±0.5	NS
Скор Lewis X (x±SD)	4.4±1.4	0.014	0.4±0.3	NS	0.9±0.4	0.05
Скор Lewis X (x±SD)	2.9±1.2	NS	3.3±0.6	0.005	0.7±0.4	NS
MIB-1(x±SD)	0.9±0.2	NS	1.3±0.2	NS	1.4±0.3	NS

[a] Сравнение между дифузен ФВПТК и класически ПТК (Mann-Whitney test)
[b] Сравнение между дифузен ФВПТК и конвенционален ФВПТК (Mann-Whitney test)
[c] Сравнение между класически ПТК и конвенционален ФВПТК (Mann-Whitney test)



Фиг. 39. Имунохистохимия – а. изразена експресия на uPAR. б. Огнищна експресия на Sialyl Lewis X (x400) и в. Липса на MIB-1 експресия в ядрата на туморните клетки (x100).

Папиларният тиреоиден карцином е най-честият ендокринен злокачествен тумор (80-90% от всички тиреоидни карциноми), с нарастваща честота по целия свят. Фоликуларният вариант на ПТК, който е с докладвана честота около 20% от всички ПТК, е с добра прогноза и сходна с тази на класическия ПТК (233, 267). Дифузният ФВПТК е един от най-рядките варианти на ПТК, описан за пръв път от Sobrinho-Simoes и сътр. при 8 случая, посочвайки агресивното му поведение (421). Съвсем наскоро Vinciguerra и сътр. съобщиха, че броят на докладваните случаи с този рядък вариант на ПТК в литературата досега е общо 24, включвайки нашите 10 случаи (460). Извършената от нас сравнителна клинико-патологична характеристика и имунохистохимичен анализ с различни маркери на тези случаи има както практическо, така и теоретично значение по отношение на патогенезата на този рядък вариант на ПТК. Нашите резултати показаха, че дифузният ФВПТК се развива най-често при млади жени (26.8±3.3) и се отличава с мултинодуларен, или дифузен туморен растеж. Туморните нодули, най-често без добре оформена капсула, са съставени предимно от микрофоликули или трабекули. Най-отличителните белези на дифузния ФВПТК, обаче, са значимо по-честото наличие на локална, нодална и съдова инвазивност. Този факт се потвърждава и от данните на други автори (86, 197, 198). Подобно на Guo и сътр. (197) ние не установихме по-висок MIB-1 индекс или p53 имуноекспресия (данните не са показани) при случаите с дифузен ФВПТК в сравнение с тези с класически ПТК или ФВПТК. Експресията на Sialyl Lewis X antigen бе значимо по-изразена при дифузния ФВПТК в сравнение с класическия ФВПТК и показа връзка с мултицентричността и екстратиреоидното разпространение на тумора. Тези данни са в подкрепа на предполагаемата роля на Sialyl Lewis X от някои автори за инвазивността на туморните клетки (39). По-слабата експресията на Lewis X (native histoblood group antigen) при дифузния ФВПТК в сравнение с класическия ПТК съответства на докладваните резултати от други автори за връзка между експресията на някои въглехидратни антигени с папиларния строеж на ПТК (148). Съществени различия установихме също в експресията на uPAR и отношението Sialyl Lewis X и Lewis X при дифузния ФВПТК в сравнение с класическия ПТК. Наличието на връзка между имуноекспресията на uPA-R и Sialyl Lewis с екстратиреоидната инвазия допуска възможността тези молекули да имат известна патогенетична роля в този аспект. От друга страна, агресивното поведение на

дифузния ФВПТК при някои от случаите може да е резултат на съпътстващата екстратиреоидна и/или съдова инвазия.

В обобщение, познаването на хистологичните и биологичните особености на дифузния ФВПТК има своето диагностично и клинично значение. То ще позволи поставянето на точна диагноза и провеждане на адекватно лечение при редките случаи с този вариант на ПТК. Отличителни белези на дифузния ФВПТК са неговата по-честа локална, нодална и съдова инвазивност, както и значимо по-честатата му поява при жени в по-млада възраст в сравнение с класическия ПТК и ФВПТК.

IV. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ЕКПРЕСИОННО-ГЕНЕТИЧНИЯ ПРОФИЛ НА ПАПИЛАРНИЯ ТИРЕОИДЕН КАРЦИНОМ ПРИ БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТИ

Развитието и усъвършенстването на микрочиповите технологии даде възможност за получаване на обстойни генно-експресионни профили на туморите с различна локализация, анализирайки генната експресия на десетки хиляди гени едновременно. Получените генно-експресионни данни позволяват да бъдат идентифицирани гени, които се експресират в определен клетъчен тип в определено време и при специфични условия, както и идентифицирането на нови гени с потенциално диагностично или прогностично значение. През последните години усилията на редица изследователи, използвайки микрочипови технологии, бяха насочени към разкриването на нови данни за молекулярната патогенеза на доброкачествените и злокачествени тиреоидни тумори, които не могат да бъдат установени чрез изследванията на отделни гени (38, 55, 296, 295, 493).

В тази насока ние си поставихме за цел да характеризираме генно-експресионния профил на 18 ПТК при български пациенти прилагайки лазерна микродисекция за пречистване на тумормата клетъчна популация и използвайки олигонуклеотиден чип GeneChip U133Plus2.0 (Affymetrix), съдържащ около 38 500 транскрипти (337). За целите на анализа селектирахме гените, които бяха отчетени от програмата като статистически значими (експресия над нивото на фоновия шум) при поне 9 от 18-те тумора. Гените, чието експресионно съотношение r бе по-голямо от 5.0 при поне 9 от 18-те тумор бяха считани за повишени или свръхекспресирани и обратно, гените (или генните транскрипти), чието експресионно съотношение бе по-малко от 0,2 при поне 9 от 18-те тумора, бяха дефинирани като понижени или гени с понижена експресия в туморните проби. Прилагайки посочените критерии ние селектирахме 243 транскрипта като гени с повишена експресия или трайно повишени в туморните случаи в сравнение с контролната здрава тироидна тъкан (табл. 33) и 138 транскрипта като гени с намалена експресия "трайно понижени" (табл. 34). За потвърждаване достоверността на получените резултати допълнително бе проведен RT-PCR анализ при 17 ПТК.

Гените с повишена експресия включваха гени, асоциирани със сигналната трансдукция (*CEACAM6, RGS4, KISS1R, PSD3, CXCL14, GPR92*), регулацията на транскрипцията (*NFE2L3, CDH3, CITED1, EHF, RUNX1*), регулация на клетъчния растеж и клетъчния

цикъл (*PDGFA*, *GPNMB*, *SFN*, *DUSP6*), апоптозата (*PMAIP1*, *PRUNE2*, *TNFRSF10C*), протеолизата (*TMPRSS4*, *PRSS23*, *MMP9*, *KLK10*, *CTSC*, *ADAMTS9*), клетъчната адхезия (*FN1*, *CDH6*, *ITGA2*, *TNC*, *AMIGO2*, *TGFBI*) и имунния отговор (*CD55*). Между трайно повишените гени от нашия списък *CH3L1*, *TUSC3*, *TIMP1*, *FN1* и *TMPRSS4* бяха вече докладвани в други проучвания като активирани гени при тиреоиден карцином (194, 231). Сред гените с намалена експресия (табл. 34), 98 транскрипти също бяха отчасти функционално характеризирани. В тази група се включваха *ID3* (инхибитор на ДНК свързване 3), *ID4* (инхибитор на ДНК свързване 4), и *TFCP2L* (Транскрипционен фактор CP2-like 1), който участва в супресията на растежа или регулацията на транкрипцията (164, 412). За отбелязване е, че *ID3 и ID4* бяха със значимо ниска експресия при 17 от 18 случая с ПТК, което определя потенциална роля на пониженатa експресия на тези гени в тиреоидната карциногенеза.

Таблица 33. Гени с повишена експресия при случаите с ПТК, изледвани чрез олигонуклеотиден експресионен анализ

No.	Идентифика-ционен no	Генен символ	Наименование на гена
1	AJ276395	FN1	Fibronectin 1
2	M80927	CHI3L1	Chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)
3	NM_003843	SCEL	Sciellin
4	BC036592	GABRB2	γ-aminobutyric acid (GABA) A receptor, ß 2
5	W73431	FN1	Fibronectin 1
6	AI632223	FAM20A	Family with sequence similarity 20, member A
7	BF791631	KLHDC8A	Kelch domain containing 8A
8	X02761	FN1	Fibronectin 1
9	AA725246		CDNA FLJ11417 fis, clone HEMBA1000960
10	BC005008	CEACAM6	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6
11	BC005858	FN1	Fibronectin 1
12	AI884858	TUSC3	Tumor suppressor candidate 3
13	AA088857	LIPH	Lipase, member H
14	AF130095	GAP43	Growth associated protein 43
15	NM_002045	FN1	Fibronectin 1
16	AI656481		CDNA FLJ37386 fis, clone BRAMY2026538
17	AI949827	NFE2L3	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 3
18	AA772920	GABRB2	γ-aminobutyric acid (GABA) A receptor, ß 2
19	AK026737	FN1	Fibronectin 1
20	NM_006681	NMU	Neuromedin U
21	AW015920		Transcribed locus
22	BE222344		Homo sapiens, mRNA
23	NM_021127	PMAIP1	Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1

24	AI246687	CTSC	Cathepsin C
25	AL514445	RGS4	Regulator of G-protein signalling 4
26	NM_016425	TMPRSS4	Transmembrane protease, serine 4
27	BF672975	LPL	Lipoprotein lipase
28	NM_001935	DPP4	Dipeptidyl-peptidase 4 (CD26, adenosine deaminase complexing protein 2)
29	AU156760		CDNA FLJ11044 fis
30	AA991267		Transcribed locus
31	J02761	SFTPB	Surfactant, pulmonary-associated protein B
32	AW294986		Transcribed locus
33	AL133706		CDNA FLJ45325 fis
34	NM_030788	TM7SF4	Transmembrane 7 superfamily member 4
35	T62088	SERPINA1	Serpin peptidase inhibitor
36	NM_007231	SLC6A14	Solute carrier family 6 (amino acid transporter), member 14
37	NM_024650	C11orf80	Chromosome 11 open reading frame 80
38	NM_002848	PTPRO	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, O
39	AK095719	FLJ42709	Hypothetical gene supported by AK124699
40	J02761	SFTPB	Surfactant, pulmonary-associated protein B
41	AI333596		Transcribed locus
42	NM_005564	LCN2	Lipocalin 2 (oncogene 24p3)
43	AU146886		CDNA FLJ12023 fis
44	AF146796	SLC34A2	Solute carrier family 34 (sodium phosphate), member 2
45	NM_002607	PDGFA	Platelet-derived growth factor α polypeptide
46	NM_001793	CDH3	Cadherin 3, type 1, P-cadherin (placental)
47	BC011595	GPNMB	Glycoprotein (transmembrane) nmb
48	NM_014031	SLC27A6	Solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 6
49	BF431214		Transcribed locus
50	AI798118		Transcribed locus
51	AW299924	GOLT1A	Golgi transport 1 homolog A
52	AK024280	SYT12	Synaptotagmin XII
53	AA584297	LRP4	Low density lipoprotein receptor-related protein 4
54	AI422986	ST8SIA4	ST8 α-N-acetyl-neuraminide α-2,8-sialyltransferase 4
55	AB002365	PRUNE2	Prune homolog 2
56	AF012536	TNFRSF10C	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10c
57	NM_016657	KDELR3	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 3
58	AV725825	ZCCHC12	Zinc finger, CCHC domain containing 12
59	M80536	DPP4	Dipeptidyl-peptidase 4 (CD26, adenosine deaminase complexing protein 2)
60	NM_000693	ALDH1A3	Aldehyde dehydrogenase 1 family, member A3
61	AI806346	SNAP25	Synaptosomal-associated protein, 25 kDa
62	AK026751		CDNA: FLJ23098 fis, clone LNG07440
63	BE043700	PDLIM4	PDZ and LIM domain 4
64	NM_000698	ALOX5	Arachidonate 5-lipoxygenase
65	N36762		Transcribed locus
66	NM_018700	TRIM36	Tripartite motif-containing 36
67	X57348	SFN	Stratifin
68	BF344237	CDH6	Cadherin 6, type 2, K-cadherin (fetal kidney
69	NM_002203	ITGA2	Integrin, α 2

70	NM_020037	ABCC3	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 3
71	AU144855	CYP1B1	Cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1
72	AF131837	ST6GALNAC5	ST6 -N-acetylgalactosaminide α-2,6-sialyltransferase 5
73	NM_000295	SERPINA1	Serpin peptidase inhibitor, clade A (α-1 antiproteinase, antitrypsin), member 1
74	X57348	SFN	Stratifin
75	NM_004143	CITED1	Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 1
76	NM_000313	PROS1	Protein S (α)
77	L25541	LAMB3	Laminin, ß 3
78	BC015881	STRA6	Stimulated by retinoic acid gene 6 homolog (mouse)
79	BC004869	C6orf168	Chromosome 6 open reading frame 168
80	AL022718	ODZ1	Odz, odd Oz/ten-m homolog 1(Drosophila)
81	NM_003483	HMGA2	High mobility group AT-hook 2
82	AW263497	SYTL5	Synaptotagmin-like 5
83	AI630979		CDNA FLJ30539 fis, clone BRAWH2001255
84	CA503291	B3GNT7	UDP-GlcNAc:ßGal ß-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 7
85			Full-length cDNA of Neuroblastoma Cot 50-normalized of Homo sapiens
86	NM_012413	QPCT	Glutaminyl-peptide cyclotransferase (glutaminyl cyclase)
87	M18728	CEACAM6	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6
88	BC001193	HIST3H2A	Histone cluster 3, H2a
89	M83248	SPP1	Secreted phosphoprotein 1
90	AB011133	MAST3	Microtubule associated serine/threonine kinase 3
91	NM_002658	PLAU	Plasminogen activator, urokinase
92	AK027164	LARP2	La ribonucleoprotein domain family, member 2
93	M80927	CHI3L1	Chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)
94	NM_003020	SCG5	Secretogranin V (7B2 protein)
95	AK001166	DEPDC1B	DEP domain containing 1B
96	NM_001211	BUB1B	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog ß (yeast)
97	NM_001394	DUSP4	Dual specificity phosphatase 4
98	BC032227	ZFYVE16	Zinc finger, FYVE domain containing 16
99	NM_002594	PCSK2	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 2
100	AI887306		Full length insert cDNA YN63H06
101	BF062804		Transcribed locus
102	AF153820	KCNJ2	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2
103	AW051856	FLNA	Filamin A, α (actin binding protein 280)
104	NM_005797	MPZL2	Myelin protein zero-like 2
105	NM_005764	PDZK1IP1	PDZK1 interacting protein 1
106	AI670947	CNKSR2	Connector enhancer of kinase suppressor of Ras 2
107	NM_013271	PCSK1N	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 1 inhibitor
108	BE383308		CDNA clone IMAGE:4067166
109	AL136588	C8orf57	Chromosome 8 open reading frame 57
110	J04152	TACSTD2	Tumor-associated calcium signal transducer 2
111	NM_016448	DTL	Denticleless homolog (Drosophila)
112	AF119873	SERPINA1	Serpin peptidase inhibitor, clade A (α-1 antiproteinase, antitrypsin), member 1
113	NM_002160	TNC	Tenascin C (hexabrachion)
114	AA405456	RP13-102H20.1	Hypothetical protein FLJ30058

115	AK026776	LRRK2	leucine-rich repeat kinase 2
116	NM_030965	ST6GALNAC5	ST6 -N-acetylgalactosaminide α-2,6-sialyltransferase 5
117	U90902	TIAM1	T-cell lymphoma invasion and metastasis 1
118	AV731490	SYT1	Synaptotagmin I
119	AI608725	ICAM1	Intercellular adhesion molecule 1 (CD54), human rhinovirus receptor
120	AW470178	SCEL	Sciellin
121	NM_000237	LPL	Lipoprotein lipase
122	AI732083		Transcribed locus
123	U42349	TUSC3	Tumor suppressor candidate 3
124	AF231124	SPOCK1	Sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan (testican) 1
125	AI935123	AHNAK2	AHNAK nucleoprotein 2
126	NM_004949	DSC2	Desmocollin 2
127	BF438386	RAB27B	RAB27B, member RAS oncogene family
128	AK026714	PELI1	Pellino homolog 1 (Drosophila)
129	NM_018286	TMEM100	Transmembrane protein 100
130	AW291369	FAM20A	Family with sequence similarity 20, member A
131	NM_020130	C8orf4	Chromosome 8 open reading frame 4
132	AL031664	PCSK2	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 2
133	AA584310	CTHRC1	Collagen triple helix repeat containing 1
134	AI924046		Transcribed locus
135	NM_004795	KL	Klotho
136	AA705118		Full length insert cDNA
137	AF101051	CLDN1	Claudin 1
138	AB032261	SCD	Stearoyl-CoA desaturase (δ-9-desaturase)
139	BE218239	NLF1	Nuclear localized factor 1
140	BE796148	RNF183	Ring finger protein 183
141	AF153882	PDLIM4	PDZ and LIM domain 4
142	NM_000104	CYP1B1	Cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1
143	NM_002250	KCNN4	Potassium conductance calcium-activated channel, subfamily N, member 4
144	H17038	FLJ25076	Similar to CG4502-PA
145	NM_005491	CXorf6	Chromosome X open reading frame 6
146	NM_003254	TIMP1	TIMP metallopeptidase inhibitor 1
147	AI860568	FAM20A	Family with sequence similarity 20, member A
148	NM_001196	BID	BH3 interacting domain death agonist
149	AF003934	GDF15	Growth differentiation factor 15
150	AF035307	PLXNC1	Plexin C1
151	AU154504	CYP1B1	Cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1
152	NM_016629	TNFRSF21	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 21
153	BF110534		Transcribed locus
154	N95414	ITGA2	Integrin, α 2
155	NM_002120	HLA-DOB	Major histocompatibility complex, class II
156	AI819198	KISS1R	KISS1 receptor
157	AB014609	MRC2	Mannose receptor, C type 2
158	AA565141	EHF	Ets homologous factor
159	NM_005764	PDZK1IP1	PDZK1 interacting protein 1
160	BF434846	TNC	Tenascin C
161	D43968	RUNX1	Runt-related transcription factor 1

162	AW271106		Transcribed locus
163	AI254547	PDLIM4	PDZ and LIM domain 4
164	AW962511	C11orf80	Chromosome 11 open reading frame 80
165	AI431730	ADAMTS9	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 9
166	AV702357		Transcribed locus
167	AC004010	AMIGO2	Adhesion molecule with Ig-like domain 2
168	BF515888	ABCC3	ATP-binding cassette, sub-family C
169	AI250910		CDNA FLJ30378 fis, clone BRACE2007953
170	AW117368	PSD3	Pleckstrin and Sec7 domain containing 3
171	BF723605		CDNA FLJ11892 fis, clone HEMBA1007281
172	M34064	CDH2	Cadherin 2, type 1, N-cadherin (neuronal
173	NM_003064	SLPI	Secretory leukocyte peptidase inhibitor
174	AF255647	TMEM163	Transmembrane protein 163
175	NM_003236	TGFA	Transforming growth factor, α
176	NM_015310	PSD3	Pleckstrin and Sec7 domain containing 3
177	AU158871		CDNA FLJ13810 fis, clone THYRO1000279
178	NM_004887	CXCL14	Chemokine (C-X-C motif) ligand 14
179	AW183080	GPR92	G protein-coupled receptor 92
180	BC001120	LGALS3	Lectin, galactoside-binding, soluble, 3
181	AF131799	SDK1	Sidekick homolog 1,
182	BF218922	VCAN	Versican
183	NM_004304	ALK	Anaplastic lymphoma kinase (Ki-1)
184	AL353944	RUNX2	Runt-related transcription factor
185	BF515959		CDNA clone IMAGE:5286005
186	BC001288	CD55	CD55 molecule
187	AI246687	CTSC	Cathepsin C
188	NM_004199	P4HA2	Procollagen-proline, 2-oxoglutarate 4-dioxygenase
189	BC003143	DUSP6	Dual specificity phosphatase 6
190	NM_004834	MAP4K4	Mitogen-activated protein kinase 4
191	BE221212	COL1A1	Collagen, type I, α 1
192	BC005047	DUSP6	Dual specificity phosphatase 6
193	AW471145	PRSS23	Protease, serine, 23
194	NM_007173	PRSS23	Protease, serine, 24
195	H48516	DLEU2	Deleted in lymphocytic leukemia, 2
196	AA775177	PTPRE	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, E
197	NM_020651	PELI1	Pellino homolog 1 (Drosophila)
198	BF111326		Transcribed locus
199	BC003143	DUSP6	Dual specificity phosphatase 6
200	AB018289	KIAA0746	KIAA0746 protein
201	AA643687	SLC28A3	Solute carrier family 28
202	NM_004994	MMP9	Matrix metallopeptidase 9
203	AI189753	TM4SF1	Transmembrane 4 L six family member 1
204	NM_000574	CD55	CD55 molecule
205	NM_017423	GALNT7	UDP-N-acetyl-α-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 7
206	AW044663		Transcribed locus
207	AL390172	BCAT1	Branched chain aminotransferase 1, cytosolic
208	AA552969	ST8SIA4	ST8 α-N-acetyl-neuraminide α-2,8-sialyltransferase 4

209	AI028661	MTUS1	Mitochondrial tumor suppressor 1
210	U79292	MMP16	Matrix metallopeptidase 16
211	AF132203	SCD	Stearoyl-CoA desaturase (δ-9-desaturase
212	BC002710	KLK10	Kallikrein-related peptidase 10
213	AU145865	LOC653135	Similar to Nucleosome-binding protein 1
214	AU151483	CDH6	Cadherin 6, type 2, K-cadherin (fetal kidney)
215	AI743727		Transcribed locus
216	NM_000358	TGFBI	Transforming growth factor, ß-induced, 68 kDa
217	U16996	DUSP6	Dual specificity phosphatase 6
218	NM_003081	SNAP25	Synaptosomal-associated protein, 25 kDa
219	AL137725	EPPK1	Epiplakin 1
220	AA579773		Transcribed locus
221	AW007080	IL17RD	Interleukin 17 receptor D
222	NM_014020	TMEM176B	Transmembrane protein 176B
223	AB011537	SLIT1	Slit homolog 1
224	CA448665	CD55	CD55 molecule
225	AA460299	MLF1IP	MLF1 interacting protein
226	U90905		Clone 23574 mRNA sequence
227	NM_005010	NRCAM	Neuronal cell adhesion molecule
228	BF224052	MYEF2	Myelin expression factor 2
229	AW802645		CDNA FLJ26187 fis,
230	AI675453	PLXNA3	Plexin A3
231	NM_024767	DLC1	Deleted in liver cancer 1
232	AI763378	EHF	Ets homologous factor
233	AK002075	MYEF2	Myelin expression factor 2
234	W72527	SLC1A4	Solute carrier family 1 (glutamate/neutral amino acid transporter), member 4
235	AI826125		Transcribed locus
236	NM_018584	CAMK2N1	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor
237	AF144103	CXCL14	CXCL14
238	NM_007267	TMC6	Transmembrane channel-like 6
239	NM_005756	GPR64	G protein-coupled receptor 64
240	AI732305		Transcribed locus
241	NM_018422	PSD3	Pleckstrin and Sec7 domain containing 3
242	NM_003151	STAT4	Signal transducer and activator of transcription 4
243	AK025615	BCAT1	Branched chain aminotransferase 1, cytosolic

Таблица 34. Гени с намалена експресия при случаите с ПТК, изледвани чрез олигонуклеотиден експресионен анализ.

No.	**Идентифика-ционен no**	**Генен символ**	**Наименование на гена**
1	NM_000792	DIO1	Deiodinase, iodothyronine, type I
2	AI758950	SLC26A7	Solute carrier family 26, member 7
3	U53506	DIO2	Deiodinase, iodothyronine, type II

4	AW166711	PIP3-E	Phosphoinositide-binding protein PIP3-E
5	AB014737	SMOC2	SPARC related modular calcium binding 2
6	M10943	MT1F	Metallothionein 1F
7	AI038059	DIO2	Deiodinase, iodothyronine, type II
8	BC037315		Hypothetical protein LOC286002
9	BF246115	MT1F	Metallothionein 1F
10	W63754	GLT8D2	Glycosyltransferase 8 domain containing 2
11	NM_003759	SLC4A4	Solute carrier family 4, member 4
12	NM_004105	EFEMP1	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1
13	NM_000441	SLC26A4	Solute carrier family 26, member 4
14	AF063606	TCEAL2	Transcription elongation factor A (SII)-like 2
15	NM_022783	DEPDC6	DEP domain containing 6
16	AW364675		Transcribed locus
17	NM_004669	CLIC3	Chloride intracellular channel 3
18	NM_005950	MT1G	Metallothionein 1G
19	AI826799	EFEMP1	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1
20	AB056106	ABI3BP	ABI gene family, member 3
21	BF002046	ANGPTL1	Angiopoietin-like 1
22	Z98443	WDR72	WD repeat domain 72
23	AI967987	MUM1L1	Melanoma associated antigen (mutated) 1-like 1
24	NM_002167	ID3	Inhibitor of DNA binding 3
25	NM_013989	DIO2	Deiodinase, iodothyronine, type II
26	NM_001449	FHL1	Four and a half LIM domains 1
27	NM_012082	ZFPM2	Zinc finger protein, multitype 2
28	AF074331	PAPSS2	3'-Phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase
29	AI690433	COL23A1	Collagen, type XXIII, α
30	D13889	ID1	Inhibitor of DNA binding 1,
31	AI989706	TDRD9	Tudor domain containing 9
32	BF982174	SDPR	Serum deprivation response
33	AL136566	C9orf58	Chromosome 9 open reading frame 58
34	NM_002380	MATN2	Matrilin 2
35	BE856341	LAYN	Layilin
36	NM_005951	MT1P2	Metallothionein 1 pseudogene 2
37	U16153	ID4	Inhibitor of DNA binding 4
38	AK023852		CDNA FLJ13790 fis, clone THYRO1000026
39	AL022726	ID4	Inhibitor of DNA binding 4
40	AF138300	DCN	Decorin
41	AV733266	IGJ	Immunoglobulin J
42	NM_018371	ChGn	Chondroitin ß1,4 N-acetylgalactosaminyltransferase
43	BE856336	C8orf13	Chromosome 8 open reading frame 13
44	AA701657	LIFR	Leukemia inhibitory factor receptor α
45	AI474666		Transcribed locus
46	R73030	LRP2	Low density lipoprotein-related protein 2
47	AA934610		Transcribed locus
48	BF431199	IYD	Iodotyrosine deiodinase
49	NM_002222	ITPR1	Inositol 1,4,5-triphosphate receptor, type 1
50	U89281	HSD17B6	Hydroxysteroid (17-ß) dehydrogenase 6

51	AW292765		CDNA FLJ42786 fis, clone BRAWH3006761
52	AI743534	ARHGAP24	Rho GTPase activating protein 24
53	AI928242	TFCP2L1	Transcription factor CP2-like 1
54	NM_022969	FGFR2	Fibroblast growth factor receptor 2
55	NM_005544	IRS1	Insulin receptor substrate 1
56	AF138302	DCN	Decorin
57	NM_006033	LIPG	Lipase, endothelial
58	NM_002885	RAP1GAP	RAP1 GTPase activating protein
59	NM_003890	FCGBP	Fc fragment of IgG binding protein
60	AI817041	CXCR7	Chemokine (C-X-C motif) receptor 7
61	AI281593	DCN	Decorin
62	AI680541	LIFR	Leukemia inhibitory factor receptor α
63	NM_001554	CYR61	Cysteine-rich, angiogenic inducer, 61
64	M87789	IGHG1,2,3,4	Immunoglobulin heavy locus
65	AI650848	TBC1D4	TBC1 domain family, member 4
66	NM_021069	SORBS2	Sorbin and SH3 domain containing 2
67	NM_005952	MT1X	Metallothionein 1X
68	NM_014214	IMPA2	Inositol(myo)-1(or 4)-monophosphatase 2
69	BF060767	ADAMTS5	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 5
70	AI659533	SORBS2	Sorbin and SH3 domain containing 2
71	AI217416		MRNA; cDNA DKFZp564B213
72	AV699825	LOC145786	Hypothetical protein LOC145786
73	S55735	IGHA1,2	Immunoglobulin heavy constant α 1, α 2
74	NM_005084	PLA2G7	Phospholipase A2
75	NM_006829	C10orf116	Chromosome 10 open reading frame 116
76	AL049977	CLDN8	Claudin 8
77	AI948472	PAX8	Paired box 8
78	T16544		Transcribed locus
79	AA464273	SHANK2	SH3 and multiple ankyrin repeat domains 2
80	NM_007038	ADAMTS5	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 5
81	NM_004165	RRAD	Ras-related associated with diabetes
82	BF304996	RGS16	Regulator of G-protein signaling 16
83	U94829	RGS16	Regulator of G-protein signaling 16
84	BF433902	TNFRSF11B	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11b
85	AF333388	MT1P2	Metallothionein 1 pseudogene 2
86	NM_002450	MT1X	Metallothionein 1X
87	NM_016725	FOLR1	Folate receptor 1 (adult)
88	L29008	SORD	Sorbitol dehydrogenase
89	NM_003104	SORD	Sorbitol dehydrogenase
90	NM_006633	IQGAP2	IQ motif containing GTPase activating protein 2
91	AW058459	TMEM171	Transmembrane protein 171
92	AA912476	LOC145786	Hypothetical protein LOC145786
93	AW299226	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)
94	AI823572	MGC45438	Hypothetical protein MGC45438
95	NM_018476	BEX1	Brain expressed, X-linked 1
96	AI095542		Transcribed locus

97	AW299958	PAPSS2	3'-Phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 2
98	NM_001674	ATF3	Activating transcription factor 3
99	AV699883	LOC653381	Similar to Sorbitol dehydrogenase
100	BE932011	C8orf79	Chromosome 8 open reading frame 79
101	NM_006208	ENPP1	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1
102	NM_005044	PRKX	Protein kinase, X-linked
103	AW157094	ID4	Inhibitor of DNA binding 4,
104	BF217861	MT1E	Metallothionein 1E
105	NM_000633	BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2
106	AL021786	ITM2A	Integral membrane protein 2A
107	AI221950	LRRN3	Leucine rich repeat neuronal 3
108	BE048514	SDC2	Syndecan 2
109	BF973568	SELM	Selenoprotein M
110	NM_004417	DUSP1	Dual specificity phosphatase 1
111	AL573851	ESAM	Endothelial cell adhesion molecule
112	M63438	IGKC,IGKV1-5	Immunoglobulin κ constant,variable 1-5
113	NM_013231	FLRT2	Fibronectin leucine rich transmembrane protein 2
114	AF109161	CITED2	Cbp/p300-interacting transactivator, 2
115	NM_022748	TNS3	Tensin 3
116	NM_014059	C13orf15	Chromosome 13 open reading frame 15
117	NM_024508	ZBED2	Zinc finger, BED-type containing 2
118	BC004490	FOS	V-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
119	AV646610	ID4	Inhibitor of DNA binding 4,
120	NM_002023	FMOD	Fibromodulin
121	NM_005461	MAFB	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B
122	AW149846	GPX3	Glutathione peroxidase 3 (plasma)
123	AL136805	TSHZ3	Teashirt zinc finger homeobox 3
124	U63917	GPER	G protein-coupled estrogen receptor 1
125	NM_024512	LRRC2	Leucine rich repeat containing 2
126	AA758751	DPY19L2	Dpy-19-like 2
127	NM_002228	JUN	Jun oncogene
128	NM_001174	ARHGAP6	Rho GTPase activating protein 6
129	NM_005953	MT2A	Metallothionein 2A
130	AU159390		CDNA FLJ13886 fis, clone THYRO1001559
131	AU154891		CDNA FLJ10919 fis, clone OVARC1000347
132	AI459140	GSTM3	Glutathione S-transferase M3 (brain)
133	AL136550	TMEM47	Transmembrane protein 47
134	AW575927	IGKC,IGKV1-5	Immunoglobulin κ constant,variable 1-5
135	N63377		CDNA FLJ13569 fis, clone PLACE1008369
136	BC001060	PAX8	Paired box 8
137	NM_003944	SELENBP1	Selenium binding protein 1
138	AI301859		Transcribed locus

Съвременният прогрес в молекулярната биология доведе до значим напредък в познанията ни за генезата на широк спектър от човешки неоплазми, включително тези на

щитовидната жлеза. Напредъкът в изучаването на генетичните и биологичните характеристики на тиреоидния карцином, успоредно с развитието и усъвършенстването на биотехнологиите и развитието на нови молекулярни таргетни терапии доведе до подобряване на диагнозата и лечението на пациентите с този карцином. Значим напредък бе постигнат в изучаването на молекулярната патогенеза на ПТК. Важно събитие в тази насока е публикуването през 2014 г на Thyoid Cancer Genome Atlas, в който се посочва че дялът на неизвестни мутации при ПТК е само 3.5% (437). Установено бе, че BRAF и RAS точковите мутации, както и RET/PTC, и PAX8/PPAR пренареждания са най-честите генетични алтерации, откривани в 80% от случаите с тиреоиден карцином (80, 377). Диагностичното и прогностично значение на откриването на *BRAF* V-600E мутация при ПТК бе докладвано в редица проучвания. Въвеждането и усъвършенстването на микрочиповите технологии даде възможност за характеризиране на цялостния генно-експресионен профил на различните видове тиреоидни тумори. Редица изследователи, използвайки тези съвременни методи на изследване доказаха, че откриването на някои гени с променена експресия също са с потенциално диагностично, прогностично или терапевтично значение с оглед създаването на бъдещи медикаменти, действащи на специфични онкогенни таргети. Натрупаните знания в молекулярната патогенеза на тиреоидния карцином доведоха до създаването на няколко молекулярни теста, чието приложение в клиничната практика подпомага определянето на риска за малигненост, както и взимането на решение за последващо поведение при случаите с недетерминирана тиреоидна цитология или фоликуларни пролиферации (454). Тези тестове използват различни методи (ДНК за откриване на мутациите или характеризиране на генния експресионен профил на транскрипционно или пост-транскрипционно ниво) за идентифициране на молекулярните сигнатури, специфични за ТК. Първоначалните резултати от тези тестове са обещаващи, но са необходими бъдещи клинични проучвания, които да оценят предимствата, цена-ефективността и мястото на молекулярните тестове в рутинната практика (207). В този аспект особено важно е преодоляването на финансовите и техническите затруднения, свързани с тяхната употреба.

С цел характеризиране на генно-експресионния профил на ПТК при български пациенти, извършихме изследване на 18 тумора, прилагайки олигонуклеотиден експесионен анализ. Проучването бе реализирано при изпълнението на съвместен проект на колеги от

Катедрата по медицинска генетика, МУ-София и Япония. Приложението на лазерна микродисекция, позволяваща пречистване в голяма степен на популациите от туморни и нормални епителни клетки, получени от хирургичните биопсии има съществено значение за точното характеризиране на гените, включени в карциногенезата. В литературата са налице няколко предшестващи проучвания на експресионния профил на тиреоидния карцином, базирани на използването на микрочипови технологии (32, 38, 55, 164. 296, 295, 412, 493). За доказване на предимствата на лазерната микродисекция ние сравнихме нашите резултати с данните на няколко репрезентативни микрочипови проучвания на тиреоидния карцином, в които са използвани РНКи, изолирани от цели недисектирани тъкани (32, 164, 412). Извършеният сравнителен анализ показа, че само 71/248 и 46/138 от гените с повишена и намалена експресия, съответно, в нашето проучване се припокриват с предишните експресионни данни. Възможно обяснение на различията в тези данни е факта, че експресионните профили от недисектирани тъкани са били контаминирани в значителна степен с различни видове клетки, включително С клетки, в нормалната тироидна тъкан, използвана като контрола.

Обобщението на данните от нашето проучване показа наличие на близо 250 гена с повишена експресия и малко под 150 гена с намалена експресия, повечето от които са свързани с различни биологични процеси в хода на канцерогенезата или различни молекулни функции (адхезионни молекули, растежни фактори, клетъчни сигнални молекули, транскрипционни регулатори, молекули имащи отношение към йонния транспорт или участващи в различни метаболитни процеси). Резултатите от извършените фунционални изследвания на някои селектирани гени с променена експресия, както в нашето проучване (в случая свръхекспресираните гени QPCT и RGS4, данните не са показани), така и в другите проучвания, показаха че те могат да служат като потенциални молекулярни маркери за ранна диагностика на ПТК или потенциални гени-мишени за бъдеща молекулярна таргетна терапия.

В заключение, проведеният олигонуклеотиден експресионен анализ на папиларния тиреоиден карцином даде възможност за цялостно характеризиране на генния - експресионния профил на най-честия злокачествен ендокринен тумор в нашата страна. Установени бяха общо 243 генни транскрипти с повишена експресия и 138 генни

транскрипти с понижена експресия при случаите с ПТК, които съставляват неговия генен експресионен профил. Повечето от тях са свързани с различни биологични процеси в хода на канцерогенезата или молекулни функции, а други са все още функционално непроучени.

V. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ОСОБЕНОСТИТЕ И АНАЛИЗ НА ЦИТОЛОГИЧНАТА ДИАГНОСТИКА НА ТИРЕОИДНИТЕ НОДУЛИ В ДИНАМИКА ЗА ПЕРИОД ОТ 20 ГОДИНИ

Тънкоигленатa биопсия (ТБ) под ехографски контрол с последващо цитологично изследване е метод на избор в съвременната диагностика на тиреодните нодули. През последните 30 години този метод се утвърди като най-надеждният, минимално инвазивен и цена –ефективен метод за откриване на малигнените тиреоидните нодули. Необходимостта от извършване на цитологични изследвания на тиреоидните нодули нарастна успоредно със значимото нарастване на честотата на ехографски откриваните непалпируеми, субклинични нодули в щитовидната жлеза, от които само 5-10% са злокачествени. Във връзка с рутинното извършване на ТБ на тиреоидните нодули възникна необходимостта от въвеждане на унифицирана и стандартизирана система за докладване на тиреоидната цитопатология, която да подпомогне клиницистите при взимане на решението за последващо поведение при пациентите. В това проучване ние си поставихме за цел да характеризираме особеностите и анализираме цитологичната диагностика на тиреоидните нодули в нашия клиничен център в динамика за период от 20 години. За изпълнение на тази задача, ние категоризирахме цитологичните резултати на изследваните тиреоидни пуктати в цитопатолични диагностични категории, обобщавайки нашия дългогодишен опит в тиреоидната цитопатология. В допълнение, всички цитологични резултати на тиреоидните нодули прекатегоризирахме в 6-те диагностични категории на Бетезда системата за отговор на тиреоидната цитопатология, прилагайки приетата в нея терминология и критерии за диагноза. По аналогичен начин класифицирахме цитологичните резултати на изследваните пунктати от лимфните възли или суспектни паратиреоидни лезии при пациентите с извършена едновременна ТБ на тиреоиден нодул/ нодули и лимфен възел или паратиреоидна лезия за целия период на проучването. Отделно извършихме полова и възрастова характеристика на пациентите с ТБ на тиреоиден нодул/нодули за периода на проучването в динамика и потърсим връзка между пола и възрастта от една страна и риска за определяне на отделните цитопатологични диагностични категории.

1. **Анализ на цитологичните особености на тиреоидните нодули, лимфните възли и суспектните паратиреоидни лезии при пациентите с извършена ТБ за период от 20 години; оценка на динамиката на цитологичната диагноза за периода на проучването**

- *Категоризация на цитологичния отговор на тиреоидните нодули и честота на отделните цитопатологични диагностични категории според предложената от нас (институционална) система*

Цитологичният резултат на всички пациенти, при които бе извършена ТБ на тиреоиден нодул/нодули за периода на проучването (n=8287) бе категоризизиран на базата на извършената цитологична интерпретация в 5 диагностични групи: 1. Недиагностична (неадекватна); 2. Доброкачествена; 3. Недетерминирана/фоликуларни пролиферации; 4. Суспектна за малигненост; 5. Малигнена. Резултатите от извършената категоризация показаха, че най-голям бе дялът на доброкачествената цитопатологична категория (82%), следван от този на суспектната за малигненост категория (6%) (табл.35). Дяловете на недетерминирана (фоликуларни пролиферации) и малигнената цитопатологични категория бяха сходни (4.3 и 4.5%, съответно), а този на недиагностичната категория – най-малък (3%). Най-честата цитологична диагноза при случаите разпределени в доброкачествената цитопатологична категория бе колоиден нодул, а следващата по-честа диагноза бе колоидна киста. Единични бяха случаите с цитологична диагноза тиреоидит на Хашимото или подостър тиреоидит, класифицирани също в доброкачествената цитопатологична категория. По аналогичен начин, в суспектната за малигненост категория, както и в малигнена цитопатологична категория преобладаваха случаите с цитологична диагноза суспекция или позитивна цитология за ПТК. Случаите с цитологична суспекция за МТК или друг вид тиреоиден (най-често нискодиференциран карцином), или нетиреоиден карцином или лимфом бяха единични.

Табл. 35. Категоризация на цитологичния отговор на тиреоините пунктати на пациентите с проведена ТБ на тиреоидни нодули за 20-годишния период на проучването.

Цитопатологични диагностични категории-тиреоидни нодули	n	%
Недиагностична	268	3.2
Доброкачествена	6797	82.0
Недетерминирана за малигненост /фоликуларни пролиферации	351	4.3
Суспектна за малигненост	499	6.0
Малигнена	372	4.5
Общо	8287	100

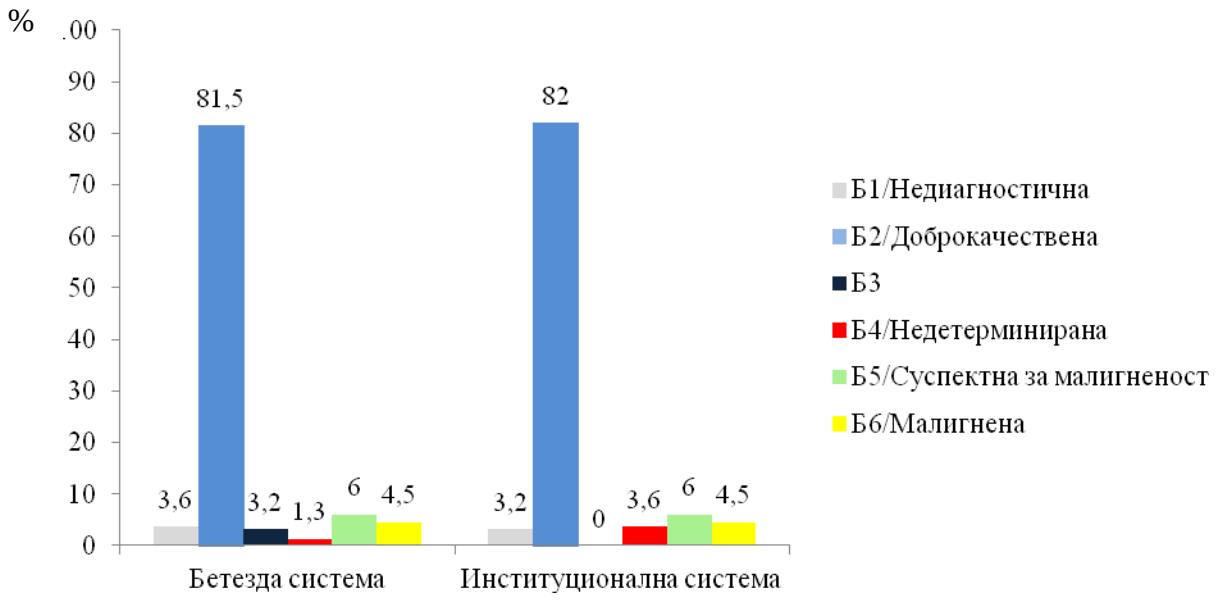
- *Категоризация на цитологичния отговор на тиреоидните нодули според Бетезда системата*

Резултатите от извършената категоризация на цитологичния отговор на тиреоидните нодули в 6-те тиреоидни цитопатологични категории по Бетезда системата спрямо 5-те цитопатологични категории определени по предложената от нас (институционална система при всички пациентите с проведена ТБ за целия период на проучването са дадени на табл. 36. Извършвайки прекатегоризация на недерминираната за малигненост категория (фоликуларни пролиферации) по нашата система в допълнителната 6-та категория по Бетезда системата, а именно Б3 категорията (атипия с неопределено значение или фоликуларна лезия с неопределено значение), по-големият брой цитологични резултати класифицирахме в Б3 категорията, а останалите цитологични резултати (n=106) класифицирахме в Б4 категорията. Малък брой цитологични резултати от доброкачествената цитопатологична категория (n=28) прекласифицирахме в недиагностичната категория. Дяловете на отделните 6 цитопатологични диагностични категории по Бетезда системата, сравнени с тези, определени по институционалната система при всички пациентите с проведена ТБ за целия период на проучването са показани на фиг. 40. Отново, най-висок бе дялът на доброкачествената цитопатологична категория (Б2) – 81.5%, следван от дяловете на Б5, Б6 и Б1 цитопатологични категории –

6%, 4.5% и 3.6%, съответно. Извършеното сравнение на двете системи показа, че дяловете на категориите Б1, Б2, Б5 и Б6 са почти еднакви с тези на недиагностичната, доброкачествената, суспектната за малигненост и малигнена цитологични категории, определени по нашата (институционална система) т.к използваните критерии за категоризация на цитологичния отговор в тези категории по двете системи са сходни. Въпреки, че дяловете на Б3 и Б4 категориите са най-малки в сравнение с останалите категории по Бетезда системата, то дялът на Б3 категорията (3.2%) в нашето проучване надвишава дялът на Б4 категорията (1.3%) повече от два пъти.

Таблица 36. Категоризация на цитологичния отговор при пациентите с проведена ТБ на тиреоидни нодули по Бетезда системата (6 категории) в сравнение с предложената от нас (институционална) система (5 категории).

Цитопатологични диагностични категория по Бетезда	Брой n (%)	Цитопатологични диагностични категории по институционалната система	Брой n (%)
Б1 - Недиагностична или недостатъчен материал	296 (3.6)	Недиагностична	268 (3.2)
Б2 -Доброкачествена	6753 (81.5)	Доброкачествена	6797(82.0)
Б3 - Атипия с неопределено значение или фоликуларна лезия с неопределено значение	261(3.2)	Недетерминирана за малигненост /фоликуларни пролиферации	351(4.3)
Б4 - Фоликуларна неоплазия или суспекция за фоликуларна неоплазия	106 (1.3)		
Б5 - Суспекция за малигненост	499 (6.0)	Суспектна за малигненост	499 (6.0)
Б6- Малигнена	372 (4.5)	Малигнена	372 (4.5)
Общо	8287 (100)		8287 (100)



Фиг. 40. Честотата на тиреоидните цитопатологични диагностични категории по Бетезда системата редложената от нас (институционална) система при пациентите с ТБ на тиреоидни нодули за целия период на проучването

- *Категоризация на цитологичния отговор на лимфни възли и честота на отделните цитопатологичните категории при пациентите с извършена комбинирана ТБ*

Цитологичните находки в ТБ на лимфни възли при пациентите с извършена комбинирана ТБ на тиреоиден нодул/нодули и лимфен възел (n=478) класифицирахме също в 5 цитопатологични диагностични категории, а именно недиагностична, доброкачествена (реактивна лимфоидна хиперплазия), суспектна за метастаза от тиреоиден/нетиреоиден карцином или лимфом, малигнена - метастаза от тиреоиден карцином (ТК) и малигнена-метастаза от нетиреоиден карцином (не-ТК). Резултатите от извършената категоризация показаха, че най-голям бе дялът на доброкачествената категория (67%), следван от този на метастазите от тиреоиден карцином (19%) (табл. 37). Дяловете на цитопатологичните категории недиагностична, суспектна за метастаза от тиреоиден/нетиреоиден карцином или лимфом и малигнена- метастаза от нетиреоиден карцином бяха малки и със сходна големина - 4.4%, 5.4% и 4.6%, съответно. В категориите суспектна за метастаза от ТК или малигнена –метастаза от ТК почти всички случаи бяха с цитологични белези, суспектни

или позитивни за ПТК. В категориите суспектна за метастаза от не-ТК или малигнена – метастаза от не-ТК включихме малкото на брой пациенти със цитологични белези, суспектни или позитивни за не-тиреоиден карцином, при които бяха налице анамнестични или клинични данни за съпътстващ карцином с нетиреоидна локализация. В категорията суспектна за лимфом включихме също единичните случаи с клинични, ехографски и цитологични белези, суспектни за лимфом, като при всички случаи бе посочена неодходимостта от хистологична верификация с или без имунохистохимично изследване на лимфния възел.

Таблица 37. Категоризация на цитологичния отговор при цитологичното изследване на пациентите с проведена ТБ на лимфен възел за 20-годишния период на проучването

Цитопатологични диагностични категории- лимфен възел	n	%
Недиагностична	21	4.4
Доброкачествена (риеактивна лимфоидна хиперплазия)	319	66.7
Суспектна за метастаза от ТК/не-ТК или лимфом	26	5.4
Малигнена - метастаза от тиреоиден карцином	90	18.8
Малигнена- метастаза от нетиреоиден карцином	22	4.6
Общо	478	100

Допълнително оценихме връзката между определените цитопатологични категории на лимфния възел и тези на тиреоидния нодул/нодули като ги съпоставихме (табл. 38). Установихме, че недиагностичната и доброкачествена цитопатологична категория на ТБ на лимфните възли бяха определени най-често при случаите с доброкачествена тиреоидна цитология -18/21 случая (86%) и 281/319 случая (88%), съответно. Суспектната за метастаза от тиреоиден/нетиреоиден карцином или лимфом цитологична категория бе определена най-често при случаите със суспектна за малигненост тиреоидна цитология - 16/25 случая (64%). Сигурни данни за метастаза-ТК в лимфен възел са отчетени при 88/104 от случаите с малигнена тиреоидна цитология. В контраст цитологичната категория метастаза от нетиреоиден карцином в лимфен възел бе отчетена най-често при

случаите с доброкачествена тиреоидна цитология и само при 6 случая с данни за малигнена тиреоидна цитология.

Таблица 38. Съпоставяне на цитологичните диагностични категории на тиреоидните нодули и лимфните възли при пациентите с комбинирана ТБ.

Тиреоидна цитопатология - категории	Цитологични категории при ТБ на ЛВ				
	Недиагно-стична n (%)	Доброкаче-ствена n (%)	Суспектна за мета/ Лимфом n (%)	Мета – ТК n (%)	Мета-не-ТК n (%)
Недиагностична (10)	0 (0)	9 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (5)
Доброкачествена (n=318)	18 (85)	281 (88)	4 (13)	0 (0)	15 (68)
Недетерминирана за малигненост (n=6)	0	6 (2)	0	0 (0)	0 (0)
Суспектна за малигненост (n=40)	2 (10)	20 (6)	16 (64)	2 (3)	0 (0)
Малигнена (n=104)	1 (5)	3 (1)	6 (23)	88 (97)	6 (27)
Общо (n=478)	21 (100)	319 (100)	26 (100)	90 (100)	22 (100)

- *Категоризация на цитологичния отговор на суспектни паратиреоидни лезии и честота на отделните цитопатологичните категории при пациентите с комбинирана ТБ*

Цитологичните находки в биопсиите от суспектни паратиреоидни лезии (ПТЛ) (n=59) при пациентите с извършена комбинирана ТБ на тиреоиден нодул/нодули и суспектна ПТЛ(n=59) класифицирахме в 3 цитопатологични категории-недиагностична, суспекция за ПТЛ и позитивна за ПТЛ (табл. 39). Резултатите от извършената категоризация показаха, че най-голям бе дялът на цитологичната категория суспекция за ПТЛ - 64%, следван от този на недиагностичната категория (20%), а най-малък –на категорията позитивната за ПТЛ (15%). При съпоставяне на цитопатологичните категории на ТБ на суспектните паратиреоидни лезии с тези на ТБ на тиреоидния нодул/нодули установихме, че при почти всички случаи с ТБ на суспектна ПТЛ (n=56) бе налице доброкачествена тиреоидна цитологична категория. При всеки един от останалите 3 случая бе отчетено наличие на

недиагностична, суспектна за малигненост или малигнена тиреоидна цитологична диагноза (табл. 40).

Таблица 39. Категоризация на цитологичния отговор при цитологичното изследване на пациентите с проведена ТБ на суспектна ПТЛ за 20-годишния период на проучването.

Цитопатологични диагностични категории - суспектна ПТЛ	n	%
Недиагностична	12	20.3
Суспекция за ПТЛ	38	64.4
Позитивна за ПТЛ	9	15.3
Общо	59	100

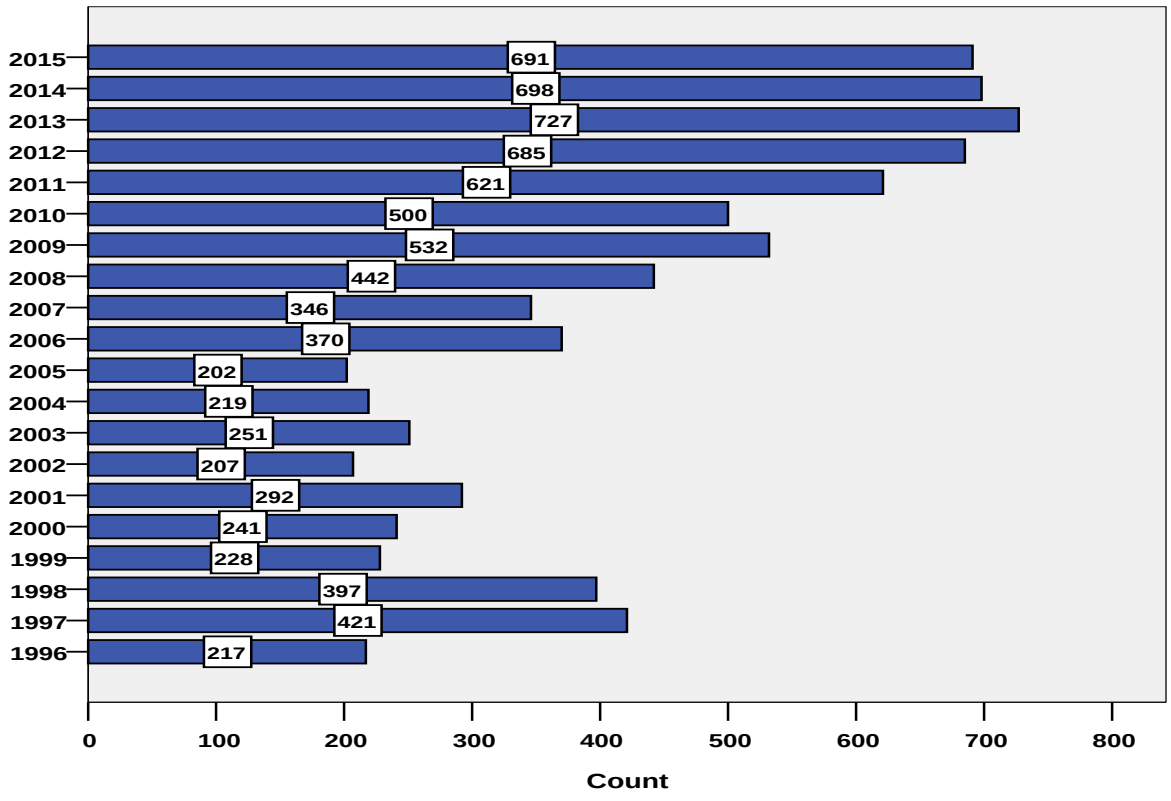
Таблица 40. Съпоставяне на цитопатологичните диагностични категории на тиреоидните нодули и паратиреоидните лезии при пациентите с комбинирана ТБ.

Тиреоидна цитопатология - категории	Цитологични категории при ТБ на суспектна ПТЛ		
	Недиагностична n (%)	Суспектция за ПТЛ n (%)	Позитивна за ПТЛ n (%)
Недиагностична (n=1)	0	1	0
Доброкачествена (n=56)	11	37	8
Суспектна за малигненост (n=1)	0	0	1
Малигнена (n=1)	1	0	0
Общо (n=59)	12(20)	38 (64)	9 (15)

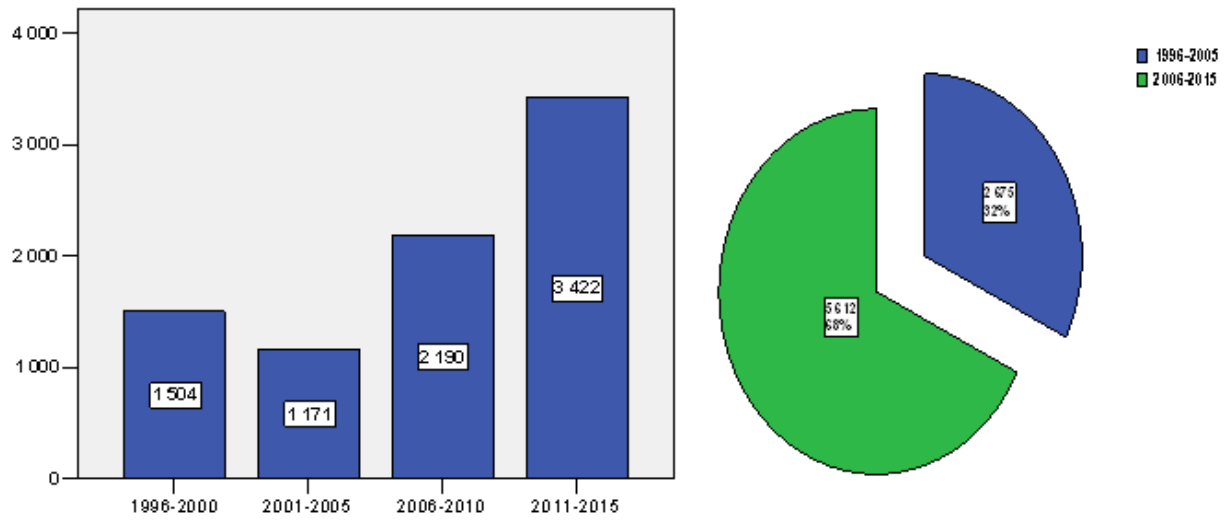
- *Оценка на динамиката в броя на цитологичните изследвания на тиреоидните нодули за периода на проучване*

Извършеният анализ на броя на цитологичните изследвания на лезии на щитовидната жлеза през отделните години на 20-годишния период на проучването показа стабилна тенденция за нарастване, въпреки наличието на известна вариабилност (фиг. 41). Средният брой на цитологично изследваните пациенти с тиреоидни нодули за целия период бе 414/годишно, като най-малък брой бе отчетен през 1996 г (n=217), а най-голям брой - през 2013 г (n=727). При сумиране на броя на цитологично изследваните пациенти с

тиреоидни нодули за 5- и 10-годишни субпериоди установихме значимо нарастване на цитологичните изследвания за всеки следващ период спрямо предходния (p=0.0001). (фиг. 42 а, б). Дялът на цитологично изследваните пациенти за втория 5-годишен период спрямо общия брой пациенти (2001-2005 г) бе най-нисък (14%), а този за последния 5-годишен период (2011-2015) –най-висок (42%). При сравнение на броя на тиреоидните цитологични изследвания за двата 10-годишни периода отчетохме повече от 2 пъти увеличение на броя за периода 2006-2015 г - n=5612 (68%) спрямо този за периода 1996-2005 г - n=2675 (32%). В допълнение, значимо нарастване отбелязахме и в броя на цитологично изследваните пациенти с комбинирана ТБ на тиреоиден нодул и лимфен възел или ТБ на тиреоиден нодул и суспектна ПТЛ през втория 10-годишен период (p=0.0001). Дялът на извършените ТБ на тиреоиден нодул и лимфен възел бе 78% (n=372) за периода 2006-2015 г, а този на ТБ на тиреоиден нодул и суспектна ПТЛ за същия перид бе 90% (n=53).



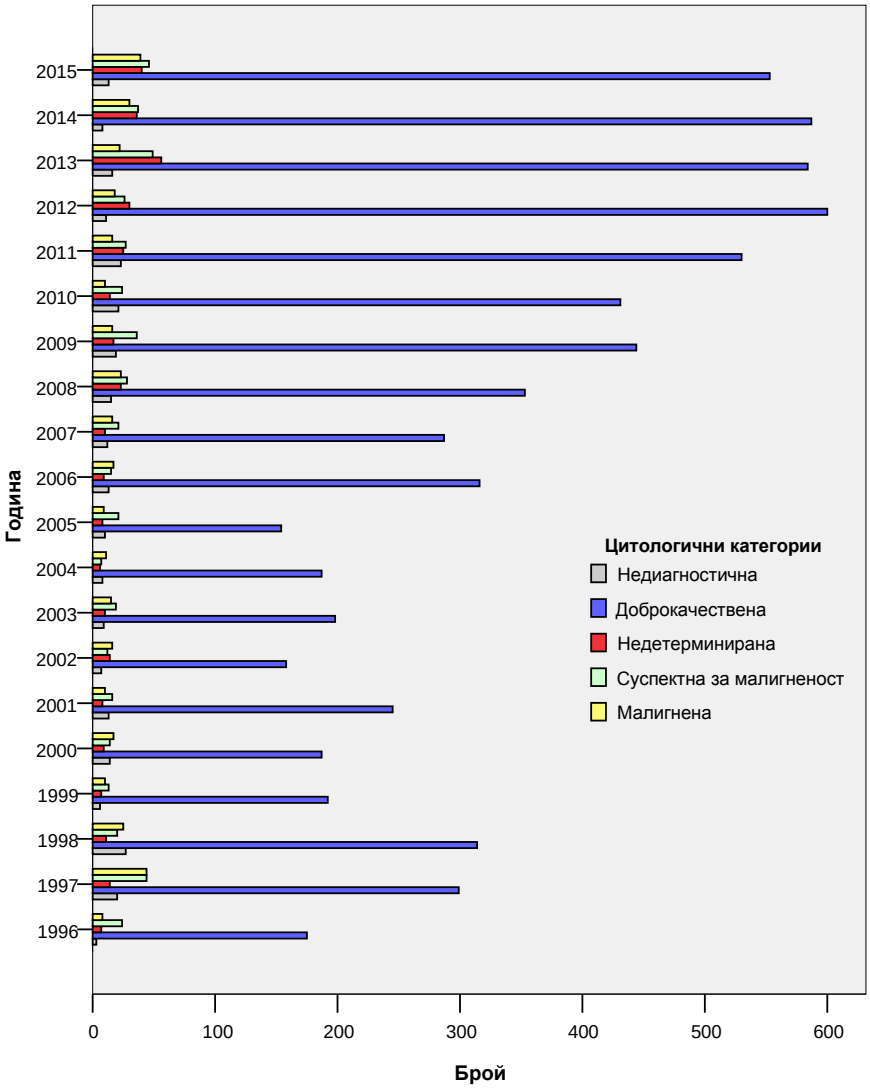
Фиг. 41. Брой на цитологично изследваните пациенти с тиреоидни нодули през отделните години за 20-годишния период на проучване.



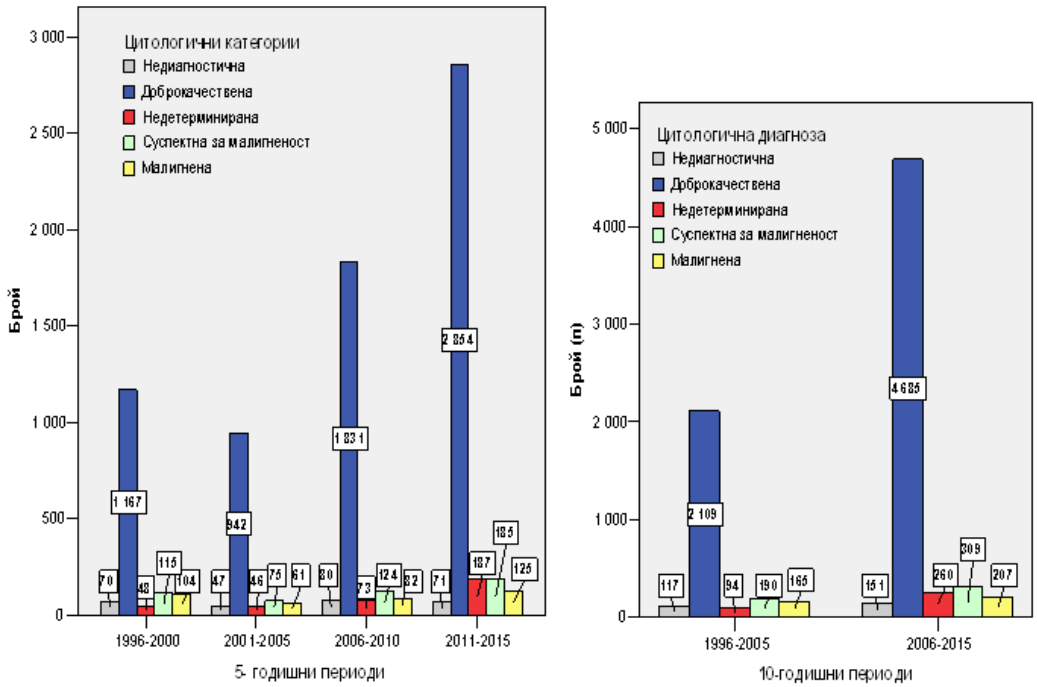
Фиг. 42. Динамика в броя на на цитологично изследваните пациенти с тиреоидни нодули (а) през четирите 5-годишни субпериода и (б) двата 10-годишни субпериода на проучването.

Динамиката в броя на цитологичните резултати, класифицирани в отделните тиреоидни цитопатологични диагностични категории през годините, както и за 5- и 10-годишните субпериоди на целия 20-годишен период на проучването е показана на фиг. 43 и 44 а, б. Динамиката в дяловете на цитологичните резултати, класифицирани в отделните тиреоидни цитопатологични диагностични категории за отделните 5- и 10 годишни периоди представихме отделно на фиг. 45 а,б. При оценка на динамиката на недиагностичната категория установихме намаление на нейния дял в по-късните 5-годишни субпериоди, както и през втория 10-годишен период. Дялът на недиагностичната категория през първия 5-годишен период (1996-2000 г) бе 5%, а през последния 5-годишен период (2011-2015 г) – 2%. Дялът на доброкачествената цитология показа стабилна тенденция на нарастване в по-късните 5-годишни периоди, като за първия 10-годишен период (1996-2005 г) бе 79%, а за втория 10-годишен период (2006-2015 г) – 83%. Подобни бяха промените с недетерминираната цитопатологична категория. Докато през първия 10-годишен период нейният дял бе 3%, то в края на втория 10-годишен период дялът на недетерминираната категория бе 5%. Обратно, дяловете на суспектната за малигненост и малигнената цитологична категория показаха тенденция за намаляване с

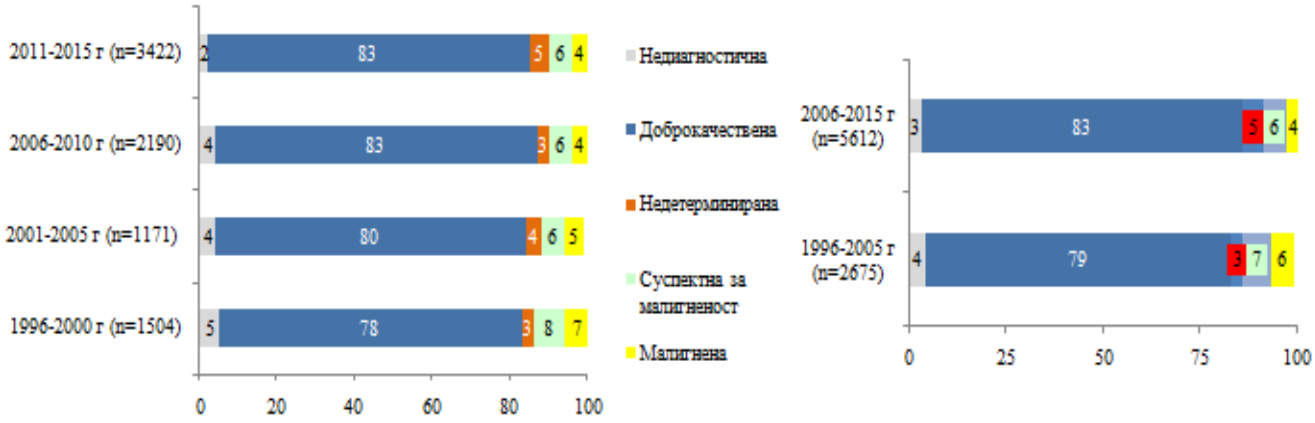
напредване на годините на проучването, като за първия 5-годишен период (1996-2000 г) те бяха 8% и 7%, съответно, а за последния 5-годишен период (2011-2015 г) – 6% и .4%, съответно.



Фиг. 43. Динамика в броя на цитологичните резултати, класифицирани в отелните тиреоидни цитопатологични диагностични категории през годините на 20-годишния период на проучването.



Фиг. 44. Динамика в броя на тиреоидните цитопатологичните категории през четирите 5-годишни периода (а) и двата 10-годишни периода (б) на проучването.



Фиг. 45. Динамика в дяловете на тиреоидните цитопатологичните категории през (а) четирите 5-годишни периода и (б) двата 10-годишни периода на проучването.

През последните години резултатите от многобройните проучвания в литературата доказаха, че ТБ под ехографски контрол е най-точния, безопасен и надежден метод за

разграничаване на доброкачествените и злокачествени тиреоидни нодули, които са показани за консервативно проследяване или хирургична ексцизия. ТАБ на тиреоидните нодули като диагностичен метод показва отлични резултати в опитни ръце, със своята чувствителност и специфичност (106, 179, 277, 476). Извършването на ТБ на тиреоидните нодули с последващо цитологично изследване се утвърди като златен стандарт при взимане на решението за оперативното им лечение. Високата специфичност на цитологичната диагноза на злокачествените тумори на щитовидната жлеза, особено на ПТК, допринесе за тяхното своевременно хирургично лечение от една страна, а от друга позволява да се избегнат ненужните операции на доброкачествените лезии и по този начин да се намалят разходите за лечение. От съществено значение при оценка на ролята на ТБ при взимането на решение за хирургично лечение е познаването на някои недостатъци на метода. ТБ на тиреоидните нодули е скринингов, а не диагностичен тест за лезиите с фоликуларен строеж. В тази група се включват някои от аденоматозните/хиперпластични нодули, фоликуларните неопазми (фоликуларен аденом и карцином), както и фоликуларния вариант на ПТК. Независимо от използваната терминология, около 25% от тиреоидните нодули се класифицират като недетерминирани, при които не е възможно да се определи дали нодулът е доброкачествен, или злокачествен и в повечето случаи се налага хирургична резекция. Във връзка с рутинното извършване на ТБ на тиреоидните нодули възникна необходимостта от въвеждане на унифицирана и стандартизирана система за докладване на цитологичните находки в пунктата, която да осигури една опростена, но съгласувана комуникация между цитопатолозите и лекарите от различни специалности, отговорни за диагнозата и лечението на тези пациентите. Интерпретацията на цитологичните находки в тиреоидните пуктати трябва да съдържа клинично значима информация, която ще подпомогне клиницистите при при взимането на решение за последващо поведение, базирано на релативния риск за малигненост според използваната диагностична терминология (клинично проследяване, повторна ТБ, хирургична тиреоидна лобектомия или субтотална тиреоидектомия). В миналото, а дори и днес, докладването на цитопатологични находки в тиреоидните пунктати е нестандартизирано, с което се затруднява интерпретацията на цитологичния отговор от клиницистите. Извършеният анализ на литературата показа, че в различните страни/ институции цитологичните находки в тиреоидните пуктати се класифицират в 4 до 6

диагностични категории. Базирайки се на интерпретацията на цитологичния материал близо 70% от тиреоидните нодули се класифицират като доброкачествени, по-малко от 10% - като злокачествени, а за останалите 20-25%, при които не може да се изключи малигненост се използват различни диагностични термини като атипична цитология, недетерминирана цитология, в която се включват иле не случаите с цитологични находки, суспектна за малигненост и други (478). От друга страна беше установено, че употребата на стандартна терминология за докладване на цитологичните находки, както и определянето на адекватността на цитологичния материал, и дефинирането на диагностичните критерии, е свързна с редукция на недиагностичните/незадоволителни цитологични резултати и употребата на описателни диагнози. През последните 10 години в различни страни по света бяха предложени няколко системи за терминология в тиреоидната цитопатология, сред които най-популярни са Бетезда системата в САЩ (включваща 6 диагностични категории) и системите на Британската тиреоидна асоциация съвместно с лекарите на Royal College (BTA-RCP), и на Италианското дружество на патолозите и цитопатолозите съвместно с Международната асоциация по патология (SIAPEC-IAP) в Европа (включващи по 5 диагностични категории) (93, 108, 238, 323, 386, 406. Диагностичните критерии, които се използват в тези системи имат за цел да подпомогнат подбора на пациентите за хирургично лечение като всяка цитопатологична категория е свързана с определен риск за малигненост, който отговаря на специфични препоръки за поведение при пациентите с тиреоидни нодули (207). От съществено значение е, че терминологията и критериите за недиагностичната, доброкачествената, малигнената и суспектната за малигненост категории са сходни във всички класификации, а различия се установяват в терминологията и критериите на недетерминираната за малигненост цитопатологична категория.

Основна задача на нашето проучване бе да характеризираме особеностите на тиреоидната цитопатология в нашия клиничен център за период от 20 години. След задълбочен анализ на интерпретацията на тиреоидните пунктати, както и на прилагания от ендокринолозите в нашия център алгоритъм за последващо поведение според поставената цитологична диагноза, ние решихме да извършим категоризация на цитологичните резултати на всички пациенти с ТБ на тиреоиден нодул/нодули за периода на проучването в 5 диагностични категории, а именно недиагностична; доброкачествена; недетерминирана за

малигненост,включваща всички фоликуларно-клетъчни пролиферации; суспектна за малигненост и малигнена цитопатологични категории. Диагностичните критерии използвани от нас при категоризацията на цитологичния резултат са описани вече подробно в гл. „Материал и методи". Резултатите от извършената от нас категоризация на цитологичните отговори на всички пациенти с ТБ на тиреоиден нодул показаха, че най-голям бе дялът на доброкачествената цитопатологична категория (82%), който е близо 18 пъти по-голям в сравнение с този на злокачествената тиреоидна цитопатологична категория самостоятелно (4.5%) или 10 пъти по-голям при прибавяне и на случаите със суспектна за малигненост цитологична категория (10% общо). Получените от нас резултати в този аспект доказват още веднъж ролята на ТБ при подбора на пациентите с тиреоидни нодули, показани за хирургично лечение. В нашето проучване, в преобладаващия брой от тиреоидните пуктати, категоризирани в малигнената и суспектната за малигненост категория, бяха налице цитологични белези характерни за ПТК. Този резултат е съвместим с данните на редица други проучвания, че рутинното извършване на ехографско изследване на ЩЖ в съчетание с ТБ на суспектния за малигненост тиреоиден нодул е причина за нарастващата честота на ТК в световен мащаб и то за сметка на ПТК. С практическо значение е и установения от нас резултат, че дялът на случаите с недиагностична цитопатологична категория е най-малкият в сравнение с този на останалите цитопатологични категории –само 3%. Малкият брой случаи с недиагностична цитология в нашето проучване вероятно е резултат на нарастналия опит на ендокринолозите в нашия клиничен център за периода на проучването, както и на използваната от тях техника при извършване на ТБ на тиреоидните нодули. От друга страна, категоризацията на случаите с ехографски данни за колоидна киста, дори и при недостатъчен брой фоликуларни клетки в тиреоидния пунктат от нас също в доброкачествената тиреоидна категория, допринася за малкия дял на недиагностичната цитопатологична категория. В нашето проучване дялът на случаите с недетерминирана за малигненост цитопатологична категория (4.3%) е най-близък по големина до този на малигнената цитопатологична категория. В тази цитопатологична категория ние включихме случаите с цитологични находки в тиреоидните пуктати съвместими с наличието на фоликуларна лезия, а именно тези, при които поставената от нас цитологична диагноза бе хиперпластичен нодул или фоликуларен тумор (еквивалент на

термина фоликуларна неоплазма). В тиреоидната цитопатология нодулите се класифицират в тази категория поради невъзможността да се разграничат цитологично инвазивните характеристики (капсулна и/или съдова инвазия), необходими за диагнозата на ФТК. В повечето случаи решението за последващо поведение (контролна ТБ или хирургично) взимахме съвместно с ендокринолога, извършил ТБ на нодула, обсъждайки размера на нодула, наличието или не на ехографски белези, предсказващи риск за малигненост или наличието на други фактори. За отбелязване е също така, че диагностичните критерии за категоризация на цитологичния резултат в отделните диагностични категории по редложената от нас кфалификационна система са много сходни с тези прилагани в предишните версии на класификационни системи на Великобритания (включваща 5 числови категории – от Thy 1 до Th5) от една страна, и на Италия (включваща също 5 категории –от TIR1 до TIR5).

Създаването на Бетезда системата за отговор на тиреоидната цитопатология, в която всяка диагностична категория е свързана с релативен риск за малигненост и съответен алгоритъм за клинично поведение е значим напредък в областта на тиреоидната цитология. Накратко, посоченият релативен риск за 6-те диагностични категории, дефинирани в Бетезда системата, както и съответният алгоритъм за поведение са следните: от 1-4% за Б1 (повторна ТБ), < 1-3% за Б2 (клинично проследяване), от 5-15% за Б3 (повторна ТБ), от 15-30% за Б4 (лобектомия), от 60-75% за Б5 (лобектомия или субтотална тиреоидектомия) и от 97-99% за Б6 (субтотална тиреоидектомия). В редица проучвания бе показан нейния позитивен ефект върху цитологичната диагностика на тиреоидните нодули, както и върху взимането на решение за поведение при пациентите с тиреоидни нодули. Понастоящем Бетезда системата се прилага не само в патологичните практики в Северна Америка, но също и в редица страни в Европа и Азия. Тя е предпочитаната система за рекласификация на цитологичните отговори в редица съвременни публикации фокусирани върху диагнозата, поведението и проследяването на пациентите с тиреоидни нодули на институционално ниво (66). В нашето проучване ние също прекатегоризирахме цитологичните отговори на всички пациенти с ТБ на тиреодните нодули за целия период на проучването в 6-те тиреоидни цитопатологични категории по Бетезда системата. Спазвайки диагностичните критерии на Бетезда системата за отделните цитопатологични категории, близо 2/3 от случаите на

недерминираната за малигненост категория (фоликуларни пролиферации) по нашата система бяха класифицирани в Б3 категорията, а останалите цитологични резултати класифицирахме в Б4 категорията. Извършеният сравнителен анализ показа, че дяловете на Б3 и Б4 категориите в нашето проучване са най-малки в сравнение с останалите категории по Бетезда системата (3.2% и 1.3%) при липса на значима разлика между дяловете на Б1, Б2, Б5 и Б6 и тези на недиагностичната, доброкачествената, суспектната за малигненост и малигнена цитопатологични категории, определени по нашата система, съответно. Въпреки широката употреба на Бетезда системата в тиреоидната цитопатология, в редица проучвания се докладват за проблеми с категоризацията на цитологичния отговор в Б3 и Б4 категории и посоченият релативен риск за малигненост на тези категории (272, 371, 404, 427). Резултатите от редица проучвания показаха, че е необходимо по-добро дефиниране на критериите за определянето на Б3 категорията, а рискът за малигненост при случаите с Б3 категория е сходен и дори по-висок от този при случаите с Б4 категория (261, 303, 371, 427). Особено важно е да не се допуска свръхдиагностициране в тази категория. В проучване, извършено от Layfield и сътр. (272) се докладва, че честотата на тази диагностична категория варира между 3.3% и 14.9%, като е налице значителна вариабилност, както между отделните институции, така и и между отделните цитопатолози. Препоръчва се честотата на тази категория да не надхърля 7% от всички цитопатологични категории (50, 272). В допълнение, някои автори посочват, че употребата на тази диагностична категория е свързано с повишаване на чувствителността за откриване на неопластичните тиреоидни лезии и някои варианти на ПТК, с което се намалява честотата на фалшиво-негативните и фалшиво-позитивните цитологични резултати (404, 494). В литературата са налице единични проучвания оценяващи релативната ефикасност на класификационните системи, включващи 5 диагностични категори и Бетезда системата (65, 107, 235). В този аспект резултатите от проведеното наскоро мултиинституционално проучване на приликите и разликите при използване на Италианската класификационна система, включваща 5 цитологични категори, които са сходни на предложената от нас система, и Бетезда системата са от значение (65). В проучването са анализирани цитологични резултати на 3962 и 3724 пациента с ТБ на тиреоидни нодули, класифицирани по системите, включващи 5 и 6 категории, съответно. Резултатите показват, че процентът на случаите с недиагностична и

доброкачествената диагностична категория според Италианската система е значимо по-голям в сравнение с този на Б1 (7.5% vs 3%, съответно; p <0 .0001) и Б2 (83.9% vs 55.4%, съответно; p <0 .0001), а дялът на недетерминираната категория/фоликуларни пролиферации – значимо по-малък в сравнение с този на Б4 (4.6% vs 23.8%, съответно; p <0 .0001) като дялът на Б3 е 6.7%. Отбелязва се също, че значимо по-малък брой пациенти, оценени по Италианската класификационна система са насочени за хирургично лечение в сравнение с този, класифицирани по Бетезда системата (9.1% vs 36.5%; p < .0001). Авторите заключават, че както употребата на класификационната система, включваща 5 диагностични категории, така и на Бетезда системата с нейните 6-те диагностични категории могат потенциално да повлияят взимането на решение за последващо поведение при пациентите с тиреоидни нодули. В публикуван наскоро обзор за развитието на тиреоидната цитопатология бе обобщено, че употребата на различните класификационни системи на тиреоидната цитопатология от последните 10 години допринася за по-доброто разбиране характера на тиреоидните лезиите, позволява оценка на риска за малигненост и подобрява възпроизводимостта между патолозите, давайки възможност за самооценка на техните собствени резултати, но най-важното - те позволяват една опростена, но съгласувана комуникация между лекарите от различните специалности, отговорни за диагнозата и лечението на пациентите с тиреоидни нодули (362). Посочва се също, че извършването на допълнителни изследвания (имунохистохимични и молекулярни тестове) изглежда е единственото решение за намаляване на броя на случаите с недетерминирана цитология.

Въпреки своите ограничения и недостатъци, ТБ под ехографски контрол е доказано ефективен и минимално инвазивен метод за изследване на пациентите с шийна лимфаденопатия, чиято поява е резултат най-често на възпалителен процес, но също така на метастаза от карцином с различна локализация и рядко свързана с развитието на лимфом. Данните от редица проучвания показват, че при цитологичното изследване на пунктата е възможно поставянето на точна диагноза на реактивната лимфоидна хиперплазия, редица инфекции, включително грануломатозните лимфаденити и метастатичните карциноми като по този начин се намалява нуждата от ексцизионна биопсия на лимфния възел. При случаите с клинична и цитологична суспекция за лимфом обаче хистологичното и имунохистохимичното изследване на суспектния лимфен възел е

неизбежно. Високата надеждност на цитологичната диагноза на метастатичен тумор в лимфния възел е с голямо клинично значение. В редица случаи тя е единствената индикация за търсене на първичен карцином с неизвестна локализация, най-често окултен (51). Ехографските изследване на шията и ТБ под ехографски контрол са средство на избор за диагноза на метастатичните шийните лимфни възли от тиреоиден карцином, основно ПТК, както и на реактивната лимфоидна хиперплазия на шийните лимфни възли най-често при автоимунните тиреоидни заболявания, основно тиреоидита на Хашимото (67, 128, 282, 451). При случаите с ПТК, цитологичното изследване на шийни лимфни възли е с голяма стойност както за предоперативното стадиране на тумора и определяне на обема на оперативната интервенция, така и за постоперативното проследяване на пациентите с оглед появата на рецидив на тумора. Отличителен белег на нодалните метастази от ПТК е честото наличие на кистичната дегенерация на лимфния възел, с наличие на колоидофаги в пунктата (133, 342, 457). Докладваната честота на кистичните метастази достига до 75%, при липса на корелация между наличието на кистични промени в първичния тумор и в лимфния възел. Определянето на нивото на тиреоглобулина в пунктата също подпомага диагнозата на нодалните метастази от ПТК, а в редки случаи и диференциалната диагноза с не-тиреоиден метастатичен карцином. Нашите резултати за мястото и ролята на ТБ под ехографски контрол при пациентите с шийна лимфаденопатия съответсват на литературните данни. Извършеният анализ на цитологичните резултати на изследваните лимфни възли, които категоризирахме също в 5 цитолопатолични категории, показа, че дялът на пациентите с цитологични данни за реактивна лимфоидна хиперплазия е най- голям (67%), следван от този на метастачните лимфни възли от ПТК (19%), а дяловете на останалите цитологични резултати (недиагностичен, суспектен за метастаза от тиреоиден/ нетиреоиден карцином/лимфом и метастаза от не-тиреоиден карцином) бяха най-малки и със сравнима големина (4.4%, 5.4% и 4.6%, съответно). В нашето проучване общият дял на извършените ТБ на лимфните възли спрямо общият брой пациенти с ТБ на тиреоидни нодули бе 5.8%, като дялът на пациентите с цитологични данни за метастаза от ПТК в лимфен възел спрямо броя на пациетите с малигнена тиреоидна цитопатологична категория бе най-голям (28%), а този на пациентите с реактивна лимфоидна хиперплазия спрямо броя на пациентите с доброкачествена тиреоидна цитопатология – най-малък (под 1%). Този резултат показва, че в близо 1/3 от нашите пациенти комбинираната ТБ на

тиреоиден нодул/нодули и лимфен възел е била извършена най-вероятно поради съчетаното наличие на ехографски белези, предсказващи риск за малигненост на тиреоидните нодули и някои ехографски белези суспектни за метастатичен лимфен възел. Точната цитологична диагноза на ПТК с метастаза в лимфен възел при тези пациенти предоперативно дава възможност за извършването на едноетапно хирургично лечение, включващо в повечето случаи тотална или субтотална тиреоидектомия и селективна лимфна дисекция. При малкия брой пациенти с доброкачествена тиреоидна цитопатология и шийна лимфаденомегалия (по-често тези с клинични и ехографски данни за автоимунен тиреоидит на Хашимото) комбинираната ТБ биопсия на тиреоидния нодул/нодули най-вероятно е извършена с оглед изключване наличието на метастатичен тумор с друга локализация или наличие на лимфо-пролиферативен процес. Извършеният анализ показа, че цитологичната диагноза суспекция за метастаза/лимфом или метастаза от не-тиреоиден карцином е поставена само при 19 случая, при които са били налице анамнестични и клинични данни за диагностициран карцином с не-тиреоидна локализация.

В ежедневната клинична практика паратиреоидната патология, включваща туморите или хиперплазията на паращитовидните жлези, е рядко обект на цитологично изследване. В нашето проучване дялът на пациентите с комбинирана ТБ на тиреоиден нодул/ нодули и суспектна ПТЛ за целия период на проучването бе под 1%, като повечето от случаите бяха с доброкачествена тиреоидна диагностична категория. Анализът на цитологичния резултат на малкия брой пациенти с ТБ на суспектна паратиреоидна лезия показа, че близо две трети от тях са със суспектна за ПТЛ цитологична категория, а сред останалите случаи дялът на недиагностичната категория бе по-голям от този на позитивната за ПТЛ цитология. Литературните данни за точността на цитологичното изследване на суспектните ПТЛ са оскъдни (125, 144, 169). Повечето автори посочват, че при някои случаи са налице трудности в разграничаването на паратиреоидните клетки от фоликуларните тиреоидни клетки, както и от малките лимфоцити, особено при наличие на богати на кръвни елемент аспирати. С диагностично значение са откриването на единични клетки или слабо кохезивни повлекла от клетки с оскъдна цитоплазма и кръгли ядра с дребнозърнест хроматин (тип сол и пипер). Оскъдният целуларитет на цитонамазките при повечето случаи е резултат на трудният достъп до суспектната ПТЛ, най-често с малък размер и богата кръвоснабденост.

Както вече отбелязахме, нарастналото приложение на ултразвуковата технология е причина за честото откриването на асимптоматични тиреоидни нодули сред общото население. Данните от проведени ултразвукови епидемиологични проучвания показват, че две трети от възрастните имат поне един тиреоиден нодул, докато докладваната честота на палпируемите нодули е от 4-7% (95, 153, 239, 497). Резултатите от проведено във Франция проучване показват, че процентът на ехографското изследване на щитовидната жлеза от ендокринолозите е нарастнал от 3% на 85% за последните 20 години (266). В резултат на тази нарастнала честота на ехографски откриваните тиреоидни нодули в световен мащаб нуждата от извършване на ТБ под ехографски контол с последващо цитологично изследване на тиреоидните нодули също нарастна. Извършената от нас оценка на динамиката в броя на извършените ТБ под ехографсли контрол на тиреодните нодули показа стабилна тенденция за нарастване му както през отделните години,така и през отделните 5- и 10- годишните субпериоди на целия 20-годишния период на проучването. Дялът на извършените цитологични изследвания на тиреоидни нодули за последния 5-годишен период (2011-2015 г) е трикратно по-голям в сравнение с този през първия 5-годишен период (1996-2005 г), а дялът за втория 10-годишен период е двукратно по-голям от този на първия 10-годишен период. За отбелязване е, че броят на извършените ТБ на лимфните възли или суспектните ПТЛ е също значимо по-голям за втория 10-годишен период. Извършвайки анализ на динамиката в дяловете на цитологичните резултати класифицирани в отделните цитопатологични категории също установихме някои съществени разлики. Отчетеното от нас намаление в дяловете на недиагностичната цитопатологична категория от 5% на 2% през по-късните 5-годишни периоди, както и през втория 10-годишен период е вероятно в резултат на нарастващия опит на ендокринолозите, извършващи ТБ на тиреоидните нодули в нашия клиничен център. Същевременно отчетената от нас тенденцията за намаление на дяловете на суспектната за малигненост и малигнената цитопатологична категория и свързаното с това нарастване на дяловете на доброкачествената и недетерминираната цитопатологични категории е трудно обяснима. Наличието на възрастова или полова промяна в пациентската популация, насочена към нашия клиничен център за ТБ на тиреоиден нодул на фона на нарастналия брой ТБ през по-късните години на проучването е едно от потенциалните обяснения на този резултат. Рутинното извършване на ТБ под ехографски контрол на всички пациенти с

ехографски открити нодули без отчитане наличието или не на ехографските белези предсказващи повишен риск за малигненост вероятно също допринася за нарастване на броя на доброкачествените цитологични резултати.

В обобщение, извършената категоризация на цитологичния отговор на пациентите с ТБ на тиреоиден нодул/нодули в нашето проучване за период от 20 години показа, че дялът на доброкачествената цитопатологична категория е около 10 пъти по-голям от този на случаите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория, взети заедно. Най-малък е процентът на случаите с недиагностична и недетерминирана цитопатологична категория. Оценката на динамиката в броя на извършените ТБ под ехографсли контрол на тиреодните нодули показа стабилна тенденция за нарастване му както през отделните години, така и през отделните 5- и 10- годишните субпериоди на целия 20-годишния период на проучването. Процентът на извършените цитологични изследвания за последните 5- и 10-годишни периоди е трикратно и двукратно по-голям в сравнение с първите 5-и 10-годишни субпериоди, съответно.

2. Полови и възрастови различия на пациенти с ТБ на тиреоиден нодул/нодули за период от 20 години

Характеристиката на пациентите с извършена ТБ на тиреоиден нодул/нодули по възраст и пола, както и възраст под и над 45 г. през отделните години на 20-годишния период на проучването е дадена на табл. 41. Извършеният анализ показа, че броят на тиреоидните цитологични изследвания през отделните години е от 5-10 пъти по-голям при жените в сравнение с мъжете или съотношението мъже: жени е от 1:5 до 1:10, а съотношение мъже:жени за целия период на проучването бе 1:7. Дялът на жените бе значимо по-висок в сравнение с мъжете през всички години на 20-годишния период на проучването, въпреки наличието на вариации през отделните години (p=0.0001). Както при мъжете, така и при жените, дялът на лицата над 45 г бе значимо по-голям в сравнение с този на възраст под 45 г (n=688/1041, 65% -мъже и n=4405/7226, 61%- жени, x^2=5.892, p=0,008). Средната възраст на всички пациенти, при които бе извършена ТБ на тиреоиден нодул/нодули за целия период на проучването бе 51.10±14.60 г, вариращa в широки граници - от 5 до 89 г. Средната възраст на пациентите от мъжки пол бе значимо по-висока в сравнение с тази на

жените (52.55±15.07 с/у 50.88±14.52, F= 11,441, p=0.001). Дялът на пациентите над 45 г (61%) бе около 1.5 пъти по-голям с този на пациентите под 45 г. През отделните години на периода на проучването отчетохме вариации в средната възраст на пациентите, както и в дяловете на лицата под и над 45 г Най-голям дял на цитологично изследвани пациенти под 45 г (54%) отбелязахме през 1996 г, а най-малък дял (30%) - през 2002 г.

Таблица 41. Характеристиката на цитологично изследваните пациенти с тиреоидни нодули по пол, възраст и възраст над и под 45 г. през отделните години за 20-годишния период на проучване.

	Пол		Средна възраст	Възраст	
Година (n)	Мъже –n (%)	Жени –n (%)	S±X	< 45 г- n (%)	>45 г- n (%)
1996 (n=217)	28 (13)	189 (87)	44.34±16.09	117 (54)	100 (46)
1997 (n=421)	49 (12)	372 (88)	49.13±15.92	185 (44)	236 (56)
1998 (n=397)	47 (12)	350 (88)	49.72±14.88	165 (42)	232 (58)
1999 (n=228)	30 (13)	198 (87)	51.05±15.49	78 (34)	150 (66)
2000 (n=241)	28 (12)	213 (88)	52.34±14.21	82 (34)	159 (66)
2001 (n=292)	36 (12)	256 (88)	51.63±15.14	114 (39)	178 (61)
2002 (n=207)	29 (14)	178 (86)	52.85±15.52	63 (30)	144 (70)
2003 (n=251)	29 (12)	222 (88)	52.79±14.81	85 (34)	166 (66)
2004 (n=219)	22 (10)	197 (90)	51.65±15.62	85 (39)	134 (61)
2005 (n=202)	30 (15)	172 (85)	53.07±15.11	72 (36)	130 (66)
2006 (n=370)	61 (16)	309 (84)	53.08±14.01	143(39)	227 (61)
2007 (n=246)	46 (13)	300 (87)	54.30±13.64	121 (35)	225 (65)
2008 (n=442)	50 (11)	392 (89)	50.96±14.39	177 (40)	265 (60)
2009 (n=532)	65 (12)	467 (88)	51.61±14.42	208 (39)	324 (61)
2010 (n=500)	46 (9)	454 (91)	50.63±14.16	210 (42)	290 (58)
2011 (n=621)	70 (11)	551 (89)	50.96±14.50	224 (36)	397 (64)
2012 (n=685)	103 (15)	582 (85)	51.87±14.36	242 (35)	443 (65)
2013 (n=727)	78 (11)	649 (89)	51.20±13.77	267 (37)	460 (63)
2014 (n=698)	106 (15)	592 (85)	50.71±13.84	275 (39)	423 (61)
2015 (n=691)	108 (16)	583 (84)	49.96±14.37	281 (41)	410 (59)
Общо (n=8287)	1061 (13)	7226 (87)	51.10±14.60	3194(39)	5093 (61)

При оценка на половите и възрастовите различия в динамика не установихме статистически значима разлика в дяловете на мъжете и жените, както и тези на пациентите

на възраст под и над 45 г. между отделните 5- и 10-годишни субпериоди на проучването (табл. 42). При сравнение на средната възраст на лицата от двата пола, включени в отделните 5-годишни периоди значимо по-голяма бе възрастта на мъжете в сравнение с жените само през третия 5-годишен период (2006-2010 г) - 54.24±14.59 с/у 51.56±14.13, F=7.841, p=0.005). Средната възраст на пациентите от мъжки пол бе значимо по-висока в сравнение с тази на жените и през двата 10-годишни периоди (52.41±16.07 с/у 50.43±15.35 за периода 1996-2005 г, F=4.434, p=0.035 и 52.60±14.63 с/у 51.10±14.11- за периода 2006 г-2015 г, F=6.909, p=0.009). Дялът на пациентите под 45 г бе най-най-голям през първия 5-годишен период (1996-2000) – 42% в сравнение с този през всички останали 5- и 10-годишни периоди. Налице бе тенденция за нарастване на дяловете на пациентите над 45 г в по-късните 5-годишни и втория 10-годишен субпериод на проучването. При сравнение на средната възраст на цитологично изследваните пациенти през отделните 5-годишни периоди установихме някои значими разлики в различни посоки. Средната възраст на пациентите, включени в първия 5-годишен период (1996-2000 г) бе значимо по-малка в сравнение с тази на пациентите от останалите 5-годишни периоди (p = 0.007-0.0001). Средната възраст на пациентите, включени във втория (2001-2005 г) или третия 5-годишен период (2006-2010 г) бе значимо по-голяма при сравнение със средната възраст на пациентите от последния 5-годишен период (2011-2015 г) (p=0.002 и p=0.033, съответно). Липсва значима разлика при сравнение на средните възрасти на цитологично изследваните пациентите между първия и втория 10-годишен период.

Таблица 42. Динамиката в броя на тиреоидните цитологични изследвания за отделните периоди на проучването според пола и възрастта на пациентите.

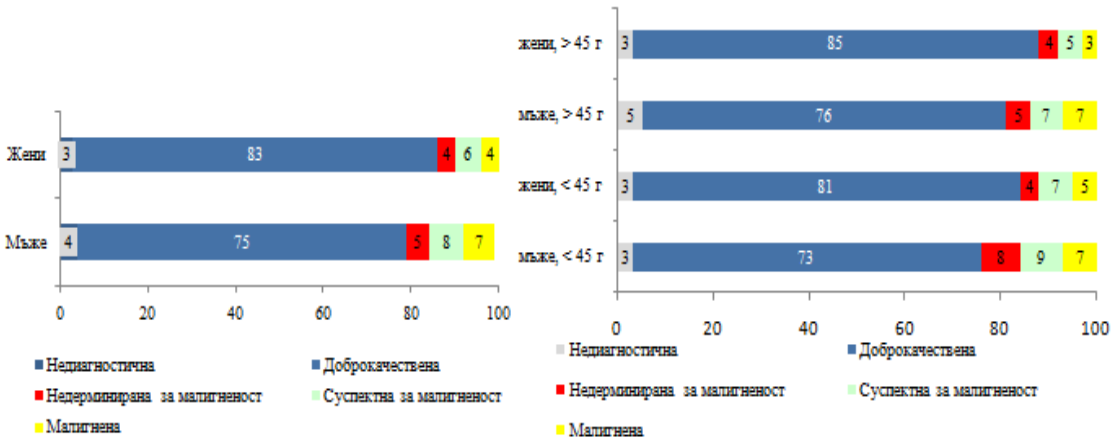
Брой цитологични изследвания	Пол		Ср. възраст	Възраст	
	М-n (%)	Ж-n (%)	S±X	< 45 г -n (%)	>45 г- n(%)
5-годишни периоди					
1996-2000 г (n=1504)	182 (12)	1322 (88)	49.41±15.51	627 (42)	877 (58)
2001-2005 г (n=1171)	146 (12)	1025 (88)	52.35±15.21	419 (36)	752 (64)
2006-2010 г (n=2190)	268 (12)	1922 (88)	51.90±14.22	859 (39)	1331 (61)
2011-2015 г (n=3422)	465 (14)	2957 (87)	50.94±14.17	1289 (38)	2133(62)
10-годишни периоди					
1996-2005 г (n=2675)	328 (12)	2347 (88)	50.67±15.45	1046 (39)	1629 (61)
2006-2015 г (n=5612)	733 (13)	4879 (87)	51.30±14.19	2148 (38)	3464 (62)

Наличието на полови и възрастови различия оценихме също при всички пациенти според определената тиреоиднаа цитопатологична категория (табл.43). Извършеният анализ показа, че съотношението мъже:жени бе най –високо в доброкачествената категория (1:7.3), а най-ниско - в малигнената и недиагностичната диагностични категории (м:ж 1:.3.7 и 1:4.5, съответно). При останалите две категории (недетерминираната/фоликуларни пролиферации и суспектната за малигненост категория съотношението мъже:жени бе еднакво високо (1:5.3). Средната възраст на пациентите с недиагностична категория бе по-голяма от тази на пациентите с недетерминирана (Z=-2,467, p=0.014), суспектна за малигненост ((Z=-3.926, p=0.0001) и малигнена категория (Z=-2,290, p=0.001), но без разлика с тази на пациентите с доброкачествена категория. Последната бе също значимо по-висока от тази на пациентите от останалите диагностични категории (недетерминирана - Z=-3.322, p=0.001, суспектна за малигненост- Z=-5.887, p=0.0001 и малигнена - Z=-4.549, p=0.0001). Не установихме значими разлики при сравнението на средните възрасти на пациентите с недетерминирана, суспектна за малигненост и малигнена цитопатологична категория. При пациентите с недиагностична и доброкачествена категория дялът на лицата на възраст над 45 години (63%) бе 1.7 пъти по-голям от този на случаите на възраст под 45 г. При пациентите с недетерминирана, суспектна за малигненост и малигнена категория установихме, че дяловете на лицата на възраст под и над 45 години са със сходна големина, около 50%.

Таблица 43. Характеристика на пациентите с отделните тиреоидни цитопатологични диагностични категории по пол, възраст и възраст над и под 45 г. за целия период на проучването.

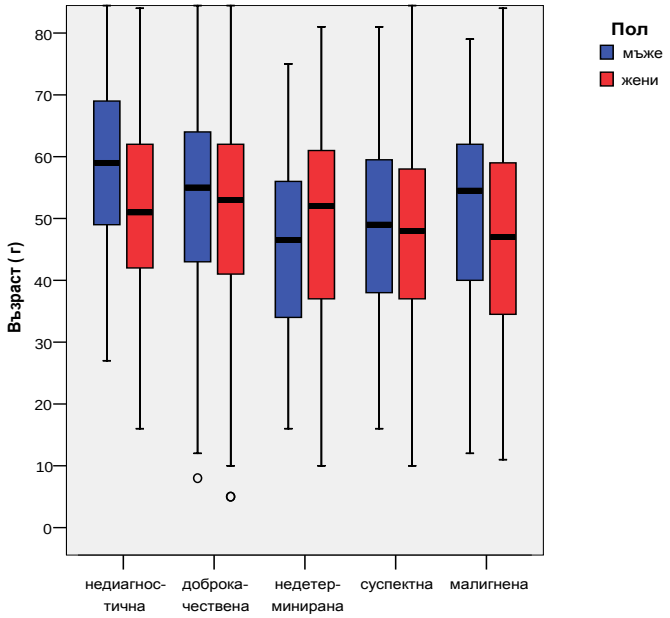
Тиреоидни цитопатологични диагностични категории (n)	Пол		Средна възраст	Възраст	
	Мъже n (%)	Жени n (%)	S±X	< 45 г n (%)	>45 г n (%)
Недиагностична (n=268)	47 (18)	221 (82)	52,18±15,21	98 (37)	170(63)
Доброкачествена (n=6797)	797 (12)	5997 (88)	51,65±14,32	2544 (37)	4250(63)
Недетерминирана (n=351)	57 (16)	297 (84)	48,75±15,06	154(44)	200(56)
Суспектна за малигненост (n=499)	82 (16)	417 (84)	47,66±14,75	227(46)	272(54)
Малигнена (n=13)	78 (21)	294 (79)	47,48±18,90	171 (46)	201(54)
Общо (n=1532)	1061 (13)	7226 (87)	51.10±14.60	3194 (39)	5093(61)

Допълнително оценихме и сравнихме дяловете на отделните цитопатологични категории в групата на мъжете и на жените, както и в техните подгрупи според възрастта под и над 45 г. (фиг. 46 а, б). Извършеният анализ показа, че при мъжете дяловете на всички цитодиагностични категории, с изключение на доброкачествената бяха по-голями в сравнение с дялове на съответните категории при жените. В групата на мъжете под 45 г, дяловете на недетерминирана (8%), суспектната за малигненост (9%) и малигнена (7%) диагностични категории бяха по-големи в сравнение с тези при жените под 45 г. (4%, 7% и 5%, съответно). (фиг. 46 б). В групата на мъжете над 45 г дяловете на недетерминираната (5%), суспектната за малигненост (7%) и малигнена (7%) категории също бяха по-големи в сравнение с тези при жените над 45 г. (4%, 5% и 3%, съответно). При сравнение на подгрупите мъжете под и над 45 г установихме, че дяловете на недетерминираната и суспектната за малигненост при мъжете под 45 г са по-големи от тези при мъжете над 45 г (8% vs 5% и 9% vs 7%, съответно), а дялът на малигнената цитология бе еднакъв в двете възрастови подгрупи (7%). При сравнение на подгрупите жени под и над 45 г установихме, че дяловете на суспектната за малигненост и малигнена категории при жените под 45 г са по-големи от тези при жените над 45 г (7% vs 5% и 5% vs 3%, съответно), а дялът на недетерминираната цитология бе еднакъв в двете възрастови подгрупи (4%).



Фиг. 46. Дялове на цитопатологични категории на пациентите с тиреоидни нодули, разпределени а) по пол и б) по пол и възраст под и над 45 г. за 20-годишния период на проучването.

В допълнение, средната възраст на пациентите от мъжки пол с недиагностична (F= 8,261, p=0,004), доброкачествена (F=10, 846, p=0,001) и малигнена цитологична категория (F=4,050, p=0,045) бе значимо по-голяма при сравнение с тази при жените (фиг. 47). Средната възраст на мъжете над 45 г с доброкачествена категория бе значимо по-голяма при сравнение с тази на жените над 45 г със същата диагностична категория (61.13±8.95 с/у 59.80±8.64, F=-3.141, p=0.002).



Фиг. 47. Средна възраст на мъжете и жените с ТБ на тиреоиден нодул/нодули според определената цитопатологична категории за 20-годишния период на проучването.

Данните от различни проучвания показват,че около 19-67% от общото население жлеза имат един или повече тиреоидни нодула при ехографско изследване на ЩЖ, но само 1 на 20 от тези нодула са злокачествени (209, 435). Известно е, че появата на тиреоиден нодул/нодули е резултат на взаимодействието от генетичните фактори и тези на околната среда. Възрастта и женския пол корелират с нарастваща поява на тиреоидни нодули. Данните от предишни проучвания допускат, че полът и възрастта могат да повлияват риска за поставяне на малигнена цитологична диагноза при пациентите с ТБ на тиреоиден нодул/ нодули (52, 54, 366, 450, 452). В това проучване ние си поставихме за цел да

извършим полова и възрастова характеристика на пациентите с ТБ на тиреоиден нодул/нодули за период от 20 години в динамика, както и да потърсим връзка между пола и възрастта от една страна и отделните цитопатологични диагностични категории определени при цитологичното изследване на тиреоидния пунктат.

Известно е, че при жените честотата на тиреоидните нодули (палпируеми и непалпируеми) е много по-висока в сравнение с мъжете (105, 153, 239). Нашите резултати показващи значимо по-голям процентът на тиреоидните цитологични изследвания при жените (87%) в сравнение с мъжете, съответстват напълно на този факт. При пациентите и от двата пола, дялът на лицата над 45 г бе значимо по-голям в сравнение с тези в млада възраст (под 45 г.) Средната възраст на мъжете за целия период на проучването бе по-голяма в сравнение с тази на жените, въпреки наличието на вариации през отделните години. При оценка на динамиката на половите и възрастови различия, не установихме разлика в дяловете на мъжете и жените, както и в тези на възраст под и над 45 г. между отделните 5- и 10-годишни субпериоди на целия период на проучването, въпреки че отчетохме значими разлики в различни посоки (нарастване или намаляване) в средната възраст на цитологично изследваните пациенти между отделните 5-годишни субпериоди на проучването. Средната възраст на пациентите, включени в първия 5-годишен период бе значимо по-малка в сравнение с тази на пациентите от останалите 5-годишни периоди, а тази на пациентите от последния 5-годишен период бе също по-малка от тази на цитологично изследваните пациентите през втория или третия 5-годишен период.

Въпреки високото съотношение мъже: жени при ехографски диагностицираните тиреоидни нодули, нашите резултати показаха, че мъжете имат по-често недиагностичен, недетерминиран, суспектен за малигненост или малигнен цитологичен резултат в сравнение с жените, при които по-често бе само доброкачествената цитологична диагноза. Половите различия при малигнената цитологична категория нарастнаха при пациентите над 45 г, отчитайки че дялът на мъжете над 45 г с малигнена цитология е над два пъти по-голям в сравнение с жените над 45 г (7% и 3%, съответно). При недетерминираната цитологична категория, обаче, половата разлика бе по-изразена при пациентите под 45 г – дялът на мъжете с недетерминиран за малигненост цитологичен резултат (8%) бе два пъти по-голям от този на жените със същия цитологичен резултат. Получените от нас резултати са в съгласие с данните на други автори, които оценяват връзката между пола и риска за

поставяне на недетерминирана, суспектна за малигненост, или малигнена цитологична диагноза (57, 366, 450). При оценка на влиянието на възрастта (под и над 45 г) върху цитологичната диагноза в групата на мъжете и жените поотделно също установихме съществени различия. Анализът показа, че мъжете над 45 по-често имат недетерминиран за малигненост или суспектен за малигненост цитологичен резултат (8% vs 5% и 9% vs 7%, съответно), докато дялът на малигнената цитологична категория бе еднаква при двете възрастови групи (по 7%). Противоложна връзка , обаче, открихме при сравнение на подгрупите жени под и над 45 г, а именно жените под 45 г бяха по-често със суспектната за малигненост или малигнена цитологична диагноза в сравнение с жените над 45 г (7% срещу 5% и 5% срещу 3%, съответно), а дялът на недетерминираната цитология при жените от двете възрастови групи бе еднакъв (4%). В допълнение, средната възраст на пациентите от мъжки пол с недиагностичен, доброкачествен или малигнен цитологичен резултат бе значимо по-голяма спрямо възрастта на жените със съответния цитологичен резултат. Получените резултати са в съответствие както с епидемиологичните данни, така и с нашите резултати за половите различия при хистологично диагностицираните тиреоидни карциноми, по-специално ПТК.

В заключение, резултатите от извършения анализ на половата и възрастова характеристика на пациентите с ТБ на тиреоидните нодули за период от 20 години показаха, че дялът на цитологично изследваните жени е приблизително 7 пъти по-голям в сравнение с този на мъжете. Дяловете на мъжете и жените над 45 г са по-големи в сравнение с тези под 45 г, но средна възраст на мъжете е по-голяма в сравнение с тази на жените. Дяловете на мъжете с недетерминиран или суспектен за малигненост, или позитивен за малигненост цитологичен резултат са по-голями в сравнение с тези при жените. При пациентите от мъжки пол, дяловете на мъжете над 45 г с недетерминиран или суспектен за малигненост цитологичен резултат са по-големи в сравнение с тези при мъжете под 45 г, а този с малигнен цитологичен резултат в двете възрастови групи еднакъв. При пациентите от женски пол дялът на доброкачествената цитологична категория нараства с възрастта, но дяловете на жените под 45 г със суспектна за малигненост и позитивна за малигненост цитологична категория са по-голями в сравнение с жените над 45 г. Не установихме разлика в дяловете на мъжете и жените, както и тези на

възраст под и над 45 г. между отделните 5- и 10-годишни субпериоди на 20 годишния период на проучването, но отчетохме разлики в различни посоки (нарастване или намаляване) в средната възраст на цитологично изследваните пациенти между отделните 5-годишни субпериоди на проучването.

VI. ЦИТОЛОГИЧНА-ХИСТОЛОГИЧНА ВЕРИФИКАЦИЯ НА ЦИТОЛОГИЧНИЯ ОТГОВОР И ОЦЕНКА НА ДИАГНОСТИЧНАТА ТОЧНОСТ НА ЦИТОЛОГИЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ТИРЕОИДНИТЕ НОДУЛИ ЗА ПЕРИОД ОТ 20 ГОДИНИ

Една от основните задачи на настоящето проучване бе да оценим точността на цитологичното изследване на тиреоидните нодули като диагностичен метод в нашия клиничен център за период от 20 години. Хистологичната верификация на цитологичния отговор е златен стандарт за оценка на диагностичната точност на всички цитологични изледвания в съвременната медицина. Предиктивната стойност на даден тест често се използва за оценка на неговата точност. Чувствителността и специфичността са предиктивните параметри, които се прилагат при клиничната оценка на всички диагностичните тестове. Чувствителността на ТБ отразява честотата на резултатите, които са позитивни за пациентите с злокачествено тиреоидно заболяване, а специфичността – честотата на резултатите, които са негативни. За тази цел ние издирихме всички случаи с предоперативна цитологична диагноза и постоперативна хистологична диагноза, които съпоставихме. Допълнително извършихме анализ на случаите с несъвпадение на цитологичната и хистологичната диагноза с оглед подобряване на специфичността и чувствителността на цитологичната диагностика на тиреоидните нодули в бъдеще.

- **Оценка на чувствителност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна стойност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули за период от 20 години**

Цитологично-хистологична верификация извършиме при 726 болни (мъже 120, жени 606, средна възраст 47.28±14.96 г, от 10 до 81 г.). При 249 от лицата с предоперативно цитологично изследване хистологичната диагноза бе доброкачествена, а при останалите 477 случаи –злокачествена (табл. 44). Извършеният анализ показа, че броят на случаите със суспектна за малигненост цитопатологична категория -n=248 (35 мъже и 213 жени, средна възраст 45.87±14.12 г, <45 г-48%) и малигнена цитологична категория -n=204 (43 мъже и 161 жени, средна възраст 43,62±15,50 г , <45 г.- 55%) бе най-голям, следван от този на случаите с доброкачествена цитологична категория -n=195 (35 мъже и 160 жени,

средна възраст 52,76±13,66 г, <45 г-33 %) и с недетерминирана категория n=79 (7 мъже и 72 жени, средна възраст 48,20±15,56 г, <45 г-43%), но без нито един случай с недиагностична цитопатологична категория.

Таблица 44. Резултати от цитологично-хистологичната верификация на включените пациенти в анализа

Цитопатологични категории-тиреоидни нодули	Хистологична диагноза				Общо
	доброкачествена		злокачествена		
	n	%	n	%	n (%)
Недиагностична	0	0	0	0	0
Доброкачествена	182	93	13	7	195 (27)
Недетерминирана	38	48	41	52	79 (11)
Суспектна за малигненост	27	11	221	89	248 (34)
Малигнена	2	1	202	99	204 (28)
Общо	249	34	477	66	726 (100)

При 182 пациента от групата пациенти с доброкачествена цитологична диагноза, потвърдена хистологично (доброкачествена хистологична диагноза), цитологичният резултат бе определен като истински негативен (T negative), а при останалите 13 случая с доброкачествената цитологична диагноза, но с хистологични данни за злокачествен тиреоиден тумор, цитологичният резултат бе класифициран като фалшиво негативен (Fnegative). При 202 случая от групата пациенти с малигнена цитологична диагноза (n=204), цитологичният отговор бе потвърден хистологично и бе определен като истински позитивен (Tpositive). При останалите 2 случая от тази група отчетохме несъвпадение между цитологичната и хистологичната диагноза и цитологичният отговор бе определен като фалшиво позитивен (Fpositive). За целите на анализа при пациентите с недетерминирана за малигненост цитологична категория (n=79) и суспектната за малигненост цитологична категория (n=248) и отчетена злокачествена хистологична диагноза, цитологичният резултат класифицирахме условно като истински позитивен (Tpositive), а при тези с отчетена доброкачествена хистологична диагноза цитологичният резултат определихме условно като фалшиво позитивен (F positive). По такъв начин, при 38 от пациентите с недетерминирана цитологична категория и при 27 от тези със

суспектна за малигненост цитологична категория, при които хистологичната верификация показа наличие на доброкачествено тиреоидно заболяване, цитологичният резултат бе определен като фалшиво позитивен (Fpositive), а при останалите 41 случая от групата на недетерминираната цитологична категория, както и по-големият брой пациенти от групата на суспектната за малигненост категория (n=221), при които хистологично бе диагностициран злокачествен тиреоиден тумор, цитологичният резултат бе определен като истински позитивен (Tpositive). На табл. 45 са представени обобщени резултати от извършената цитологична-хистологична верификация на проучените пациенти.

Таблица 45. Определяне на цитологичния резултат според хистологична диагноза при пациентите с цитологично -хистологичната верификация.

	Цитологична-хистологична верификация				
		Fnegative	Fpositive	Tnegative	Tpositive
Доброкачествена (n=195)	n	13	-	182	-
Недетерминирана за малигненост (n=79)	n	-	38	-	41
Суспектна за малигненост (n=248)	n	-	27	-	221
Малигнена (n=204)	n	-	2	-	202
Общо (n=726)	n	13	67	182	464

На базата на получените резултати от цитологично-хистологичната верификация изчислихме показателите чувствителност, специфичност, точност, позитивна и негативна предиктивна стойност (ППС и НПС), както и фалшиво позитивните и фашшиво негативните (ФПР и ФНР) резултати, в три последователни варианта. В първия вариант, отразяващ реално тези показатели, включихме само случаите със сигурна доброкачествена и малигнена цитопатология (T negative и Tpositive) Във втория и третия вариант прибавихме последователно случаите със суспектна и недетерминирана за малигненост категории, които определихме условно като Tpositive и Fpositive. Получените стойности на показателите са представени поотделно на таблици 46, 47 и 48. Извършените изчисления в първия вариант показаха висока чувствителност (93%), специфичност (99%), точност (96%) и ППС (99%) на цитопатологичната диагностика на злокачествените тиреоидни нодули. Извършените изчисления на същите параметри във вариант 2 и 3

показаха логично намаление на точността, специфичността и ППС и липса промяна в НПС. При сравнение на показателите точност, специфичност и ППС между вариант 1 и вариант 2 отчетохме намаление на техните стойности с около 13%, 3% и 5%, съответно, и нарастване на чувствителността с около 3%. При сравнение на стойностите на изчислените параметри между вариант 1 и 3 отчетохме намаление на специфичността, точността и ППС с ~26%, 7% и 12%, съответно и сходно увеличение на чувствителността (3%). Сравнението на стойностите на същите показатели между вариант 2 и 3 показа намаление на специфичността, точността и ППС с около 13%, 5% и 6% съответно и липса на промяна в стойността на чувствителността.

Таблица 45. Диагностична точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули (Вариант 1)

Цитопатологични категории	Цитологична-хистологична верификация					Общо
		Fnegativ	Fpositiv	Tnegativ	Tpositiv	
Доброкачествена	n	13	0	182	0	195
Малигнена	n	0	2	0	202	204
Общо	n	13	2	182	202	399
Показатели –Вариант 1						
Чувствителност=Tpositive/Tpositive+Fnegative.100=202/202+13.100=**93.95%**						
Специфичност =Tnegative/Tnegative+Fpositive.100=182/182+2.100=**98.91%**						
Точност=Tpositive+Tnegative/ Общ n.100=202+182/399=**96.24%**						
ППС= Tpositive/Tpositive+Fpositive.100=202/202+2.100=**99.02%**						
НПС= Tnegative/Tnegative+Fnegative.100=182/182+13.100=**93.33%**						
ФНР= (1 –Чувствителност).100=6.05%						
ФПР= (1 –Специфичност).100=1.09%						

Табл. 46. Диагностична точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули (Вариант 2)

Цитопатологични категории	Цитологична-хистологична верификация					Общо
		Fnegativ	Fpositiv	Tnegativ	Tpositiv	
Доброкачествена	n	13	0	182	0	195
Малигнена	n	0	2	0	202	204
Суспектна за малигненост	n	0	27	0	221	248
Общо	n	13	29	182	423	647
Показатели –Вариант 2						
Чувствителност=Tpositive/Tpositive+Fnegative.100=423/423+13.100=**97.02%**						
Специфичност=Tnegative/Tnegative+Fpositive.100=182/182+29=**86.25%**						
Точност=Tpositive+Tnegative/ Общ n.100=423+182/647=**93.51%**						
ППС= Tpositive/Tpositive+Fpositive.100=423/423+29.100=**93.58%**						
НПС= Tnegative/Tnegative+Fnegative.100=182/182+13.100=93.33%						
ФНР= (1 –Чувствителност).100=2.98%						
ФПР= (1 –Специфичност).100=13.75%						

Таблица 47. Диагностична точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули (Вариант 3)

Цитопатологични категории	Цитологична-хистологична верификация					Общо
		Fnegativ	Fpositiv	Tnegativ	Tpositiv	
Доброкачествена	n	13	0	182	0	195
Малигнена	n	0	2	0	202	204
Суспектна за малигненост	n	0	27	0	221	248
Недетерминирана	n	0	38	0	41	79
Общо	n	13	67	182	464	726
Показатели –Вариант 3						
Чувствителност=Tpositive/Tpositive+Fnegative.100=464/464+13.100=**97.27%**						
Специфичност=Tnegative/Tnegative+Fpositive.100=182/182+67=**73.09%**						
Точност=Tpositive+Tnegative/Общ n.100=464+182/726.100=**88.98%**						
ППС= Tpositive/Tpositive+Fpositive.100=464/464+67.100=**87,38%**						
НПС= Tnegative/Tnegative+Fnegative.100=182/182+13.100=93.33%						
ФНР= (1 –Чувствителност).100=2.73%						
ФПР= (1 –Специфичност).100=26.91%						

На таблица 48 са представени в обобщен вид получените стойности на отделните статистически показатели, характеризиращи диагностичната точност на цитологичното изследване на злокачествените тиреоидни нодули на базата на извършените изчисления при вариант 1 и 2 (включени са пациентите с малигнена и суспектна за малигненост цитологична категория) и вариант 1 и 3 (включени са случаите с малигнена, суспектна за малигненост и недетерминирана цитологична диагноза). Те показват, че точността на метода е много висока, вариращa между 86 и 99% . ППС за малигненост и специфичността на цитологичното изследване варира между 76 и 99% при отчитане на случаите от трите цитопатологични категории или само тези с малигнена и суспектна за малигненост цитологична категория. От друга страна, НПС, която определя вероятността за доброкачествена хистологична диагноза в случаите с негативен за малигненост цитологичен резултат е също висока - 93%.

Таблица 48. Диагностична точност на цитологичната диагноза на тиреоидни нодули при анализ на случаите с малигнена, суспектна и недетерминирана за малигненост цитопатологични категории (Вариант 1 и 2 или 1и 3).

Статистически показател	Вариант 1 и 2 %	Вариант 1 и 3 %
Точност	94-96	89-99
Фалшиво негативни резултати	3-6	3-6
Фалшиво позитивни резултати	1-14	1-27
Позитивна предиктивна стойност	94-99	87-99
Негативната предиктивна стойност	93	93
Чувствителност	94-97	94-97
Специфичност	86-99	73-99

Анализ на хистологичните диагнози на проучените пациенти с цитологична-хистологична верификация на тиреоидните нодули за период от 20-години според тиреоидната цитопатологичната категория

Резултатите от извършената корелация на цитологичния отговор с хистологичната диагноза на всички пациенти с цитологична-хистологична верификация на тиреоидните

нодули, разпределени според четирите цитопатологични категории са показани на табл. 49 и 50. Дялът на всички пациенти с цитологична-хистологична верификация е само 9% от общия брой случаи с извършена ТБ на тиреоиден нодул/нодули за целия период на проучването, изключвайки случаите с недиагностична цитологична категория. Изчислението на тези дялове във всяка от четирите цитопатологични категории показа, че дялът на пациентите с доброкачествена цитологична категория и цитологично-хистологична верификация (3%) е най-малък, следван по –големина от дяловте на пациентите с недетерминирана, суспектна за малигненост и малигнена категория и цитологична-хистологична верификация – 23%, 50% и 55%, съответно.

Дялът на случаите с доброкачествена хистология (34%) е близо два пъти по-малък от този на пациентите със злокачествена хистологична диагноза (66%). При пациентите с доброкачествена цитопатологична категория или с истински негативен цитологичен резултат (93%), както и при пациентите с недетерминирана (48%) и суспектна за малигненост (11%) цитологични категории, при които цитологичния резултат бе оценен условно като фалшиво позитивен в нашето проучване, нодозната фоликуларна струма с дегенеративни промени бе най-честата доброкачествена хистологична диагноза (84%). При 2-та случая (1%) с фалшиво позитивен цитологичен резултат също бе нодулерна аденоматозна струма. Лимфоцитарен тиреоидит по типа на Хашимото бе диагностициран хистологично най-често при случаите със суспектна за малигненост цитологична категория (22%), но също и при пациенти с недетерминирана и доброкачествена цитологична категории (19% и 7%, съответно). Дялът на хистологичната диагноза фоликуларен аденом бе най-голям сред случаи с недетерминирана цитология (13%) при сравнение с този на случаите с доброкачествена и суспектна за малигненост категории – 2% и 8%, съответно. Хистологичната диагноза нодозна базедовифицирана струма бе отчетена само при 5 случая (3%) с доброкачествена цитопатологична категория.

При пациентите от всички цитопатологични категории с малигнена хистологична диагноза (позитивен, условно позитивен или фалшиво негативен цитологичен резултат) най-често бе диагностициран папиларен тиреоиден карцином (ПТК) - n=449 (95%). Хистологичната диагноза фоликуларен тиреоиден карцином (ФТК) бе поставена общо при 8 пациента (1.6%), от които 6 случая (по 1-минимално инвазивен ФТК и по 2-инвазивен ФТК) бяха с недетерминирана и суспектна за малигненост цитологична категория

(условно позитивни цитологични резултати), а останалите 2 минимално инвазивни ФТК бяха от групата на пациентите с доброкачествена цитологична категория (фалшиво негативен цтологичен резултат). Хистологичните диагнози НДТК и МТК бяха отчетени само при 7 (1.5%) и 6 (1.3%) случая от всички пациенти с малигнена хистологична диагноза, но само от групите пациенти със суспектна за малигненост и малигнена цитологични категории (3 и 4 НДТК и 1 и 4 МТК от двете цитологични категории, съответно). При 7 случая (1.5%) от групите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория хистологичната диагноза бе различна от тази на основните хистологични видове тиреоиден карцином и те бяха обединени в групата други злокачествени тиреоидни тумори. В тази група бяха включени 2 случая с първичен лимфом на ЩЖ и 1 случай с мукоепидермоиден карцином на ЩЖ (и трите със суспектна за малигненост цитологична категория) и по 1 случай с метастатичен карцином от бял дроб, колон, меланом и бъбрек, общо 4 случая (при 3 от случаите с малигнена цитологична категория. Анализът на хистопатологичното стадиране (pTN) на пациентите с отделните цитопатологични категории и хистологично диагностициран първичен тиреоиден карцином (n=471, без 6-те случая с лимфом и метастази в ЩЖ) показа, че 89% от туморите са с ранен pT стадий (71% pT1 и 18% pT2) и останалите 11% - с авансирал pT стадий (9% pT3 и 2% pT4) (табл. 50). При 124 случая (26%) бяха налице хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1). При пациентите с фалшиво негативен цитологичен резултат (n=13) всички тумори бяха в ранен pT стадий (10 - pT1, 3- pT2) и без данни за метастази в лимфните възли. При пациентите с недетерминирана цитологична категория (n=41), 93% от туморите бяха с ранен pT стадий (70% pT1, 23% pT2), а при останалите 7% бе отчетен авансирал pT стадий (5% pT3 и 2% pT4); дялът на pN1 бе също малък – 5% (2 случая). При пациентите със суспектна за малигненост цитологична категория (n=218), 95% от туморите бяха с ранен pT стадий (79% pT1, 16% pT2), а при останалите 5% бе отчетен авансирал pT стадий (4% pT3 и 1% pT4); дялът на pN1 бе по-голям в сравнение с този на случаите с недетерминирана цитологична диагноза –18% (40 случая). При пациентите с малигнена цитологична категория (n=199), дяловете на туморите с ранен pT стадий (общо 83% - 62% pT1, 20% pT2) и авансирал pT стадий (общо 13% -15% pT3 и 2% pT4), както и този на pN1 (82 случая /41%) бяха по-малът и по-

големи, съответно при сравнение с тези на случаите със суспектна за малигненост цитологична категория.

Таблица 49. Корелация между цитологичната и хистологичната диагноза при пациентите с цитологична-хистологична верификация за целия период на проучването.

Цитопатологични категории –тиреоидни нодули	Корелация		Хистологична диагноза	
	ТБ n	Хирургия n (% общ n ТБ)	Доброкачествена n (%)	Злокачествена n (%)
Доброкачествена	6797	195 (3)	182 (93)	13 (7)
			- НФС - 161(88) - ТХ - 12 (7) - БС - 5 (3) - ФА- 4 (2)	- ПТК - 11 (85) - ФТК - 2 (15)
Недетерминирана	351	79 (23)	38(48)	41(52)
			- НФС - 26 (68) - ТХ - 7 (19) - ФА- 5 (13)	- ПТК - 38 (93) - ФТК - 3 (7)
Суспектна за малигненост	499	248 (50)	27(11)	221(89)
			- НФС - 19 (70) - ТХ - 6 (22) - ФА- 2 (8)	- ПТК - 210 (95) - ФТК - 3 (1) - НДТК - 3 (1) - МТК – 1 (1) - Други злокачествени тумори – 4(2)
Малигнена	372	204 (55)	2(1)	202 (99)
			НФС - 2 (100)	- ПТК - 190 (94) - НДТК - 4 (2) - МТК - 5 (2) - Други злокачествени тумори – 3 (2)
Общо	8019	726 (9)	249 (34)	477 (66)
			- НФС - 208 (84) - ТХ - 25 (10) - ФА- 11 (4) - БС - 5 (2)	- ПТК - 449 (95) - ФТК - 8 (1.6) - НДТК - 7 (1.5) - МТК – 6 (1.3) - Други злокачествени тумори – 7 (1.5)

Таблица 50. Хистопатологично стадиране на верифицираните първични тиреоидни карциноми според четирите цитопатологични категории на тиреоидните нодули.

Цитопатологични категории – тиреоидни нодули	Хистопатологично стадиране на тиреоидните карциноми-pTN					
	Общ брой ТК n (%)	pT1 n (%)	pT2 n (%)	pT3 n (%)	pT4 n (%)	pN1 n (%)
Доброкачествена	13 (3)	10 (3)	3 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Недетерминирана	41 (9)	28 (8)	9 (10)	2 (5)	1(14)	2 (2)
Суспектна за малигненост	218 (46)	173 (52)	34 (40)	9 (22)	2 (29)	40 (32)
Малигнена	199 (42)	125 (37)	40 (47)	30 (73)	4 (57)	82 (66)
Общ брой	471 (100)	336 (100)	86 (100)	41(100)	7 (100)	124 (100)

В допълнение, при общо 84 от пациентите с доброкачествена (n=10), суспектна за малигненост (n=21) и малигнена (n=53) цитопатологична категория и цитологична-хистологична верификация открихме данни за извършена комбинирана ТБ на тиреоиден нодул /нодули и лимфен възел (табл. 51). Извършеният анализ показа, че при най-голям брой от случаите с малигнена тиреоидна цитопатологична категория (44/53) цитологичното иследване на ЛВ е с данни за метастаза от ПТК, а при други 4 и 3 случая цитологичната диагноза е била суспектна за метастаза от ПТК и метастаза от нетиреоиден карцином, съответно.

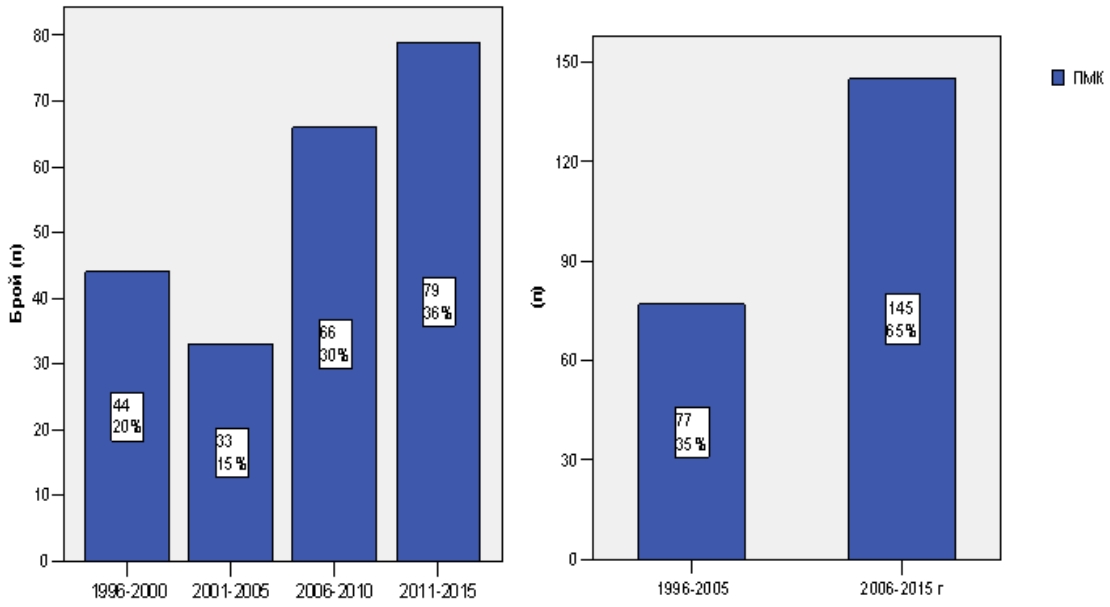
Таблица 51. Сравнение на цитологичната диагноза на лимфния възел с тиреоидните цитопатологични категории при пациентите с цитологична-хистологична верификация и комбинирана ТБ на тиреоиден нодул/нодули и лимфен възел.

Тиреоидни цитопатологични категории	Цитологични категории при ТБ на ЛВ				
	Недиагно-стична (n)	Доброкаче ствена (n)	Суспектна за мета (n)	Мета-ТК (n)	Мета- не-ТК (n)
Доброкачествена (n=10)	2	8	0	0	0
Суспектна за малигненост (n=21)	1	11	9	0	0
Малигнена (n=53)	1	1	4	44	3
Общо (n=84)	3	20	13	44	3

При случаите от четирите тиреоидни цитопатологични диагностични категории и хистологично диагностициаран ПТК (n=449) определихме честотата на отделните микроскопски варианти на ПТК (табл. 52). Извършеният анализ показа, че най-голям бе дялът на папиларния микрокарцином (56%), диагностициран в повече от 50% от всички случаи с ПТК (n=254), следван от този на класическия ПТК – 32% (n=145) и ФВПТК -9% (n=39). При 7 случая (по 1 и 6 от пациентите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория) хистологично бе диагностициран ДСВПТК, а при други 4 случая (по 1 и 3 от пациентите със суспектна за малигненост и малигнена категория) –tall-cell вариант на ПТК. Сред пациентите с фалшиво негативен цитологичен резултат и хистологично диагностициран ПТК (n=11), девет от всички тумора бяха папиларен микрокарцином и само по един – класически и фоликуларен вариант на ПТК. При пациентите с недетерминирана цитологична категория и ПТК (n=38), дялът на ПМК бе 60%, следван от този на класическия ПТК (21%) и ФВПТК (19%). При пациентите със суспектна за малигненост цитологична категория и ПТК (n=210), дяловете на ПМК (66%) и класическия ПТК (27%), както и дялът на ФВПТК (6%) бяха по-големи и по-малък, съответно при сравнение с тези на пациентите с недетерминирана цитологична категория. При пациентите с малигнена цитологична категория и ПТК (n=190), дяловете на класическия ПТК (41%) и ФВПТК (10%) и този на ПМК (44%) бяха по-големи и по-малък, съответно при сравнение с дяловете на пациентите със суспектна за малигненост категория. В допълнение, средният размер на всички хистологично верифицирани ПМК бе 0.71±0.24, като в 37% от случаите размерът на тумора бе до 0.5 mm (0.3-0.5 mm). При 34 случая (8%) от всички пациенти с цитологична-хистологична верификация и ПМК (по 18 и 16 от пациентите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория ПТК) бяха налице хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1). При оценка на динамиката в броя на ПМК от групите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория (n=222) установихме значимо нарастване в броя на цитологично диагностицираните ПМК през последния 5-годишен период (2011-2015 г- n=79) спрямо първия (1996-2000 г –n=44) и втория 5-годишен период (2001-2005-n=33), както и през втория 10-годишен период (2006-2015 г -n=145) спрямо първия 10-годишен период (1996-2005 г –n=77), (p=0.0001) (фиг. 48 а, б).

Таблица 52. Хистологична верификация на вариантите на папиларния тиреоиден карцином според четирите цитопатологични категории на тиреоидните нодули при пациентите с цитологична-хистологична верификация

ПТК -варианти	Цитопатологични категории-тиреоидни нодули				Общо n (%)
	Доброкачествена n (%)	Недерминирана n (%)	Суспектна за малигненост n (%)	Малигнена n (%)	
ПМК	9 (88)	23 (60)	139 (66)	83 (44)	254 (56)
Класически	1 (9)	8 (21)	57 (27)	79 (41.5)	145 (32)
ФВПТК	1(9)	7 (19)	12 (6)	19 (10)	39 (9)
ДСВПТК	0		1 (0.5)	6 (3)	7 (2)
Tall-cell вариант	0		1 (0.5)	3 (1.5)	4 (1)
Общо	11 (100)	38 (100)	210 (100)	190 (100)	449 (100)



Фиг. 48. Динамика в броя на случаите с ПМК от групите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория и цитологична-хистологична верификация през отделните а) 5- и б) 10-годишни периоди на проучването.

ТБ е златен стандарт за диагноза на злокачествените тиреоидни нодули. Методът е прост, надежден, минимално-инвазивен и цена ефективен (40, 98, 106, 179, 369, 399, 412). Цитологичното изследване на тиреодните нодули показва отлични резултати като диагностичната точност на метода зависи както от опита и уменията на лекаря, извършващ биопсията, така и от диагностичната експертиза и опита на цитопатолога, интерпретиращ микроскопските находки (106, 179, 277, 476). Основната задача при цитологичното изследване е разграничаване на злокачествените тиреоидни нодули от добракачествените, което доведе до значително намаляване на тиреоидектомиите (407). Въпреки, че докладваната диагностична точност е висока (95–98%), методът има някои ограничения които са причина за фалшиво негативни или фалшиво позитивни цитологични диагнози (106, 412). ТАБ на тиреоидните нодули е скринингов, а не диагностичен тест за лезиите с фоликуларен строеж. В групата на тиреоидните нодули с фоликуларен строеж се включват основно хиперпластичните нодули и фоликуларните неоплазми (фоликуларен аденом и карцином и в повечето случаи те попадат в сивата зона на тиреоидната цитология (48, 398). В тази категория се включват и голяма част от случаите с фоликуларен вариант на ПТК, при които липсата на характерните ядрени белези на ПТК дифузно не позволява поставянето на дефинитивна диагноза малигненост.

В настоящето проучване ние извършихме корелация между цитологията и хистологията на пациенти с ТБ на тиреоидни нодули в нашия клиничен център за период от 20 години и анализирахме фалшиво негативните и фалшиво позитивните цитологични резултати и вероятните причини за тях с оглед избягването им в бъдеще. Получените резултати са с голямо практическо значение т.к определянето на поведението при пациентите с тиреоидни нодули се базира в голяма степен именно на цитологичния резултат.

Цитологично-хистологична верификация на пациентите с ТБ на тиреоиден нодул/нодули в нашето проучване бе извършена при 726 пациента с цитологичен резултат, категоризиран в четири от петте тиреоидни цитопалогични категории. Най голям бе броят на пациентите със суспектна за малигненост и малигнена цитопатологична категория. Този резултат е логичен т.к всички пациенти с цитологичен резултат позитивен или суспектен за малигненост са показани за хирургично лечение. От друга страна, дялът на тези пациенти спрямо общия брой пациенти с малигнена или суспектна за малигненост цитологична категория бе 55% и 50%, съответно. Възможно обяснение на този резултат е хирургичното

лечение при останалите пациенти с тези две цитопатологчни категории да е проведено в други болници в страната поради което е невъзможно да извършим хистологична верификация на техния цитологичен резултат. Въпреки, че броят на пациентите с доброкачествена цитопатологична категория и хистологична верификация е сходен с този на пациентите със суспектна за малигненост и малигнена категория, то дялът им в общата група пациенти с доброкачествена цитология бе само 3%. Този резултат е също обясним т.к препоръчаното поведението при пациентите с негативен за малигненост резултат е клинично и/или ехографско проследяване на размера на тиреоидните нодули и евентулно повторна ТБ при наличие на промени. Броят на случаите с недетерминирана за малигненост цитологична категория и хистологична верификация бе най-малът, но дялът им спрямо общия брой случай с тази цитологична категория бе 23%. Този резултат също има логично обяснение, изхождайки от нашия алгоритъм за поведение при пациентите с тази цитопалогична категория. Отчитайки ограниченията на тиреоидната цитопатология при разграничаването на фоликуларните тумори, поведението при тях се определя индивидуално след обсъждане с ендокринолозите, извършили ТБ. При клинични/ и ехографски съмнения за малигненост или други индикации (големина/нарастване на размера на нодулите при проследяване) пациентите се насочват за хирургическо лечение. Сравнението на дяловете на пациентите с доброкачествена и недетерминирана цитологична категория и хистологична верификация в нашето проучване показа, че дялът на пациентите с недетерминиран за малигненост цитологичен резултат, които са насочени за оперативно лечение е близо 8 пъти по-голям в сравнение с този на пациентите с негативен за малигненост цитологичен резултат. Пациентите с недетерминирана цитологична категория често са показани за диагностична тиреоидектомия с цел уточняване характера на лезията и затова цитологичният резултат при тях определихме условно като позитивен или фалшиво позитивен според наличието на злокачествена или доброкачествена хистологична диагноза. По същия начин класифицирахме и цитологичният резултат при пациентите със суспектна за малицненост цитологична категория. Анализът на извършената корелация на цитологичния отговор с хистологичната диагноза на всички пациенти с цитологична-хистологична верификация на тиреоидните нодули показа, че дялът на случаите с доброкачествена хистология в нашето проучване е близо два пъти по-малък от този на пациентите със злокачествена

хистологична диагноза. Най-честата доброкачествена хистологична диагноза, както при случаите с истински негативен цитологичен резултат, така и при тези с фалшиво позитивен резултат (истински или условен) бе нодозната фоликуларна струма с дегенеративни промени, следвана в низходящ ред от ЛТ по типа на Хашимото, ФА и БС. При пациентите от всички цитопатологични категории с малигнена хистологична диагноза (фалшиво негативен и истински или условно фалшиво позитивен цитологичен резултат) най-често бе диагностициран ПТК (95%), следван по честота в низходяю ред от ФТК, НДТК и групата на редките злокачествени тумори на ЩЖ. Най-малък бе дялът на хистологично верифицираните случаи с МТК (1.3%). За отбелязване е, че в нашето проучване не отчетохме нито един случай с цитологична-хистологична верификация с недиференциран ТК. Анализът на хистостадирането на всички хистологично верифицираните първични ТК показа, че близо 90% от туморите са с ранен pT (pT1 и pT2) и много малък дял с авансирал pT, а при близо 40% бяха налице данни за метастази в лимфните възли (pN1). Папиларният микрокарцином бе най-честият хистологично диагностициран вариант на ПТК, в над половината от случаите с цитологична-хистологична верификация на ПТК (56%), както при пациентите с фалшиво негативен цитологичен резултат, така и при тези с истински и условно позитвен цитологичен резултат. В нашето проучване дялът на хистологично-верифицирания ПМК бе най-голям сред пациентите със суспектна за малигненост цитологична категория (66%), следван от този при пациентите с недетерминирана цитологична категория (60%) и най-малък при тези с малигнена цитологична категория. По такъв начин нашите резултати потвърждават схващането, че основна причина за нарастналата честота на ТК в световен мащаб е широката употреба и високата чувствителност на ТБ под ехографски контрол за откриване и диагноза на ПМК. В допълнение, оценявайки динамиката в броя на случаите със суспектна или позитивна цитологична диагноза за ПТК, ние също установихме значимо по-голям брой през последния 5-годишен период спрямо предишните 5-годишни периоди, както и през второто десетилетие на 20-годишния период на проучването в сравнение с първия 10-годишен период. Във връзка с високата честота на цитологично диагностицираните ПМК от една страна, и от друга на отличната прогноза на тези пациенти постхирургично, един от най-обсъжданите въпроси в съвременната тиреоидология е за индикациите за извършване на ТБ под ехографски контрол на

тиреоидните нодули, както и на въпроса за тяхното лечение или обема на хирургичната интервенция. Литературните данни, както и нашите, показват, че при някои от пациентите с ПМК са налице метастази в лимфните възли, които са причина за клиничната му изява и диагнозата му. Резултатите от нашия анализ показаха, че при 34 от всички пациенти с цитологична-хистологична верификация и ПМК (по 18 и 16 от пациентите със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория ПТК) са налице също хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1). Честотата на класическия ПТК и ФВПТК сред хистологично верифицираните ПТК в нашето проучване бе 30% и 9%, съответно, а агресивните варианти на ПТК (ДСВПТК и tall-cell вариант) бяха хистологично верифицирани при единични случаи (само при пациенти със суспектна за малигненост и малигнена цитологична категория).

Ролята на цитологичното изследване на тиреоидните нодули да изключи наличието на малигненост определя необходимостта то да има висока чувствителност и специфичност за откриване на злокачествените тумори, както и висока негативна предиктивна стойност (160). Докладваната чувствителност на тиреоидната цитопатология варира от 65% до 99%, а нейната специфичност от 72% до 100% (81, 84, 179, 309, 374). От друга страна, някои проучвания докладват сравнимо по-ниски чувствителност и НПС (55.3% и 44.7%, съответно) (315). Вероятни причини за по-ниската чувствителност на метода е недостатъчния опит от страна на лекарите извършващи биопсията или на цитопатолога при интерпретацията на цитологичния материал (399). В литературата са налице съществени различия в докладваните стойности на статистическите параметри, характеризиращи диагностичната стойност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули (277). Основните фактори за тези вариации са броят на случаите, включени в анализа, броя на цитопатологичните категории (4, 5 или 6 според използваната система), както и начина по който цитопатолога класифицира суспектните лезии (425). Някои автори посочват, че различията в категоризацията на кистичните лезии (в недиагностичната или доброкачествена цитопатологична категория) също допринасят за докладваните вариации в статистическите параметрите (40). В някои от проучванията не се включват случаите с недетерминирана цитология, докато в други проучвания те се определят като позитивни или фалшиво позитивни т.к са насочени за хирургично лечение. Налице са вариации и в зависимост от начина на класифициране на хистологично

диагностицираните фоликуларни неоплазми или по-точно на аденомите. При определяне на предиктивната стойност на метода също са налице вариации свързани с наличието на съществени разлики в броя на случаите в отделните категории, които са оперирани и хистологично верифицирани (напр. с доброкачествена цитология), както и със селекцията на случаите с доброкачествена цитология насочени за хирургично лечение (с или без клинична суспекция за малигненост). В проучването на Bohacek и сътр. (61) честотата на фалшиво-негативните диагнози намалява от 6.9% до 2.3%, при изключване на случаите с доброкачествена диагноза, но с висока клинична суспекция. За по-лесно сравнение, както и за по-точно определяне на ограниченията на цитологичното изследване, в настоящето проучване ние изчислихме статистическите параметри, характеризиращи диагностичната точност на метода в три варианта – в 1-вия вариант включихме само случаите с истински позитивен и фалшиво позитивен за малигненост цитологичен резултат, а във 2-рия и 3-я вариант прибавихме последователно случаите от суспектната и недетерминирана за малигненост цитологични категории, при които цитологичният резултат бе определен условно като истински позитивен и фалшиво позитивен. Анализът на извършените изчисления показа, че чувствителността на цитологичното изследване на тиреоидните нодули в нашия клиничен център е висока и варира между 94 и 97% според варианта на изчисления. Установихме също висока специфичност, достигаща 99% при анализ само на случаите с малигнена цитологична категория, 86% - при анализ на случаите с малигнена и суспектна за малигненост категория и 73% - при анализ на случаите с малигнена, суспектна за малигненост и недетерминирана цитологична категория. Тези резултати показват високия потенциал на цитологичното изследване в нашата лаборатория да открива малигнените тиреоидни нодули и определя подбора на пациентите показани за последващо хирургично лечение. В литературата са налице редица проучвания, със сходен на нашето проучване дизайн, в които докладваната чувствителност варира между 82–93.4%, а специфичността между 74.9-96% (40, 70, 81, 230, 369, 389, 425). Позитивната предиктивна стойност в нашето проучване варира между 87-99% в зависмост от варианта на изчисления и също бе сравнима с тази, докладвана в други проучвания (230, 389, 425). Негативната предиктивна стойност в нашето проучване бе 93%, в границите на докладваната в другите, сходни по дизайн проучвания, а именно от 91.8 до 94% (70, 425). Точността на ТБ за откриване на малигнените лезии в нашето проучване варира между

89-99%. Най-висока бе при анализ на случаите с малигнена цитологична категория (99%), което показва че цитологичното изследване на тиреоидните нодули е надежден метод за диагностицирането им. От практическа гледна точка, тази висока диагностична точност обезмисля искането на интраоперативно (гефрирно) изследване от страна на хирурзите за потвърждаване на малигнения характер на тиреоидния нодула. Включването в анализа на случаите със суспектна за малигненост цитологична категория доведе до намаление на точността на метода до 94%, а при включване и на случаите с недетерминирана цитологична категория - до 89%, съответно. Докладваната в литературата точност на метода варира от 83.6% до 93.6% също е в подкрена на нашите резултати (70,425, 230, 491). Докладваните фалшиво негативните цитологични резултати в литературата варират между 1 и 19% (129, 230, 408, 410, 425). В действителност е трудно да се оцени действителния процент на фалшиво негативните резултати т.к само малък дял (приблизително 10%) от пациентите с доброкачествена цитопатологична категория са показани за хирургично лечение по други причини (179, 407). В едно проучване беше докладвано, че фалшиво негативните резултати са под 5% , ако всички пациенти с негативен за малигненост цитологичен резултат са оперирани и имат хистологична верификация (179). В нашето проучване фалшиво-негативните цитологични резултати варират между 3 и 6%, което го поставя в долната граница на докладваната в литературата вариабилност на този статистически параметър. Извършената корелация на цитологичната и хистологичната диагноза на 13-те случая с фалшиво негативен цитологичен резултат в нашето проучване показа, че при 9 пациента хистологично верифицирания ТК бе ПМК, в други 2 случая - минимално инвазивен ФТК и при 2 случая - ФВПТК и класически ПТК, съответно. Една от най- честите причини за фалшиво негативна цитологична диагноза е неадекватното място на биопсия, особено при кистичните или смесени тиреоидни нодули, както и тези с много малък размер. Въпреки, че ТБ е най-чувствителния метод за предсказване на малигненост както при кистичните така и при солидните тиреоидни нодули, нейната надеждност е по-малка при кистичните лезии в сравнение със солидните (118). В контраст, с техническото усъвършенстването на съвременните ехографи, както и на ендокринолозите през последните години доведе до нарастване на чувствителността на ТБ под ехографски контрол за откриване на ПМК с много-малък размер. Средният размер на хистологично верифицираните ПМК при пациентите със суспектна за малигненост и

малигнена цитологична категория в нашето проучване бе 0.71±0.24 cm, като в 37% бе до 0.5 cm (от 0.3-0. cm). Щателното изследване на всички цитологични препарати е от съществено значение за намаляване на случаите с фалшиво негативен цитологичен резултат в тези случаи (352). Едно от основните ограничения на ТБ е именно невъзможността да разграничи доброкачествените фоликуларни нодули от фоликуларния карцином т.к критериите за разграничаването им се базират на хистологичните данни за наличие на транскапсулна или съдова инвазия, които не могат да се изследват при цитологията (160). Най-вероятно това е причината за фалшиво негативен цитологичен резултат при двама от нашите пациенти, при които хистологичната диагноза бе минимално инвазивен ФТК. За отбелязване е, че останалите 6 ФТК (4 от тях инвазивни ФТК) от общо 8 хистологично верифицирани ФТК в нашето проучване бяха сред пациентите с недерминирана и суспектна за малигненост категория. В редица предшестващи проучвания бе установено, че при ФВПТК характерните белези на ядрата, имащи диагностично значение при ПТК се наблюдават по-рядко (46, 405, 491, 492) и чувствителността на ТБ за определяне на диагнозата ПТК е сравнително ниска (205, 247). От друга страна, по-честото или по-равномерно откриване на някои от ядрените белези на ПТК на фона на микро- и макрофоликули с вискозен колоид могат да доведат до поставянето на суспектната или позитивна за ПТК цитологична диагноза. Във връзка с тези данни, в нашето проучване дялът на хистологично верифицирания ФВПТК бе най-голям сред пациентите с недетерминирана цитологична категория, следван от този в групата пациенти с малигнена и суспектна за малигненост категория.

В литературата фалшиво позитивните резултати варират в широки граници в зависимост от това това дали са включени или не в статистиката случаите с недетерминирана за малигненост цитология. В нашето проучване истински фалшиво позитивните цитологични резултати бяха само 1%, а след включване на случаите със суспектна за малигненост и недетерминирана цитологична категория процентът им нарасна до 14 и 27%, съответно. При двата случая с истински негативен цитологичен резултат в нашето проучване, както и при по-голяма част от пациентите с условно фалшиво позитивен резултат хистологичната диагноза бе аденоматозна струма. Следващата по честота хистологична диагноза сред пациентите с условно фалшиво позитивен резултат от двете цитологични категории бе ЛТ на Хашимото, нодозен вариант и фоликуларен аденом.

Както вече споменахме, точната цитологична диагноза на тиреоидните лезии с фоликуларен строеж попада в сивата зона на тиреоидната цитология именно поради припокриващите се цитологични белези между доброкачествените и злокачествените тиреоидни нодули (425, 434, 482). Друга възможна причина за тези фалшиво позитивни диагнози в нашето проучване, а също и в литературата, е наличието на цитологични белези, характерни за ПТК и при някои доброкачествени тиреоидни заболявания. Литературните данни показват, че характерните ядрени белези за ПТК като ядрени вгъвания, псевдовключвания и други могат да се наблюдават също при аденоматозната струма, ТХ и фоликуларните неоплазми (434). Въпреки това честотата на тези белези при различните доброкачествени тиреоидни нодули е много по-малка в сравнение с ПТК (235, 342). Следователно, познаването на тези цитологични особености от една страна, както и стриктното спазване на критериите за съответствие биха могли да намалят условно фалшиво позитивните резултати.

В заключение, извършения от нас анализ показа, че цитологичното изследване е силно надежден и точен метод за диференциране на злокачествените тиреоидни нодулите, с висока точност, варираща от 89-99% дори при включване на случаите със суспектна или недетерминирана за малигненост цитологична категория. При случаите с фалшиво негативен цитологичен резултат най-честата хистологична диагноза бе папиларен микрокарцином, следвана от ФТК (минимално инвазивен) и фоликуларния вариант на ПТК. Тиреодните нодули с фоликуларен строеж, както и ФВПТК се включват в сивата зона на тиреоидната цитология, поради което е препоръчително тяхното хирургично отстраняване и хистологично верифициране. Най-честата причина за фалшиво позитивна цитологична диагноза е появата на ядрени белези, характерни за ПТК при други тиреоидни заболявания като аденоматозната струма, тиреоидит на Хашимото, фоликуларните аденоми. ПМК е най-честият злокачествен тиреоиден тумор при пациентите със суспектна за малигненост и малигнена цитопатологична категория, като честотата на цитологичната му диагноза нараства през по-късните периоди на проучването.

VII. И З В О Д И

1. Налице е широк спектър от хистологични видове и подвидове на тиреоиден карцином

- Честотата на папиларния карцином е най-висока и нараства през последните 20 години
- Честотата на недиференцирания и нискодиференцирания тиреоиден карцином е най-ниска и не показва промяна за периода на проучване
- Преобладават туморите с ранен стадий (pT1 и pT2)
- При една четвърт са налице хистологични данни за метастази в лимфните възли (pN1)
- Честотата на женския пол е по-висока при всички видове злокачествени тумори
- Възрастта при пациентите с папиларен карцином е най-ниска, с еднакъв дял в млада и средна възраст

2. При папиларния тиреоиден карцином е налице разнообразен спектър от хистологични варианти:
   - Най-висока е честотата на папиларния микрокарцином, следвана от класическия и фоликуларния вариант, нарастваща за последните 20 години.
   - Определянето на вариантите на папиларния карцином има прогностично значение
     - ✓ Микрокарцином –най-често ранен стадий (T1N0), но единични случаи с начална екстратиреоидна инвазия (pT3) и метастази в лимфни възли (pN1), връзка между N1 и размера и мултифокалността на тумора
     - ✓ Класическият и фоликуларният вариант – преобладава pT2 стадия, в една трета - метастази в лимфни възли (pN1)
     - ✓ При дифузния склерозиращ и tall cell варианти – по-често мултифокалност, авансирал локален (pT3) и нодален стадий (pN1)
     - ✓ При всички варианти преобладава женския пол, с изключение на tall cell варианта
   - Налице са характерни възрастови различия

- ✓ Пациентите с дифузен склерозиращ вариант –най-млади, а тези с редки и tall cell варианти – по-възрастни в сравнение с останалите варианти

3. Дифузният (или мултинодуларен) подвариант на фоликуларния вариант на папиларния тиреоиден карцином се отличава с по-агресивно локално и нодално поведение, и съдова инвазивност

4. Генно-експресионния профил на папиларния тиреоиден карцином показва наличие на голям брой гени с намалена и повишена експресия
   - някои от тях все още не характеризирани функционално

5. Броят на цитологичните изследвания нараства през последните 20 години
- Дялът на доброкачествената цитопатологична категория е най-висок и нараства
- Дялът на суспектната за малигненост категория е по-голям от този на малигнената категория, като и двата намаляват
- Използването на Бетезда системата за оценка на цитопатологичните категории намалява дяла на недетерминираната за малигненост категория

6. Чрез цитологична-хистологична верификация на отделните цитопатологични диагностични категории се доказва:
- Високата чувствителност, специфичност и точност на цитологичното изследване на тиреоидните нодули след ТБ под ехографски контрол, с високи позитивна и негативна предиктивна стойност за малигненост
- Високата специфичност на цитологичната диагностика на най-честия вид тиреоиден карцином, а именно папиларния тиреоиден карцином, вкл. микрокарцинома

VIII. Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бочева Я, К. Христозов, М. Бончева, М. Сидерова, И. Красналиев, В. Славова Изследване на нива на серумен тиреоглобулин и тиреоглобулин в смив след тънкоиглена аспирационна биопсия на суспектен за метастаза лимфен възел при пациент с диференциран тиреоиден карцином. МедИнфо, 2010, 4.
2. Боянов, М. Ехографски белези на възли на щитовидната жлеза и цитологичен резултат от тънкоиглената им биопсия. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 19, 2011, 1, 24-31.
3. Боянов, М., П. Попиванов, Ж. Бонева. Случай на интратиреоиден паратиреоиден аденом. Ендокринни заболявания, 31, 2002, 2, 14-20.
4. Геренова Ж., Боева С., Пенкова Д. Клинична характеристика на диферецирания тиреоиден карцином. Trakia journal of science, vol. 6, 2, suppl. 2, 2008, 145-149.
5. Иванова Р, П. Каранова. Карцином на щитовидната жлеза – морфология и хистологична класификация. Заболявания на щитовидната жлеза, под ред. на проф. Дамян Дамянов, Съюз на учените в България, 2005, 223-230.
6. Иванова К, Еркан Йонал, Мая Гълъбова. VEGF и карцином на щитовидната жлеза, туморна ангиогенеза, дендритни клетки. Ендокринология 2014; 2: 81-87.
7. Иванова К, Е. Йонал, М. Гълъбова. Роля на TGF-β, TGF-β-рецептор II, Smad4, Smad7, дендритни клетки и макрофаги за развитието и прогресията на карцинома на щитовидната жлеза. Онкология, 2012; 2:9-27.
8. Ковачева, Р. Ехографска диагноза на карцинома на щитовидната жлеза, - Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 2002, 1,23-24.
9. Ковачева, Р., Н. Кънев, Р.С. Иванова, Р.Б. Иванова. Възможности на високочестотната ехография за ранната диагноза на тиреоидния карцином Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 11, 2003, 2, 81-6.
10. Ковачева, Р., Ю. Манова, Р. Ст. Иванова, и сътр. Диагностични проблеми при метастатични тумори в щитовидната жлеза. XIII конгрес по ултразвук в медицината, 14-16 октомври 2010. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 18, 2010, 2, 24.
11. Ковачева Р., Р.С. Иванова, Р. Б. Иванова, Н. Кънев, А. Сарафова, А-М. Борисова. Диагностична стойност на ехографията, тънкоиглената биопсия под

ехографски контрол и цитологично изследване за ранна диагноза на папиларния карцином на щитовидната жлеза. Ендокринология, 9, 1, 2004, 42-48

12. Ковачева Р, Р. С. Иванова, Р. Б. Иванова, Н. Кънев, А-М Борисова. Алгоритъм за ранна диагноза на тиреоидния микрокарцином. Заболявания на щитовидната жлеза, под ред. на проф. Дамян Дамянов, Съюз на учените в България, 2005, 32-41.
13. Кънев. Н. Ехографска диагноза на екстратиреоидните формации в областта на шията. Диагностичен и терапевтичен ултразвук, 10, 2002, 1, 30 (резюме).
14. Национален раков регистър. Заболяемост от рак в България, 2011. https://www.sbaloncology.bg/assets/files/rakov.../Cancer_incidence_BG_2011.pdf
15. Ненков, Р., Р. Радев, Я. Кузманов. Честота и клинично – морфологични характеристики на тиреоидния карцином във Варненски регион през периода 1987-2002 година. Ендокринология, 10, 2005, 1, 44-51.
16. Николова Д, Анализ на генната експресия на тиреоидни и овариални карциноми и идентификация на кандидат гени за диагностика и прицелна терапия. Дис. Труд, 2008, София
17. Пандев Р, Г. Ганчев, Т. Сечанов, Ив.Мендизов, Г.Дашев. Хирургично лечение при медуларен тиреоиден карцином. Българска Хирургия 2002, Vol II, 4: 3-9.
18. Пандев Р, Т.Мусхолт, П.Мусхолт, Т.Хаджиева, Ив.Терзиев, Ив.Мендизов, Р.Иванова. Какво трябва да знаем за фамилния папиларен тиреоиден карцином. Българска Хирургия 2003, Vol III, 5: 2-5.
19. Попиванов П., М. Боянов, Н. Темелкова, Д. Манолов, Г. Чавраков. Тънкоиглена аспирационна биопсия на щитовидната жлеза - 3-годишен опит. Вътрешни болести, 32, 2000, 3, 31-37.
20. Райков В, Вичева С, Нончев Б и сътр. Ехографски критерии –предиктори за малигненост – анализ на тяхната честота при доказани 50 щитовидни карцинома. Национален конгрес по ендокринология, 8-11 окт. 2015, Пловдив (постер с устно представяне). Сборник стр. 108-109.
21. Сечанов Т., Г. Ганчев, М. Велков, Р. Иванова. Радикален или консервативен подход при терапията на папиларния карцином на щитовидната жлеза. Заболявания на щитовидната жлеза, под ред. на проф. Дамян Дамянов, Съюз на учените в България, 2005, 212-218.

22. Сидерова М, Христозов К, Красналиев И. Ултразвукова еластография при оценката на тиреоидни възли. Национален конгрес по ендокринология, 8-11 окт. 2015, Пловдив (научно съобщение). Сборник стр. 32-33.
23. Сидерова, М, К.Христозов, И. Красналиев, Е. Софтова. Корелация между ехографски белези за малигненост и цитоморфологични категории при ТАБ на тиреоидни възли. IX Национален конгрес по ендокринология 15-17 април 2010 година, сборник резюмета, стр. 98.
24. Сидерова М. Имунохистохимични маркери и ултразвукова еластография – нови диагностични възможности в уточняването на тиреоидните възли. Дис. труд. 2013
25. Чобанова, Н., М. Вуков, А. Ягова, Р. Иванова. Епидемиологично проучване на заболяваемостта от рак на щитовидната жлеза в България след Чернобилската авария. Ендокринология, 11, 2006, 2, 86-95
26. Христозов, К. Ехография на щитовидна жлеза и околощитовидни структури. Варна, Хеликс прес, 2013, стр. 446-471.
27. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, et al. Correlation between genetic alter-ations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic charac-teristics of thyroid papillary carcinomas. Am J Surg Pathol. 2006;30(2):216-222.
28. Adjadj E, Schlumberger M, de Vathaire F. Germ-line DNA polymorphisms and susceptibility to differentiated thyroid cancer. Lancet Oncol. 2009; 10: 181-190.
29. Akaishi J, Sugino K, Kameyama K et al. Clinicopathologic features and outcomes in patients with diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. World J Surg. 2015;39(7):1728-35.
30. Akslen LA, LiVolsi VA. Prognostic significance of histologic grading compared with subclassification of papillary thyroid carcinoma. Cancer. 2000 Apr 15;88(8):1902-8.
31. Albores-Saavedra J, Gould E, Vardaman C. The macrofollicular variant of papillary carcinoma. A study of 17 cases. Hum Pathol.1991;22:1195-205.
32. Aldred MA, Huang Y, Liyanarachchi S et al. Papillary and follicular thyroid carcinomas show distinctly different microarray expression profiles and can be distinguished by a minimum of five genes. J Clin Oncol 2004; 22: 3531-3539.

33. Alevizaki M, Papageorgiou G, Rentziou G, et al. Increasing prevalence of papillary thyroid carcinoma in recent years in Greece: the majority are incidental. Thyroid 2009;19:749–754.
34. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, et al. Preoperative diag-nosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. N Engl J Med. 2012; 367(8):705-715.
35. Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Definitions, criteria and explanatory notes. New York:Springer, 2010.
36. Alshenawy HA. Utility of immunohistochemical markers in diagnosis of follicular cell derived thyroid lesions. Pathol Oncol Res. 2014;20(4):819-28.
37. Alvarez-Nuñez F, Bussaglia E et al. PTEN promoter methylation in sporadic thyroid carcinomas. Thyroid. 2006; 16: 17-23.
38. Alves P, Soares P, Rossi S, Fonseca E, Sobrinho-Simões M. Clinicopathologic and prognostic significance of the expression of mucins, simple mucin antigens and histo-blood group antigens in papillary thyroid carcinomas. Endoc Pathol 1999; 10: 315–324.
39. Amado M, Carneiro F, Seixas M, Clausen H, Sobrinho-Simoes M. Dimeric sialyl-Le(x) expression in gastric carcinoma correlates with venous invasion and poor outcome. Gastroenterology 19998; 114: 462–470.
40. Amrikachi M, Ramzy I, Rubenfeld S, Wheeler TM. Accuracy of fine-needle aspiration of thyroid. Arch Pathol Lab Med 2001;125: 484–8.
41. Anand A, Singh KR, Kushwaha JK et al. Papillary Thyroid Cancer and Hashimoto's Thyroiditis: An Association Less Understood. Indian J Surg Oncol. 2014; 5(3):199-204.
42. Are C, Shaha AR. Anaplastic thyroid carcinoma: biology, pathogenesis, prognostic factors, and treatment approaches. Ann Surg Oncol. 2006; 13: 453-464.
43. Ashfaq R, Vuitch F, Delgado R, Albores-Saavedra J. Papillary and follicular thyroid carcinomas with an insular component. Cancer, 1994, 73, 416-423.
44. Asioli S, Erickson LA, Righi A, Lloyd RV. Papillary thyroid carcinoma with hobnail features: Histopathologic criteria to predict aggressive behavior. Hum Pathol. 2013;44:320–8.
45. Asioli S, Erickson LA, Sebo TJ, et al. Papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features: a new aggressive variant of moderately differentiated papillary

carcinoma. A clinicopathologic immunohistochemical, and molecular study of eight cases. Am J Surg Pathol. 2010; 34:44–52.

46. Bakhos R, Selvaggi SM, DeJong S et al. Fine-needle aspiration of the thyroid: rate and causes of cytohistopathologic discordance. Diagn Cytopathol 2000;23:233–7.
47. Baloch ZW, Cibas ES, Clark DP, et al. The National Cancer Institute Thyroid fine needle aspiration state of the science conference: a summation. Cytojournal 2008; 5: 6.
48. Baloch ZW, Fleisher S, LiVolsi VA, Gupta PK. Diagnosis of "follicular neoplasm": a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. Diagn Cytopathol 2002; 26: 41-4.
49. Baloch ZW, Gupta PK, Yu GH, et al. Follicular variant of papillary carcinoma. Cytologic and histologic correlation. Am J Clin Pathol 1999; 111: 216-22.
50. Baloch ZW, LiVolsi VA, Asa SL et al. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. Diagn Cytopathol 2008; 36: 425-437.
51. Hafez NS, Tahoun NS. Reliability of fine needle aspiration cytology (FNAC) as a diagnostic tool in cases of cervical lymphadenopathy. J Egyptian National Cancer Institute 2011 23, 105–114.
52. Baloch ZW, Livolsi VA. Follicular-patterned lesions of the thyroid: the bane of the pathologist. Am J Clin Pathol. 2002; 117(1):143-50.
53. Baloch ZW, Tam D, Langer J, Mandel S, LiVolsi VA, Gupta PK. Ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: role of on-site assessment and multiple cytologic preparations. Diagn Cytopathol 2000; 23: 425-9.
54. Banks ND, Kowalski J, Tsai HL et al. A diagnostic predictor model for indeterminate or suspicious thyroid FNA samples. Thyroid. 2008; 18:933–941.
55. Baris O, Mirebeau-Prunier D, Savagner F et al. Gene profiling reveals specific oncogenic mechanisms and signaling pathways in oncocytic and papillary thyroid carcinoma. Oncogene 2005; 24: 4155-4161.
56. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. Cell. 2009; 136: 215-233.

57. Belfiore A, La Rosa GL, La Porta GA et al. Cancer risk in patients with cold thyroid nodules: relevance of iodine intake, sex age, and multinodularity. Am J Med. 1992; 93:363–369.
58. Berho M, Suster S. The oncocytic variant of papillary carcinoma of the thyroid: A clinicopathologic study of 15 cases. Hum Pathol .1997;28:47-53.
59. Bilimoria KY, Bentrem D J, Ko CY et al. Extent of surgery affects survival for papillary thyroid cancer. Ann Surg 2007; 246(3): 375-381.
60. Boelaert K, Horacek J, Holder R et al. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration. J Clin Endocr Metab 2006; 91(11): 4295-4301.
61. Bohacek L, Milas M, Mitchell J, et al. Diagnostic accuracy of surgeon-performed ultrasound-guided fine-needle aspiration of thyroid nodules. Ann Surg Oncol. 2012;19:45–51.
62. Bojunga J, Herrmann E, Meyer G et al. Real-time elastography for the differentiation of benign and malignant thyroid nodules: a meta-analysis.Thyroid 2010; 20(10): 1145-1150.
63. Bonacci R, Pinchera A, Fierabracci P et al. Relevance of estrogen and progesterone receptors enzyme immunoassay in malignant, benign and surrounding normal thyroid tissue. J Endocrinol Invest 1996; 19(3): 159-164.
64. Bongiovanni M, Cibas ES, Faquin WC. The role of thyroid fine needle aspiration cytology and the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Diagn. Histopathol 2010; 17(3): 95-105
65. Bongiovanni M, Crippa S, Baloch Z et al. Comparison of 5-tiered and 6-tiered diagnostic systems for the reporting of thyroid cytopathology: a multi-institutional study. Cancer Cytopathol. 2012 Apr 25;120(2):117-25.
66. Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC et al. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: a meta-analysis. Acta Cytol. 2012;56:333-339.
67. Keith VE, Harsharan SK, Jerald GZ. Fine needle aspiration biopsy of lymph nodes in the modern era: reactive lymphadenopathies. Pathol Case Rev 2007;12(1):27–35.

68. Bongiovanni M, Trimboli P, Rossi ED et al. High-yield thyroid fine-needle aspiration cytology: an update focused on ancillary techniques improving its accuracy. Eur J Endocrinol 2016;174:53–63.
69. Borget I, Vielh P, Leboulleux S, et al. Assessment of the cost of fine needle aspiration cytology as a diagnostic tool in patients with thyroid nodules. Am J Clin Pathol 2008; 129: 763-71.
70. Borgohain R, Lal RK, Chatterjee P et al. A study of cyto-histological correlation in the diagnosis of thyroid swelling. IOSR J Dent Med Sci 2014;13(11):46–9.
71. Bounacer A, Wicker R, Caillou B et al. High prevalence of activating ret proto-oncogene rearrangements, in thyroid tumors from patients who had received external radiation. Oncogene. 1997; 15: 1263-1273.
72. Boutzios G,Vasileiadis I,Zapanti E,Charitoudis G,Karakostas E,Ieromonachou P,Karatzas T. Higher incidence of tall cell variant of papillary thyroid carcinoma in Graves' Disease. Thyroid. 2014;24:347-354.
73. Brito JP, Hay ID, Morris JC. Low risk papillary thyroid cancer. BMJ 2014; 348(7963): 3045-3054.
74. Bukhari MH, Niazi S, Hanif G, et al. An updated audit of fine needle aspiration cytology procedure of solitary thyroid nodule. Diagn Cytopathol 2008; 36: 104e12.
75. Busnardo B, De Vido D. The epidemiology and etiology of differentiated thyroid carcinoma. Biomed Pharmacother 2000; 54(6): 322-326.
76. Cady B, Rossi R. An expanded view of risk-group definition in differentiated thyroid carcinoma." Surgery 1988; 104(6): 947-953.
77. Cady B. Staging in thyroid carcinoma. Cancer. 1998; 83: 844-847.
78. Can AS. Cost-effectiveness comparison between palpation- and ultrasound-guided thyroid fine-needle aspiration biopsies. BMC Endocr Disord 2009; 9: 14.
79. Canbay E, Dokmetas S, Canbay EI et al. Higher glutathione transferase GSTM1 0/0 genotype frequency in young thyroid carcinoma patients. Curr Med Res Opin. 2003; 19: 102-106.
80. Capelli L, Marfisi C, Puccetti M et al. Role of BRAF molecular analysis in the management of papillary thyroid carcinoma: analysis of cytological and histological samples. Cytopathology 2015;26:297–302.

81. Caraway NP, Sneige N, Samaan N. Diagnostic pitfalls in thyroid fine-needle aspiration: a review of 394 cases. Diagn Cytopathol 1993;9:345–50.
82. Carcangiu ML, Zampi G, Rosai, J. Poorly differentiated ("insular") thyroid carcinoma. A reinterpretation of Langhans'"wuchernde Struma". Am. J. Surg. Pathol. 1984; 8: 655-668.
83. Carpi A, Nicolini A, Sagripanti A et al. Large-needle aspiration biopsy for the preoperative selection of palpable thyroid nodules diagnosed by fine-needle aspiration as a microfollicular nodule or suspected cancer. Am J Clin Pathol 2000; 113: 872-7.
84. Caruso D, Mazzaferri EL. Fine needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules. Endocrinologist 1991;1:1194–202.
85. Cerrato A, Fulciniti F, Avallone A, et al. Beta- and gamma-catenin expression in thyroid carcinomas. J Pathol. 1998;185:267–272.
86. Cha Y, Chang HS, Won S. Diffuse follicular variant of papillary thyroid carcinoma in a 69-year-old man with extensive extrathyroidal extension: a case report. Hong Korean Med Sci 2013;28:480-4.
87. Chan JK, Tsui MS, Tse CH. Diffuse sclerosing variant of papillary carcinoma of the thyroid: a histological and immunohistochemical study of three cases. Histopathology. 1987; 11: 191-201.
88. Chen H, Izevbaye I,Chen F, Weinstein B. Recent Advances in Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma. N A J Med Sci. 2012;5(4):212-216
89. Chen JH, Faquin WC, Lloyd RV, NoséV. Clinicopathological and molecular characterization of nine cases of columnar cell variant of papillary thyroid carcinoma. Modern Pathology. 2011;24:739–49.
90. Chernock RD. Immunohistochemistry of thyroid gland carcinomas: clinical utility and diagnostic pitfalls. Diagn. HIstopathol 2016, 22(5), 184-190.
91. Chow S, Chan J, Law S et al. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma—clinical features and outcome. Eur J Surg Oncol 2003; 29(5): 446-449.
92. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for reporting thyroid cytopathology. Am J Clin Pathol 2009; 132: 658-65.
93. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Definitions, Criteria and Explanatory Notes. New York: Springer; 2010.

94. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. Thyroid 2009; 19: 1159e65.
95. Cibas ES. Fine-needle aspiration in the work-up of thyroid nodules. Otolaryngol Clin North Am. 2010;43:257-271.
96. Cipriani NA, Nagar S, Kaplan SP et al. Follicular Thyroid Carcinoma: How Have Histologic Diagnoses Changed in the Last Half-Century and What Are the Prognostic Implications? Thyroid. 2015;25(11):1209-16.
97. Clark D, Faquin W. Thyroid cytopathology. In: Essentials in cytopathology series. New York: Springer, 2005.
98. Clark OH. Fine-needle aspiration biopsy and management of thyroid tumors. Am J Clin Pathol 1997;108(Suppl. 4):S22–5.
99. Cochand-Priollet B, Dahan H, Laloi-Michelin M, et al. Immunocytochemistry with cytokeratin 19 and anti-human mesothelial cell antibody (HBME1) increases the diagnostic accuracy of thyroid fine-needle aspirations: preliminary report of 150 liquid-based fine-needle aspirations with histological control. Thyroid. 2011;21: 1067-1073.
100. Cohen Y, Xing M, Mambo E et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. J Natl Cancer Inst. 2003; 95: 625-627.
101. Collini P, Mattavelli F, Pellegrinelli A et al. Papillary carcinoma of the thyroid gland of childhood and adolescence: Morphologic subtypes, biologic behavior and prognosis: a clinicopathologic study of 42 sporadic cases treated at a single institution during a 30-year period. Am J Surg Pathol 2006; 30: 1420- 1426.
102. Colonna M, Guizard AV, Schvartz C 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 2007, 43(5): 891-900.
103. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. Thyroid 2009; 19:1167–1214
104. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. Thyroid 2006; 16: 109-42.
105. Coorough N, Hudak K, Buehler D et al. Fine Needle Aspiration of the Thyroid: A Contemporary Experience of 3981 Cases. J Surg Res. 2011

106. Cramer H. Fine-needle aspiration cytology of the thyroid: an appraisal. Cancer 2000; 90: 325-9.

107. Crippa S, Mazzucchelli L, Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for reporting thyroid fine-needle aspiration specimens. Am J Clin Pathol. 2010;134: 343-344; author reply 345.

108. Cross P, Chandra A, Giles T et al. Guidance on the Reporting of Thyroid Cytology Specimens. London: RCPath; 2016.

109. Cross PA, Poller D. The Bethesda thyroid terminology and progress towards international agreement on thyroid FNA cytology reporting Cytopathology 2010; 21: 71-4.

110. Cunha LL, Ferreira RC, Marcello MA et al. Clinical and pathological implications of concurrent autoimmune thyroid disorders and papillary thyroid cancer. J Thyroid Res. 2011;2011:387062, doi: 10.4061/2011/387062.

111. Cunningham MP, Duda RB, Recant W, et al. Survival discriminants for differentiated thyroid cancer. Am J Surg. 1990;160:344 –347. Lerch H, Schober O, Kuwert T, et al. Survival of differentiated thyroid carcinoma studied in 500 patients. J Clin Oncol. 1997;15:2067–2075.

112. D'Avanzo A, Treseler P, Ituarte PH et al. Follicular thyroid carcinoma: histology and prognosis. Cancer 2004; 100:1123–1129.

113. Dal Maso L, Bosetti C, La Vecchia C, Franceschi S. Risk factors for thyroid cancer: an epidemiological review focused on nutritional factors. Cancer Causes Control 2009; 20(1): 75-86.

114. Daniels GH. What if many follicular variant papillary thyroid carcinomas are not malignant? A review of follicular variant papillary thyroid carcinoma and a proposal for a new classification. Endocr Pract 2011; 17: 768-87.

115. Das DK, Al-Waheeb SK, George SS, Haji BI, Mallik MK. Contribution of immunocytochemical stainings for galectin-3, CD44, and HBME1 to fine-needle aspiration cytology diagnosis of papillary thyroid carcinoma. Diagn Cytopathol. 2014;42:498-505.

116. Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. JAMA 2006; 295(18): 2164-2167.

117. De la Chapelle A, Jazdzewski K. MicroRNAs in thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96: 3326-3336.

118. de los Santos ET, Keyhani-Rofagha S, Cunningham JJ, Mazzaferri EL. Cystic thyroid nodules. The dilemma of malignant lesions. Arch Intern Med 1990;150:1422–7.

119. de Matos LL, Del Giglio AB, Matsubayashi CO, et al. Expression of CK-19, galectin-3 and HBME-1 in the differentiation of thyroid lesions: systematic review and diagnostic meta-analysis. Diag Pathol 2012; 7: 97.

120. De Micco C, Kopp F, Vassko V, Grino M. In situ hybridization and immunohistochemistry study of thyroid peroxidase expression in thyroid tumors. Thyroid. 2000;10:109-115.

121. Dean DS, Gharib H. Epidemiology of thyroid nodules. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2008; 22: 901-11.

122. DeGroot LJ, Kaplan EL, Shukla MS et al. Morbidity and mortality in follicular thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80:2946–2953.

123. Delbridge L, Parkyn R, Philips J, et al. Minimally invasive follicular thyroid carcinoma: completion thyroidectomy or not. ANZ J Surg. 2002;72:844–845.

124. DeLellis, R.A.; Lloyd L. R., Heitz, P.U.; Eng, C. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Glands. IARC Press: Lyon, 2004.

125. Dimashkieh H, Krishnamurthy S. Ultrasound guided fine needle aspiration biopsy of parathyroid gland and lesions. Cytojournal 2006; 3: 1-7.

126. Dobashi Y, Sugimura H, Sakamoto A, et al. Stepwise participation of p53 gene mutation during dedifferentiation of human thyroid carcinomas. Diagn Mol Pathol. 1994;3(1):9–14.

127. Donghi R, Longoni A, Pilotti S et al. Gene p53 mutations are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. J Clin Invest. 1993; 91: 1753-1760.

128. Tseng FY, Hsiao YL, Chang TC. Cytologic features of metastatic papillary thyroid carcinoma in cervical lymph nodes. Acta Cytol 2002; 46:1043-1048.

129. Dwarakanathan AA, Ryan WG, Staren ED et al. Fine-needle aspiration biopsy in the thyroid. Arch Intern Med 1989;149:2007–9.

130. Dzepina D, Bedeković V, Cupić H, Kruslin B. Papillary thyroid microcarcinoma: clinical and pathological study of 321 cases. Coll Antropol. 2012 Nov;36 Suppl 2:39-45.

131. Džepina D, Zurak K, Petric V, Čupić H. Pathological characteristics and clinical perspectives of papillary thyroid cancer: study of 714 patients. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2014 Jan;271(1):141-8.

132. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. Ann Surg 2010; Oncol 17(6): 1471-1474.

133. Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A et al. Papillary carcinoma of the thyroid: A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. Cancer 1985;55:805–828.

134. Egawa C, Miyoshi Y, Iwao K et al. Quantitative analysis of estrogen receptor-α and-β messenger RNA expression in normal and malignant thyroid tissues by real-time polymerase chain reaction. Oncology 2001; 61(4): 293-298.

135. El Hag IA, Kollur SM, Chiedozi LC. The role of FNA in the initial management of thyroid lesions: 7-year experience in a district general hospital. Cytopathology 2003; 14: 126-30.

136. Elisei R, Cosci B, Romei C et al. Prognostic significance of somatic RET oncogene mutations in sporadic medullary thyroid cancer: a 10-year follow-up study. J Clin Endocrinol

137. Elisei R, Molinaro E, Agat, L et al. Are the clinical and pathological features of differentiated thyroid carcinoma really changed over the last 35 years? Study on 4187 patients from a single Italian institution to answer this question. J Clin Endocrinol Metab 2010; 95(4): 1516-1527.

138. Elisei R, Schlumberger MJ, Muller SP et al. Cabozantinib in progressive medullary thyroid cancer. J Clin Oncol 2013; 31:3639–3646

139. Elisei R, Viola D, Torregrossa L, et al. The BRAF V600E mutation is an independent, poor prognostic factor for the outcome of patients with low-risk intrathyroid papillary thyroid carcinoma: single-institution results from a large cohort study. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(12):4390-4398.

140. Eloy C, Ferreira L, Salgado C, Soares P, Sobrinho-Simões M. Poorly Differentiated and Undifferentiated Thyroid Carcinomas. Turk Patoloji Derg. 2015;31 Suppl 1:48-59.

141. Elsheikh TM, Asa SL, Chan JKC, et al. Interobserver and intraobserver variation among experts in the diagnosis of thyroid follicular lesions with borderline nuclear features of papillary carcinoma. Am J Clin Pathol 2008; 130: 736-44.

142. Enewold L, Zhu K, Ron E et al. Rising thyroid cancer incidence in the United States by demographic and tumor characteristics, 1980-2005. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009; 18: 784-791.

143. Engholm G, Ferlay J, Christensen N et al. NORDCAN-a Nordic tool for cancer information, planning, quality control and research. Acta Oncol. 2010; 49(5): 725-736.

144. Erbil Y, Salmaslioğlu A, Kabul E et al. Use of preoperative parathyroid fine-needle aspiration and parathormone assay in the primary hyperparathyroidism with concomitant thyroid nodules. Am J Surg. 2007; 193(6): 665-71.

145. Erovic BM, Kim D, Cassol C et al. Prognostic and predictive markers in medullary thyroid carcinoma. Endocr Pathol 2012; 23:232–242

146. Erşen A, Durak MG, Canda T et al. Warthin-like papillary carcinoma of the thyroid: a case series and review of the literature. Turk Patoloji Derg. 2013;29(2):150-5.

147. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer. 2006; 6: 259-269.

148. Eszlinger M, Krohn K, Frenzel R et al. Gene expression analysis reveals evidence for inactivation of the TGF-beta signaling cascade in autonomously functioning thyroid nodules. Oncogene 2004; 23: 795-804.

149. Etit D, Faquin WC, Gaz R, Randolph G, DeLellis RA, Pilch BZ. Histopathologic and clinical features of medullary microcarcinoma and C-cell hyperplasia in prophylactic thyroidectomies for medullary carcinoma: a study of 42 cases. Arch Pathol Lab Med 2008; 132: 1767- 1773.

150. Evans HL, Vassilopoulou-Sellin R. Follicular and Hurthle cell carcinomas of the thyroid: a comparative study. Am J Surg Pathol 1998;22:1512–1520.

151. Evans HL. Columnar-cell carcinoma of the thyroid. A report of two cases of an aggressive variant of thyroid carcinoma. Am J Clin Pathol. 1986;85:77–80.

152. Evans JJ, Crist HS, Durvesh S et al. A comparative study of cell cycle mediator protein expression patterns in anaplastic and papillary thyroid carcinoma. Cancer Biol Ther. 2012;13(9):776–781.

153. Ezzat S, Sarti DA, Cain DR, Braunstein GD. Thyroid incidentalomas. Prevalence by palpation and ultrasonography. Arch Intern Med. 1994; 154:1838–1840.

154. Fadda G, Basolo F, Bondi A, et al. Cytological classification of thyroid nodules. Proposal of the SIAPEC-IAP Italian consensus working group. Pathologica. 2010;102:405-408.

155. Fagin JA, Matsuo K, Karmakar A et al. High prevalence of mutations of the p53 gene in poorly differentiated human thyroid carcinomas. J Clin Invest. 1993; 91: 179-184.

156. Fagin JA, Wells SA Jr. Biologic and Clinical Perspectives on Thyroid Cancer. N Engl J Med. 2016; 375(11):1054-67.

157. Falvo L, Catania A, D'Andrea V, Marzullo A, Giustiniani MC, De Antoni E. Prognostic importance of histologic vascular invasion in papillary thyroid carcinoma. Ann Surg 2005; 241:640–6.

158. Faquin WC, Baloch ZW. Fine-needle aspiration of follicular patterned lesions of the thyroid: diagnosis, management, and follow-up according to National Cancer Institute (NCI) recommendations. Diagn Cytopathol 2010; 38: 731-9.

159. Faquin WC, Bongiovanni M, Sadow PM. Update in thyroid fine needle aspiration. Endocr Pathol 2011;22:178–183.

160. Faquin WC. Diagnosis and reporting of follicular-patterned thyroid lesions by fine needle aspiration. Head Neck Pathol 2009;3:82–5.

161. Feldt-Rasmussen U. Iodine and cancer. Thyroid 2001, 11(5): 483-486.

162. Fenton CL, Lukes Y, Nicholson D et al. The ret/PTC Mutations Are Common in Sporadic Papillary Thyroid Carcinoma of Children and Young Adults. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85(3): 1170-1175.

163. Field AS, Chen L. Fine-needle Aspiration Biopsy Cytology of thyroid: A Diagnostic Approach Based on Pattern recognition. In Practical Cytopathology: A Diagnostic Approach to Fine-needle Aspiration Biopsy, Editors Field AS and Zarka, AM, 2017 Elsevier, Inc.

164. Finley DJ, Arora N, Zhu B et al. Molecular profiling distinguishes papillary carcinoma from benign thyroid nodules. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 3214-3223.

165. Fiore E, Rago T, Provenzale M A et al. Lower levels of TSH are associated with a lower risk of papillary thyroid cancer in patients with thyroid nodular disease: thyroid autonomy may play a protective role. Endocr Relat Cancer 2009; 16(4): 1251-1260.

166. Fischer S, Asa SL. Application of immunohistochemistry to thyroid neoplasms. Arch Pathol Lab Med. 2008; 132(3):359-72.

167. Fonseca E, Soares P, Cardoso-Oliveira M, Sobrinho-Simões M. Diagnostic criteria in well-differentiated thyroid carcinomas. Endocr Pathol. 2006;17(2):109-17.

168. Frank-Raue K, Machens A, Leidig-Bruckner G et al. Prevalence and clinical spectrum of nonsecretory medullary thyroid carcinoma in a series of 839 patients with sporadic medullary thyroid carcinoma. Thyroid 2013; 23:294–300.

169. Frasoldati A, Valcavi R. Challenges in neck ultrasonography: lymphadenopathy and parathyroid glands. Endocr Pract. 2004; 10(3): 261-8.

170. Frates M, Benson C, Charboneau J et al. Management of thyroid nodules detected at US: Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference statement. Radiology 2005; 237(3): 794-800.

171. Fugazzola L, Puxeddu E, Avenia N et al. Correlation between BRAFV600E mutation and clinico-pathologic parameters in papillary thyroid carcinoma: data from a multicentric Italian study and review of the literature. Endocr Relat Cancer 2006; 13(2): 455-464.

172. Ganly I, Ricarte Filho J, Eng S et al. Genomic dissection of Hurthle cell carcinoma reveals a unique class of thyroid malignancy. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98(5): 962-972.

173. Ganly I, Wang L, Tuttle RM, et al. Invasion rather than nuclear features correlates with outcome in encapsulated follicular tumors: further evidence for the reclassification of the encapsulated papillary thyroid carcinoma follicular variant. Hum Pathol 2015.

174. Garcia-Rostan G, Sobrinho-Simxes M. Poorly differentiated thyroid carcinoma: an evolving entity. Diagn. Histopathol. 2011; 17: 114-123.

175. Garcia-Rostan G, Tallini G, Herrero A et al. Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. Cancer Res. 1999; 59: 1811-1815.

176. Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL et al. Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. J Clin Oncol. 2003; 21: 3226-3235.

177. Gardner RE, Tuttle RM, Burman KD, et al. Prognostic importance of vascular invasion in papillary thyroid carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2000; 126:309–12.

178. Gharib H, Goellner JR, Johnson DA. Fine needle aspiration cytology of the thyroid: a 12 year experience with 11,000 biopsies. Clin Lab Med 1993;13:699–709.

179. Gharib H, Goellner JR. Fine needle aspiration biopsy of the thyroid: an appraisal. Ann Intern Med 1993;118:282–9.

180. Gharib H, Papini E, Valcavi R, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and Associazione Medici Endocrinologi medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. Endocr Pract 2006; 12: 63-102.

181. Gharib H. Changing trends in thyroid practice: understanding nodular thyroid disease. Endocr Pract. 2004;10:31-39.

182. Ghofrani M, Beckman D, Rimm DL. The value of onsite adequacy assessment of thyroid fine-needle aspirations is a function of operator experience. Cancer 2006; 108: 110-3.

183. Ghossein RA, Leboeuf R, Patel KN et al. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma without extrathyroid extension: biologic behavior and clinical implications. Thyroid. 2007; 17(7):655-61.

184. Gilliland FD, Hunt WC, Morris DM, Key CR. Prognostic factors for thyroid carcinoma. A population-based study of 15,698 cases from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) program 1973-1991. Cancer 1997; 79(3): 564-573.

185. Girardi FM, Barra MB, Zettler CG. Papillary thyroid carcinoma: does the association with Hashimoto's thyroiditis affect the clinicopathological characteristics of the disease? Braz J Otorhinolaryngol. 2015; 81(3):283-7.

186. Girardi FM, Barra MB, Zettler CG. Variants of papillary thyroid carcinoma: association with histopathological prognostic factors. Braz J Otorhinolaryngol. 2013;79(6):738-44.

187. Girelli ME, Nacamulli D, Pelizzo MR et al. Medullary thyroid carcinoma: clinical features and long-term follow-up of seventy-eight patients treated between 1969 and 1986. Thyroid 1998; 8:517–523

188. Giuffrida D, Gharib H. Current diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma. Ann Oncol. 1998; 9: 695-701.

189. Goldstein RE, Netterville JL, Burkey B, Johnson JE. Implications of follicular neoplasms, atypia, and lesions suspicious for malignancy diagnosed by fine-needle aspiration of thyroid nodules. Ann Surg 2002; 235: 656-62. discussion 62-64.

190. Goodman MT, Kolonel LN, Wilkens LR. The association of body size, reproductive factors and thyroid cancer, Br. J. Cancer 1992; 66 (6): 1180–1184.

191. Granja F, Morari J, Morari EC et al. Proline homozygosity in codon 72 of p53 is a factor of susceptibility for thyroid cancer. Cancer Lett. 2004; 210: 151-157.

192. Grant CS, Hay ID, Gough IR, McCarthy PM, Goellner JR. Long-term follow-up of patients with benign thyroid fine-needle aspiration cytologic diagnoses. Surgery 1989; 106: 980-5. discussion 85-86.

193. Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT et al. PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. Cell 1990; 60: 557-563.

194. Griffith OL, Melck A, Jones SJ, Wiseman SM. Meta-analysis and meta-review of thyroid cancer gene expression profiling studies identifies important diagnostic biomarkers. J Clin Oncol 2006; 24: 5043-5051.

195. Grubbs EG, Rich TA, Li G et al. Recent advances in thyroid cancer. Curr. Probl. Surg. 2008; 45(3): 156–250.

196. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF et al. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. Nat Genet. 2009; 41: 460-464.

197. Guo X, Kleiner D, Fischette M, Merino MJ. Aggressive follicular variant of papillary carcinoma (abstract). Lab Invest 1999, 79: 67A.

198. Gupta S, Ajise O, Dultz L, et al. Follicular variant of papillary thyroid cancer: encapsulated, non-encapsulated, and diffuse: distinct biologic and clinical entities. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2012;138:227-33.

199. Gustafson S, Zbuk KM, Scacheri C, Eng C. Cowden syndrome. Semin Oncol. 2007; 34: 428-434.

200. Hallquist A, Hardell L, Degerman A, Boquist L. Thyroid cancer: reproductive factors, previous diseases, drug intake, family history and diet. A case–control study, Eur. J. Cancer Prev. 1994; 3 (6): 481-488.

201. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011; 144: 646-674.

202. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000; 100: 57-70.

203. Hapke MR, Dehner LP. The optically clear nucleus. A reliable sign of papillary carcinoma of the thyroid? Am J Surg Pathol. 1979; 3: 31-38.

204. Harach HR, Williams GT, Williams ED. Familial adenomatous polyposis associated thyroid carcinoma: a distinct type of follicular cell neoplasm. Histopathology. 1994;25(6):549-61.

205. Harach HR, Zusman SB. Cytologic findings in the follicular variant of papillary carcinoma of the thyroid. Acta Cytol 1992;36:142–6.

206. Haselkorn T, Bernstein L, Preston-Martin S et al. Descriptive epidemiology of thyroid cancer in Los Angeles County, 1972-1995. Cancer Causes Control 2000; 11(2): 163-170.

207. Haugen A, Alexander EK, Bible KC et al. The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. Thyroid 2016;26:1-133.

208. Hay ID, Bergstralh E J, Goellner J R et al. Predicting outcome in papillary thyroid carcinoma: development of a reliable prognostic scoring system in a cohort of 1779

patients surgically treated at one institution during 1940 through 1989. Surgery 1993; 114(6): 1050-1057.

209. Hegedus L. Clinical practice. The thyroid nodule. N Engl J Med. 2004; 351:1764-1771.

210. Heikkilä A, Hagström J, Mäenpää H et al. Loss of estrogen receptor Beta expression in follicular thyroid carcinoma predicts poor outcome. Thyroid 2013; 23(4): 456-465.

211. Hemminki K, Eng C, Chen B. Familial risks for nonmedullary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90(10): 5747-5753.

212. Hiltzik D, Carlson DL, Tuttle RM, et al. Poorly differentiated thyroid carcinomas defined on the basis of mitosis and necrosis: a clinicopathologic study of 58 patients. Cancer. 2006; 106:1286 –1295.

213. Hou P, Ji M, Xing M. Association of PTEN gene methylation with genetic alterations in the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway in thyroid tumors. Cancer. 2008; 113: 2440-2447.

214. Howell GM, Carty SE, Armstrong MJ, et al. Both BRAF V600E muta-tion and older age (≥ 65 years) are associated with recurrent papillary thyroid cancer. Ann Surg Oncol. 2011;18(13):3566-3571.

215. Hsiao SJ, Nikiforov YE. Molecular approaches to thyroid cancer diagnosis. Endocr Relat Cancer 2014;21:T301-T313.

216. Hsieh SH, Chen ST, Hsueh C, Chao TC, Lin JD. Gender-Specific Variation in the Prognosis of Papillary Thyroid Cancer TNM Stages II to IV. Int J Endocrinol 2012; 2012:379097.

217. Huang BY, Hseuh C, Chao TC et al. Well-differentiated thyroid carcinoma with concomitant Hashimoto's thyroiditis present with less aggressive clinical stage and low recurrence. Endocr Pathol. 2011; 22(3):144-9.

218. Huang C, Hsueh C, Liu F et al. Diagnostic and therapeutic strategies for minimally and widely invasive follicular thyroid carcinomas. Surg Oncol 2011; 20(1):1-6.

219. Hughes DT, Haymart MR, Miller BS, Gauger PG, Doherty GM. The most commonly occurring papillary thyroid cancer in the United States is now a microcarcinoma in a patient older than 45 years. Thyroid. 2011;21(3):231-6.

220. Hundahl SA, Cady B, Cunningham MP et al. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the United states during 1996. US and German Thyroid Cancer Study Group An American College of Surgeons Commission on Cancer Patient Care Evaluation study. Cancer 2000;89:202-217.

221. Huppert BJ, Reading CC. Parathyroid sonography: imaging and intervention. J Clin Ultrasound.2007; 35(3): 144-55.

222. Ito Y, Hirokawa M, Higashiyama T et al. Prognosis and prognostic factors of follicular carcinoma in Japan: importance of postoperative pathological examination. World J Surg. 2007; 31: 1417-1424.

223. Ito Y, KudoT, Kihara M et al. Prognosis of low-risk papillary thyroid carcinoma patients: its relationship with the size of primary tumors. Endocr J 2012; 59(2): 119-125.

224. Ito Y, Miyauchi A, Jikuzono T et al. Risk factors contributing to a poor prognosis of papillary thyroid carcinoma: validity of UICC/AJCC TNM classification and stage grouping. World J Surg. 2007;31(4):838-48.

225. Ito Y, Miyauchi A, Kakudo K et al. Prognostic significance of Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. World Journal of Surgery 2010; 34(12): 3015-3021.

226. Ito Y, Miyauchi A. Prognostic factors of papillary and follicular carcinomas in Japan based on data of Kuma hospital. J Thyroid Res. 2012; 2012:973497.

227. Ito Y, Yoshida H, Maruo R et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma in a Japanese population: its lack of correlation with high-risk clinicopathological features and disease-free survival of patients. Endocr J 2009; 56(1): 89-97.

228. Ivanova R, Soares P, Castro P, Sobrinho-Simoes M. Diffuse (or multinodular) follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of ten cases of an aggressive form of differentiated thyroid carcinoma. Virchows Arch. 2002; 440: 418-24.

229. Jalisi S, Ainsworth T, Lavalley M. Prognostic outcomes of tall cell variant papillary thyroid cancer: a meta-analysis. J Thyroid Res. 2010;2010: 325602.

230. Jarwani PB, Patel S. Fine-needle aspiration cytology (FNAC) of the thyroid: a cytohistologic correlation with critical evaluation of discordant cases. GCSMC J Med Sci 2013;2:5-12.

231. Jarzab B and Wiench M. Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications. Cancer Res 2005; 65: 1587-1597.

232. Jeh SK, Jung SL, Kim BS, Lee YS. Evaluating the degree of conformity of papillary carcinoma and follicular carcinoma to the reported ultrasonographic findings of malignant thyroid tumor. Korean J Radiol 2007; 8: 192-7.

233. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011;61:69-90.

234. Jing X, Michael CW, Pu RT. The clinical and diagnostic impact of using standard criteria of adequacy assessment and diagnostic terminology on thyroid nodule fine needle aspiration. Diagn Cytopathol. 2008;36:161-166.

235. Jing X, Roh MH, Knoepp SM, Zhao L, Michael CW. Minimizing the diagnosis of "follicular lesion of undetermined significance" and identifying predictive features for neoplasia. Diagn Cytopathol; 2010; doi:10.1002/dc.21459.

236. Johnson TL, Lloyd RV, Thompson NW, et al. Prognostic implications of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. Am J Surg Pathol. 1988;12:22-7.

237. Jonklaas J, Nogueras-Gonzalez G, Munsell M et al. The impact of age and gender on papillary thyroid cancer survival." J Clin Endocrinol Metab 2012; 97 (6): 878-887.

238. Kakudo K, Kameyama K, Miyauchi A, Nakamura H. Introducing the reporting system for thyroid fine-needle aspiration cytology according to the new gudielines of the Japan Thyroid Association. Endocrin J 2014;61:539–552.

239. Kang HW, No JH, Chung JH et al. Prevalence, clinical and ultrasonographic characteristics of thyroid incidentalomas. Thyroid. 2004; 14:29–33.

240. Kapur U, Wojcik EM. Follicular neoplasm of the thyroid-vanishing cytologic diagnosis? Diagn Cytopathol 2007; 35: 525-8.

241. Kashima K, Yokoyama S, Noguchi S et al. Chronic thyroiditis as a favorable prognosticfactor in papillary thyroid carcinoma. Thyroid. 1998; 8:197-202.

242. Katoh H, Yamashita K, Enomoto T, Watanabe M. Classification and General Considerations of Thyroid. Cancer. Ann Clin Pathol 2015; 3(1):1045

243. Kazaure HS, Roman SA, Sosa JA. Aggressive variants of papillary thyroid cancer: incidence, characteristics and predictors of survival among 43,738 patients. Ann Surg Oncol. 2012;19(6):1874-80.

244. Kebebew E, Greenspan FS, Clark OH et al. Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment outcome and prognostic factors. Cancer. 2005; 103: 1330-1335.

245. Kebebew E. Hereditary non-medullary thyroid cancer. World J Surg 2008;32(5): 678-682.

246. Kent WD, Hall SF, Isotalo PA et al. Increased incidence of differentiated thyroid carcinoma and detection of subclinical disease. CMAJ 2007; 177(11): 1357-1361.

247. Kesmodel SB, Terhune KP, Canter RJ et al. The diagnostic dilemma of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Surgery 2003;134:1005-12.

248. Keutgen XM, Filicori F, Crowley MJ, et al. A panel of four miRNAs accurately differentiates malignant from benign indeterminate thyroid lesions on fine needle aspiration. Clin Cancer Res 2012;18(7):2032-2038.

249. Khanafshar E, Lloyd RV. The spectrum of papillary thyroid carcinoma variants. Adv Anat Pathol. 2011 Jan;18(1):90-7. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182026da6.

250. Kim HJ, Lee JI, Kim NK et al. Prognostic Implications of Radioiodine Avidity and Serum Thyroglobulin in Differentiated Thyroid Carcinoma with Distant Metastasis. World J Surg 2013; 37(12): 2845-2852.

251. Kim SK, Woo JW, Lee JH et al. Chronic lymphocytic thyroiditis and BRAF V600E in papillary thyroid carcinoma. Endocr Relat Cancer 2016; 23(1):27-34.

252. Kim TH, Park YJ, Lim JA, et al. The association of the BRAF(V600E) mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: a meta-analysis. Cancer 2012;118(7):1764-1773.

253. Kimura S, Hara Y, Pineau T, et al. The T/ebp null mouse: thyroidspecific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. Genes Dev 1996; 10: 60-9.

254. Kinder BK. Well differentiated thyroid cancer. Curr Opin Oncol 2003; 15(1):71-77.

255. Kitahara CM, Platz EA, Freeman LE et al. Obesity and thyroid cancer risk among U.S. men and women: a pooled analysis of five prospective studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2013, 20(3): 464-472.

256. Kloos R T, Eng C, Evans DB et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. Thyroid 2009; 19(6): 565-612.

257. Knauf JA, Fagin A. Role of MAPK pathway oncoproteins in thyroid cancer pathogenesis and as drug targets. Curr Opin Cell Biol 2009; 21(2): 296-303.

258. Kocjan G, Chandra A, Cross PA et al. The interobserver reproducibility of thyroid fine-needle aspiration using the UK Royal College of Pathologists' classification system. Am J Clin Pathol 2011;135:852-859.

259. Kocjan G, Cochand-Priollet B, de Agustin PP, et al. Diagnostic terminology for reporting thyroid fine needle aspiration cytology:European Federation of Cytology Societies thyroid working party symposium, Lisbon 2009. Cytopathology 2010; 21: 86-92.

260. Koo JS, Hong S, Park CS. Diffuse sclerosing variant is a major subtype of papillary thyroid carcinoma in the young. Thyroid. 2009;19:1225-31.

261. Krauss EA, Mahon M, Fede JM, Zhang L. Application of the Bethesda Classification for Thyroid Fine-Needle Aspiration: Institutional Experience and Meta-analysis. Arch Pathol Lab Med. 2016 Oct; 140(10):1121-31.

262. Kumar SK, Seetharamaiah T, Rampure D et al. Thyroid Nodule: cytohistological Correlation.Scholar J Appl Med Sci 2013;1:745–7.

263. Kus, LH, Shah M, Eski S et al. Thyroid cancer outcomes in Filipino patients. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2010; 136(2): 138-142.

264. Kushchayeva Y, Duh QY, Kebebew E et al. Comparison of clinical characteristics at diagnosis and during follow-up in 118 patients with Hurthle cell or follicular thyroid cancer. Am J Surgery 2008; 195 (4):457–462.

265. La Vecchia C, Ron E, Franceschi S et al. A pooled analysis of case–control studies of thyroid cancer. III: oral contraceptives, menopausal replacement therapy and other female hormones, Cancer Causes Control 1999; 10 (2): 157–166.

266. Leenhardt L, Bernier MO, Boin-Pineau MH et al. Advances in diagnostic practices affect thyroid cancer incidence in France. Eur J Endocrinol 2004;150:133-9.

267. Lam AK, Lo CY, Lam KS. Papillary carcinoma of thyroid: a 30-years clinicopathological review of the histological variants. Endocr Pathol 2005;16:323-30.

268. Lam KY, Lo CY, Chan KW, Wan KY. Insular and anaplastic carcinoma of the thyroid: a 45-year comparative study at a single institution and a review of the significance of p53 and p21. Ann Surg. 2000;231(3):329-338.

269. Landa I, Ganly I, Chan TA, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98(9): E1562-6.

270. Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. Am J Surg Pathol 2011; 35: 816-26.

271. Layfield LJ, Elsheikh TM, Fili A, Nayar R, Shidham V. Review of the state of the art and recommendations of the Papanicolaou Society of Cytopathology for urinary cytology procedures and reporting: the Papanicolaou Society of Cytopathology Practice Guidelines Task Force. Diagn Cytopathol 2004; 30: 24-30.

272. Layfield LJ, Morton MJ, Cramer HM, Hirschowitz S. Implications of the proposed thyroid fine-needle aspiration category of "follicular lesion of undetermined significance": a five-year multi-institutional analysis. Diagn Cytopathol 2009;37:710-714.

273. Lee SM, Kwak KH. Risk factors and a predictive model for thyroid cancer in Korean women, Cancer Nurs. 2010; 33 (4):310–319.

274. Lee YS, Lim H, Chang H, Park CS. Papillary Thyroid Microcarcinomas Are Different from Latent Papillary Thyroid Carcinomas at Autopsy. J Korean Med Sci 2014; 29(5): 676-679.

275. Leung AK., Chow S, Law SC. Clinical features and outcome of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. Laryngoscope 2008; 118(1): 32-38.

276. Lew JI, Snyder RA, Sanchez YM, et al. Fine needle aspiration of the thyroid: correlation with final histopathology in a surgical series of 797 patients. J Am Coll Surg. 2011;213: 188–194; discussion 194–195.

277. Lewis CM, Chang KP, Pitman M, Faquin WC, Randolph GW. Thyroid fine-needle aspiration biopsy: variability in reporting. Thyroid 2009; 19: 717-23.

278. Libutti SK. Understanding the role of gender in the incidence of thyroid cancer. Cancer J. 2005; 11(2), 104–105.

279. Lino-Silva LS, Domínguez-Malagón HR, Caro-Sánchez CH, Salcedo-Hernández RA. Thyroid gland papillary carcinomas with "micropapillary pattern," a recently recognized poor prognostic finding: clinicopathologic and survival analysis of 7 cases. Hum Pathol. 2012;43:1596–1600.

280. Liu H, Lin F. Application of immunohistochemistry in thyroid pathology. Arch Pathol Lab Med. 2015; 139(1):67-82.

281. Liu J, Singh B, Tallini G, Carlson DL et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma. A clinicopathologic study of a problematic entity. Cancer. 2006;107(6):1256-64.

282. Tseng FY, Hsiao YL, Chang TC. Cytologic features of metastatic papillary thyroid carcinoma in cervical lymph nodes. Acta Cytol. 2002;46(6):1043-8.

283. Liu Z, Hou P, Ji M et al. Highly prevalent genetic alterations in receptor tyrosine kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/akt and mitogen-activated protein kinase pathways in anaplastic and follicular thyroid cancers. J Clin Endocrinol Metab. 2008; 93: 3106-3116.

284. Liu X, Bishop J, Shan Y, et al. Highly prevalent TERT promoter mutations in aggressive thyroid cancers. Endocr Relat Cancer 2013; 20: 603-10.

285. LiVolsi VA, Asa SL. The demise of follicular carcinoma of the thyroid gland. Thyroid. 1994; 4: 233-236.

286. LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. Mod Pathol. 2011 Apr;24 Suppl 2:S1-9. doi: 10.1038/modpathol.2010.129.

287. LiVolsi VA. Surgical pathology of the thyroid. Major problems in pathology, 1990, vol 22. W. B. Saunders Company, Philadelphia

288. Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary thyroid carcinoma variants. Head Neck Pathol. 2011 Mar;5(1):51-6.

289. Lloyd RV, Erickson LA, Casey MB, et al. Observer variation in the diagnosis of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Am J Surg Pathol. 2004; 28:1336–40.

290. Lo CY, Chan WF, Lam KY, Wan KY. Follicular thyroid carcinoma: the role of histology and staging systems in predicting survival. Ann Surg. 2005;242(5):708-15.

291. Lobo C, McQueen A, Beale T, Kocjan G. The UK royal college of pathologists thyroid fine-needle aspiration diagnostic classification is a robust tool for the clinical management of abnormal thyroid nodules. Acta Cytol 2011;55:499–506.

292. Loh KC, Greenspan FS, Gee L, et al. Pathological tumor-node-metastasis (pTNM) staging for papillary and follicular thyroid carcinomas: a retrospective analysis of 700 patients. J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82:3553–3562.

293. Lopez-Penabad L, Chiu AC, Hoff AO et al. Prognostic factors in patients with Hürthle cell neoplasms of the thyroid. Cancer. 2003; 97: 1186-1194.

294. Lubitz CC, Economopoulos KP, Pawlak AC et al. Hobnail variant of papillary thyroid carcinoma: an institutional case series and molecular profile. Thyroid. 2014;24(6):958-65.

295. Lubitz CC, Gallagher LA, Finley DJ et al. Molecular analysis of minimally invasive follicular carcinomas by gene profiling. Surgery 138: 1042-1048, 2005.

296. Lubitz CC, Ugras SK, Kazam JJ et al. Microarray analysis of thyroid nodule fine-needle aspirates accurately classifies benign and malignant lesions. J Mol Diagn 2006; 8: 490-498.

297. Lundgren CI, Zedenius J, Skoog L. Fine-needle aspiration biopsy of benign thyroid nodules: an evidence-based review. World J Surg 2008; 32: 1247-52.

298. Lupoli R, Cacciapuoti M, Tortora A, Barba L, Verde N, Romano F, Vastarella M, Fonderico F, Masone S, Milone M, Lupoli G, Lupoli GA. Clinical outcome in differentiated thyroid carcinoma and microcarcinoma. Int J Surg. 2014;12 Suppl 1:S148-51.

299. Machens A, Holzhausen H, Lautenschlager C et al. Enhancement of lymph node metastasis and distant metastasis of thyroid carcinoma: a multivariate analysis of clinical risk factors. Cancer 2003; 98(4):712–719.

300. Machens A, Holzhausen HJ, Lautenschläger C, Dralle H.The tallcell variant of papillary thyroid carcinoma: a multivariate analysis of clinical risk factors. Langenbecks Arch Surg. 2004; 389:278-82.

301. Machens, SH, Dralle H. Disparities between male and female patients with thyroid cancers: sex difference or gender divide? Clin Endocrinol, 2006; 65 (4):500–505.

302. Mai KT, Bokhary R, Yazdi HM, et al. Reduced HBME-1 immunoreactivity of papillary thyroid carcinoma and papillary thyroid carcinoma-related neoplastic lesions with Hurthle cell and/or apocrine-like changes. Histopathology 2002; 40:133-42.

303. Marchevsky AM, Walts AE, Bose S, et al. Evidence-based evaluation of the risks of malignancy predicted by thyroid fine-needle aspiration biopsies. Diagn Cytopathol. 2010;38:252–259.

304. Máximo V, Botelho T, Capela J et al. Somatic and germline mutation in GRIM-19, a dual function gene involved in mitochondrial metabolism and cell death, is linked to mitochondrion-rich (Hurthle cell) tumours of the thyroid. Br J Cancer. 2005; 92: 1892-1898.

305. Maximo V, Soares P, Sobrinho Simoes M. Mitochondria and cancer. Virchows Arch 2009;454:481–495.

306. Maximo V, Sobrinho-Simoes M. Hurthle cell tumours of the thyroid. A review with emphasis on mitochondrial abnormalities with clinical relevance. Virchows Arch 2000;437:107-115.

307. Mazeh H, Levy Y, Mizrahi I, et al. Differentiating benign from malig-nant thyroid nodules using micro ribonucleic acid amplification in residual cells obtained by fine needle aspiration biopsy. J Surg Res. 2013;180(2): 216-221.

308. Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. Am J Med 1994; 97(5): 418-428.

309. Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. N Engl J Med 1993;328:553–9.

310. Meier CA. Thyroid nodules: pathogenesis, diagnosis and treatment. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2000; 14: 559-75.

311. Mete O, Asa SL. Pathological definition and clinical significance of vascular invasion in thyroid carcinomas of follicular epithelial derivation. Mod Pathol. 2011; 24(12):1545-52.

312. Michels JJ, Jacques M,Henry-Amar M,Bardet S. Prevalence and prognostic significance of tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. Hum Pathol.2007;38(2):212-9.

313. Mihailovic J, Stefanovic L, Malesevic M, Markoski B. The importance of age over radioiodine avidity as a prognostic factor in differentiated thyroid carcinoma with distant metastases. Thyroid 2009; 19(3): 227-232.

314. Miller B, Burkey S, Lindberg G et al. Prevalence of malignancy within cytologically indeterminate thyroid nodules. Am J Surg 2004; 188: 459-62.

315. Mistry SG, Mani N, Murthy P. Investigating the value of fine needle aspiration cytology in thyroid cancer. J Cytol 2011;28:185–90.

316. Mizukami Y, Nonomura A, Michigishi T et al. Columnar-cell carcinoma of the thyroid gland a case report and review of the literature. Hum Pathol. 1994;25:1098-101.

317. Moo-Young TA, Traugott AL, Moley JF. Sporadic and familial medullary thyroid carcinoma: state of the art. Surg Clin North Am 2009; 89(5): 1193-1204.

318. Morari EC, Leite JL, Granja F et al. The null genotype of glutathione s-transferase M1 and T1 locus increases the risk for thyroid cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2002; 11: 1485-1488.

319. Musholt PB, Musholt TJ, Morgenstern SC et al. Follicular histotypes of oncocytic thyroid carcinomas do not carry mutations of the BRAF hot-spot. World J Surg. 2008; 32: 722-728.

320. Na J-I, Kim J-H, Kim H-J, et al. VE1 immunohistochemical detection of the BRAF V600E mutation in thyroid carcinoma: a review of its usefulness and limitations. Virchows Arch Int J Pathol 2015; 467: 155-68.

321. Na KY, Kim HS, Sung JY et al. Papillary carcinoma of the thyroid gland with nodular fasciitis-like stroma. Korean J Pathol. 2013; 47: 167-171.

322. Nagar S, Aschebrook-Kilfoy B, Kaplan EL et al. Hurthle cell carcinoma: an update on survival over the last 35 years. Surgery 2013; 154:1263–1271.

323. Nardi F, Basolo F, Crescenzi A et al. Italian consensus for the classification and reporting of thyroid cytology. J Endocrinol Invest 2014;37:593–599.

324. Nasr MR, Mukhopadhyay S, Zhang S, Katzenstein AL. Immunohistochemical markers in diagnosis of papillary thyroid carcinoma: Utility of HBME1 combined with CK19 immunostaining. Mod Pathol. 2006 Dec;19(12):1631-7.

325. Nayar R, Ivanovic M. The indeterminate thyroid fine-needle aspiration: experience from an academic center using terminology similar to that proposed in the

2007 National Cancer Institute Thyroid Fine Needle Aspiration State of the Science Conference. Cancer. 2009;117:195–202.

326. Nguyen GK, Ginsberg J, Crockford PM. Fine-needle aspiration biopsy cytology of the thyroid. Its value and limitations in the diagnosis and management of solitary thyroid nodules. Pathol Annu 1991; 26(Pt 1):63-91.

327. Nikiforov Y, Gnepp DR, Fagin JA. Thyroid lesions in children and adolescents after the Chernobyl disaster: implications for the study of radiation tumorigenesis. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81: 9-14.

328. Nikiforov Y, Gnepp DR. Pediatric thyroid cancer after the Chernobyl disaster. Pathomorphologic study of 84 cases (1991-1992) from the Republic of Belarus. Cancer 1994; 74: 748-766.

329. Nikiforov YE, Erickson LA, Nikiforova MN, Caudill CM, Lloyd RV. Solid variant of papillary thyroid carcinoma: incidence, clinical-pathologic characteristics, molecular analysis, and biologic behavior. Am J Surg Pathol. 2001; 25: 1478-1484.

330. Nikiforov YE, Ohori NP. Papillary carcinoma. In: Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LDR editors. Diagnostic pathology and molecular genetics of the thyroid: A comprehensive guide for practicing thyroid pathology. 2nd edition. Philadelphia: Wolter Kluver /Lippincott Williams &Wilkins; 2012. 183-246.

331. Nikiforov YE, Seethala RR, Tallini G, et al. Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors. JAMA Oncol. 2016;2(8):1023-9.

332. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, et al. Molecular test-ing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. J Clin Endocrinol Metab. 2009; 94(6):2092-2098.

333. Nikiforov YE. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors. Endocrin Pathol 2002; 13(1): 3-16.

334. Nikiforov, YE. Radiation-induced thyroid cancer: what we have learned from Chernobyl. Endocrin Pathol 2006; 17(4): 307-318.

335. Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, et al. Targeted next-generation se-quencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations in thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(11):E1852-E1860.

336. Nikiforova, MN, Kimura E T, Gandhi M et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(11): 5399-5404.

337. Nikolova DN, Zembutsu H, Sechanov T et al. Genome-wide gene expression profiles of thyroid carcinoma: Identification of molecular targets for treatment of thyroid carcinoma. Oncol Rep. 2008l; 20(1):105-21.

338. Nishida T, Katayama S, Tsujimoto M. The clinicopathological significance of histologic vascular invasion in differentiated thyroid carcinoma." Am J Surg 2002; 183(1): 80-86.

339. Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, et al. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (FoxE1) in thyroid epithelial neoplasms. Mod Pathol 2008; 21: 192-200.

340. Nosé V. Familial thyroid cancer: a review. Mod Pathol 2011; 24(1): 19-33.

341. O'Neill CJ, Vaughan L, Learoyd DL et al. Management of follicular thyroid carcinoma should be individualised based on degree of capsular and vascular invasion. Eur J Surg Oncol 2011; 37: 181–185.

342. Ustun M, Risberg B, Davidson B, Berner A. Cystic Change in metastatic lymph Nodes: A common diagnostic pitfall in Fine-Needle Aspiration Cytology. Diagn Cytopathol 2002; 27: 387-392.

343. Oertel YC. Fine-needle aspiration of the thyroid: technique and terminology. Endocrinol Metab Clin North Am 2007; 36: 737-51. vievii.

344. Ohori NP, Nikiforova MN, Schoedel KE, et al. Contribution of molecular testing to thyroid fine-needle aspiration cytology of "follicular lesion of undeter-mined significance/atypia of undetermined significance". Cancer Cytopathol. 2010;118(1):17-23.

345. Omry-Orbach G. Risk Stratification in Differentiated Thyroid Cancer: An Ongoing Process. Rambam Maimonides Med J. 2016 28;7(1).

346. Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2012; 20: 429e44.

347. Ozata M, Aksu A, Narin Y et al. The Relationship Between Lymphocytic Infiltration in the Thyroid Gland and Tumor Recurrence in Papillary Thyroid Carcinoma. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism, 1999; 3 : 113-117

348. Ozdemir D, Ersoy R, Cuhaci N, Arpaci D, Ersoy EP, Korukluoglu B, Guler G, Cakir B. Classical and follicular variant papillary thyroid carcinoma: comparison of clinical, ultrasonographical, cytological, and histopathological features in 444 patients. Endocr Pathol. 2011;22(2):58-65.

349. Pacini F, Castagna MG, Brilli L et al. Thyroid cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2010; 21(Suppl 5): 214-219.

350. Pacini F, Schlumberger M., Dralle H et al. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. Eur J Endocrinol 2006; 154(6): 787-803.

351. Paliogiannis P, Attene F, Trogu F, Trignano M. Warthin-like papillary carcinoma of the thyroid gland: case report and review of the literature. Case Rep Oncol Med. 2012; Article ID 689291.

352. Pandey P, Dixit A, Mahajan NC. Fine-needle aspiration of the thyroid: a cytohistologic correlation with critical evaluation of discordant cases. Thyroid Res Pract 2012;9:32-9.

353. Pasieka JL. Anaplastic thyroid cancer. Curr Opin Oncol 2003; 15(1): 78-83.

354. Patel KN, Shaha AR. Poorly differentiated thyroid cancer. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2014; 22(2): 121-126.

355. Pazaitou- Panayiotou K, Polyzos S, Mantzoros C. Obesity and thyroid cancer: epidemiologic associations and underlying mechanisms. Obesity Reviews 2013; 14(12): 1006-1022.

356. Piana S, Frasoldati A, Ferrari M, et al. Is a five-category reporting scheme for thyroid fine needle aspiration cytology accurate? Experience of over 18,000 FNAs reported at the same institution during 1998-2007. Cytopathology. 2011;22:164–173.

357. Piersanti M, Ezzat S, Asa SL. Controversies in papillary microcarcinoma of the thyroid. Endocr Pathol. 2003; 14(3):183-91.

358. Pillai S, Gopalan V, Smith RA, AKY Lam. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma—an update of its clinicopathological features and molecular biology. Cri Rev Oncol Hematol. 2015;94:64–73.

359. Pilotti S, Collini P, Del Bo R et al. A novel panel of antibodies that segregates immunocytochemically poorly differentiated carcinoma from undifferentiated carcinoma of the thyroid gland. Am J Surg Pathol. 1994;18(10):1054–1064.

360. Pilotti S, Collini P, Mariani L et al. Insular carcinoma: a distinct de novo entity among follicular carcinomas of the thyroid gland. Am. J. Surg. Pathol.1997; 21:1466-1473.

361. Placzkowski KA, Reddi HV, Grebe SK et al. The Role of the PAX8/PPARgamma Fusion Oncogene in Thyroid Cancer. PPAR Res 2008; 2008: 672829.

362. Poller DN, Baloch ZW, Fadda G, Johnson SJ, Bongiovanni M, Pontecorvi A, Cochand-Priollet B. Thyroid FNA: New classifications and new interpretations. Cancer Cytopathol. 2016;124(7):457-66.

363. Popadich A, Levin O, Lee JC et al. A multicenter cohort study of total thyroidectomy and routine central lymph node dissection for cN0 papillary thyroid cancer. Surgery 201; 150(6): 1048-1057.

364. Pusztaszeri MP, Bongiovanni M, Faquin WC. Update on the cytologic and molecular features of medullary thyroid carcinoma. Adv Anat Pathol. 2014;21(1):26-35.

365. Rabes HM, Demidchik EP, Sidorow JD et al. Pattern of radiation-induced RET and NTRK1 rearrangements in 191 post-chernobyl papillary thyroid carcinomas: biological, phenotypic, and clinical implications. Clin Cancer Res 2000; 6: 1093-1103.

366. Rago T, Fiore E, Scutari M et al. Male sex, single nodularity, and young age are associated with the risk of finding a papillary thyroid cancer on fine-needle aspiration cytology in a large series of patients with nodular thyroid disease. Eur J Endocrinol. 2010; 162:763–770.

367. Rago T, Vitti P. Role of thyroid ultrasound in the diagnostic evaluation of thyroid nodules. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2008; 22:913-28.

368. Randolph GW, Duh QY, Heller KS, et al. The prognostic significance of nodal metastases from papillary thyroid carcinoma can be stratified based on the size and

number of metastatic lymph nodes, as well as the presence of extranodal extension. Thyroid 2012;22:1144-52.

369. Ravetto C, Colombo L, Dottorini ME. Usefulness of fine-needle aspiration in the diagnosis of thyroid carcinoma: a retrospective study in 37,895 patients. Cancer 2000; 90: 357-63.

370. Redman R, Yoder BJ, Massoll NA. Perceptions of diagnostic terminology and cytopathologic reporting of fine-needle aspiration biopsies of thyroid nodules: a survey of clinicians and pathologists. Thyroid 2006; 16: 1003-8.

371. Renshaw AA. Should "atypical follicular cells" in thyroid fine-needle aspirates be subclassified? Cancer Cytopathol 2010; 118: 186-9.

372. Reynolds RM., Weir J, Stockton DL et al. Changing trends in incidence and mortality of thyroid cancer in Scotland. Clin Endocrinol (Oxf) 2005, 62(2): 156-162.

373. Ricarte-Filho J, Ganly I, Rivera M et al. Papillary thyroid carcinomas with cervical lymph node metastases can be stratified into clinically relevant prognostic categories using oncogenic BRAF, the number of nodal metastases, and extranodal extension. Thyroid 2012; 22 (6):575–584.

374. Ridgway CE. Clinical review 30: clinician's evaluation of a solitary thyroid nodule. J Clin Endocrinol Metab 1992;74:231-5.

375. Rivera M, Ricarte-Filho J, Knauf J, et al. Molecular genotyping of papillary thyroid carcinoma follicular variant according to its histological subtypes (encapsulated vs infiltrative) reveals distinct BRAF and RAS mutation patterns. Mod Pathol 2010; 23: 1191-200.

376. Rocha AS, Soares P, Fonseca E, et al. E-cadherin loss rather than beta-catenin alterations is a common feature of poorly differentiated thyroid carcinomas. Histopathology. 2003;42:580-587.

377. Romei C, Ciampi R, Elisei R. A comprehensive overview of the role of the RET proto-oncogene in thyroid carcinoma. Nat Rev Endocrinol 2016;12:192–202.

378. Ron E, Lubin JH, Shore RE et al. Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies. Radiat Res 1995; 141(3): 259-277.

379. Rosai J, Carcangiu ML, DeLellis RA. Tumors of the thyroid gland. In: Atlas of tumor pathology, 3rd series, vol 5. AFIP, Washington, DC, 1992.

380. Rosai J, LiVolsi VA, Sobrinho-Simoes M, Williams ED. Renaming papillary microcarcinoma of the thyroid gland: the Porto proposal. Int J Surg Pathol. 2003;11(4):249-51.

381. Rosai J, Tallini G. Thyroid gland. In: Rosai J editor. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 10th ed. New York: Mosby Elsevier 2011:487-564.

382. Ross DS. Nonpalpable thyroid nodules managing an epidemic. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87: 1938-1940.

383. Rossi ED, Bizzarro T, Martini M, Larocca LM, Schmitt F, Vielh P. Cytopathology of Follicular Cell Nodules. Adv Anat Pathol. 2017; 24(1):45-55.

384. Rossi ED, Pusztaszeri M, Schmi F et al. Thyroid FNA: international perspectives from the European Congress of Cytopathology-can we cross the bridge of classifications? Cancer Cytopathol 2015; 123:207-211.

385. Roti E, degli Uberti EC, Bondanelli M, Braverman LE. Thyroid papillary microcarcinoma: a descriptive and meta-analysis study. Eur J Endocrinol. 2008;159(6):659-73.

386. Royal College of Pathologists of Australia. Thyroid Cytology Structured Reporting Protocol. Sydney: RCPA; 2014.

387. Royal College of Physician, British Thyroid Association. Guidelines for the management of thyroid cancer ne. Report of the thyroid cancer guidelines update group. London: RCP. Available at: http://www.rcplondon.ac.uk/ pubs/contents/5e0be7d7-0726-48af-a510-5cc5b9ec574d.pdf; 2007.

388. Sak SD. Variants of Papillary Thyroid Carcinoma: Multiple Faces of a Familiar Tumor. Turk Patoloji Derg. 2015;31 Suppl 1:34-47.

389. Sangalli G, Serio G, Zampatti C et al. Fine needle aspiration cytology of the thyroid: a comparison of 5469 cytological and final histological diagnoses. Cytopathology 2006;17:245-50.

390. Santoro M, Dathan NA, Berlingieri MT et al. Molecular characterization of RET/PTC3; a novel rearranged version of the RET proto-oncogene in a human thyroid papillary carcinoma. Oncogene 1994; 9: 509-516.

391. Schmid KW, Ensinger C. "Atypical" medullary thyroid carcinoma with little or no calcitonin expression. Virchows Arch 1998; 433:209–215

392. Schmid KW. Histopathology of C Cells and Medullary Thyroid Carcinoma. Recent Results Cancer Res. 2015; 204:41-60.

393. Schonfeld SJ, Ron E, Kitahara CM et al. Hormonal and reproductive factors and risk of postmenopausal thyroid cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. Cancer Epidemiol. 2011; 35 (6): 85–90.

394. Schröder S, Böcker W. Clear-cell carcinomas of thyroid gland: a clinicopathological study of 13 cases. Histopathology 1986; 10(1):75-89.

395. Shaha AR. TNM classification of thyroid carcinoma. World J Surg. 2007; 5:879-87.

396. Shaha AR1, Loree TR, Shah JP. Prognostic factors and risk group analysis in follicular carcinoma of the thyroid. Surgery. 1995; 118: 1131-1136.

397. Sharma C, Krishnanand G. Histologic analysis and comparison of techniques in fine needle aspiration-induced alterations in thyroid. Acta Cytol 2008;52:56-64.

398. Sharma C. Analyzing the 'gray zone' in follicular lesions of thyroid. J Evol Med Dent Sci 2015;4:6911-9.

399. Sharma C. Diagnostic accuracy of fine needle aspiration cytology of thyroid and evaluation of discordant cases. J Egyptian National Cancer Institute 2015; 27:147-153.

400. Shen R, Liyanarachchi S, Li W, et al. MicroRNA signature in thyroid fine needle aspiration cytology applied to "atypia of undetermined significance" cases. Thyroid. 2012;22(1):9-16.

401. Shen WT, Ogawa L, Ruan D et al. Central neck lymph node dissection for papillary thyroid cancer: comparison of complication and recurrence rates in 295 initial dissections and reoperations." Arch Surg 2010; 145(3): 272-275.

402. Sherman SI. Thyroid carcinoma. Lancet. 2003; 361: 501-511.

403. Shi X, Liu R, Basolo F, Giannini et al. Differential Clinicopathological Risk and Prognosis of Major Papillary Thyroid Cancer Variants. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(1):264-74.

404. Shi Y, Ding X, Klein M et al. Thyroid fine-needle aspiration with atypia of undetermined significance: a necessary or optional category? Cancer 2009;117:298-304.

405. Shih SR, Shun CT, Su DH et al. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma: diagnostic limitations of fine needle aspiration cytology. Acta Cytol 2005;49:383–6.

406. SIAPEC-IAP. Gdl. Consenso italiano sulla gestione clinica del paziente con patologia nodulare tiroidea. Available at: http://www.citologia.novilab.it/ docs/NoduloTiroideo-Citologia.pdf, 2007

407. Sidawy MK, Del Vecchio DM, Knoll SM. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: correlation between cytology and histology and evaluation of discrepant cases. Cancer 1997;81:253-9.

408. Silverman JF, West RL, Larkin EW et al. The role of fine needle aspiration biopsy in the rapid diagnosis and management of thyroid neoplasm. Cancer 1986;57:1164-70.

409. Simpson WJ, McKinney SE, Carruthers JS, et al. Papillary and follicular thyroid cancer: prognostic factors in 1578 patients. Am J Med. 1987;83: 479-488.

410. Sinna EA, Ezzat N. Diagnostic accuracy of fine needle aspiration cytology in thyroid lesions. J Egypt Natl Cancer Inst 2012;24:63-70.

411. Sippel RS, Kunnimalaiyaan M, Chen H. Current management of medullary thyroid cancer. The Oncologist 2008;13: 539-547.

412. Siraj AK, Bavi P, Abubaker J et al. Genome-wide expression analysis of Middle Eastern papillary thyroid cancer reveals c-MET as a novel target for cancer therapy. J Pathol 2007; 213: 190-199.

413. Smeds S, Lennquist S. The role of aspiration cytology in the management of thyroid nodules. Eur J Cancer Clin Oncol 1988;24(2):293-7.

414. Smith-Bindman R, Lebda P, Feldstein V A et al. Risk of thyroid cancer based on thyroid ultrasound imaging characteristics: results of a population-based study. JAMA internal medicine 013; 173(19): 1788-1795.

415. Soares J, Limbert E, Sobrinho-Simoes M. Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma: A clinicopathologic study of 10 cases. Path Res Pract. 1989. 185:200-6.

416. Soares P, Lima J, Preto A et al. Genetic alterations in poorly differentiated and undifferentiated thyroid carcinomas. Curr Genomics. 2011;12(8):609-17.

417. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. (eds) TNM Classification of Malignant Tumours, 2010; 7th edn, John Wiley & Sons, Chichester, West Sussex, UK.

418. Sobrinho-Simões M, Eloy C, Magalhães J, Lobo C, Amaro T. Follicular thyroid carcinoma. Mod Pathol. 2011;24 Suppl 2:S10-8.

419. Sobrinho-Simoes M, Nesland JM, Johannessen JV. Columnar-cell carcinoma. Another variant of poorly differentiated carcinoma of the thyroid. Am J ClinPathol. 1988;89:264-7.

420. Sobrinho-Simoes M, Sambade C, Fonseca E, Soares, P. Poorly differentiated carcinomas of the thyroid gland: a review of the clinicopathologic features of a series of 28 cases of a heterogeneous, clinically aggressive group of thyroid tumors. Int. J. Surg. Pathol. 2002; 10: 123-131.

421. Sobrinho-Simões M, Soares J, Carneiro F, Limbert E. Diffuse follicular variant of papillary carcinoma of the thyroid report of eight cases of a distinct aggressive type of thyroid tumor. Surg Pathol 1990; 3:189-203.

422. Sofiadis A, Tani E, Foukakis T et al. Diagnostic and prognostic potential of MIB-1 proliferation index in thyroid fine needle aspiration biopsy. Intern J Oncol 2009; 35(2): 369–374.

423. Solbiati L, Osti V, Cova L, Tonolini M. Ultrasound of thyroid, parathyroid glands and neck lymph nodes. Eur Radiol 2001; 11: 2411-24.

424. Solymosi T, Lukacs Toth G, Nagy D, Gal I. Twenty years of experience with the operative diagnosis of medullary cancer in a moderately iodine-deficient region. Int J Endocrinol. 2013; 2013:571606.

425. Somma J, Schlecht NF, Fink D et al. Thyroid fine needle aspiration cytology: follicular lesions and the gray zone. Acta Cytol 2010;54:123–31.

426. Stojadinovic A, Ghossein RA, Hoos A et al. Hürthle cell carcinoma: a critical histopathologic appraisal. J Clin Oncol. 2001; 19: 2616-2625.

427. Straccia P, Rossi ED, Bizzarro T, Brunelli C, Cianfrini F, Damiani D1, Fadda G. A meta-analytic review of the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: Has the rate of malignancy in indeterminate lesions been underestimated? Cancer Cytopathol. 2015;123(12):713-22.

428. Suen KC, Abdul-Karim FW, Kaninsky DB, et al. Guidelines of the Papanicoloau Society of Cytopathology for the examination of Fine needle aspiration specimens from thyroid nodules. Mod Pathol 1996; 9: 710–715.

429. Sugino K, Ito K, Mimura T et al. K. Hürthle cell tumor of the thyroid: analysis of 188 cases. World J Surg. 2001; 25: 1160-1163.

430. Sugitani I, Hasegawa Y, Sugasawa M, Tori M, Higashiyama T, Miyazaki M, et al. Super-radical surgery for anaplastic thyroid carcinoma: a large cohort study using the Anaplastic Thyroid Carcinoma Research Consortium of Japan database. Head Neck. 2014; 36: 328-333.

431. Suster S. Thyroid tumors with a follicular growth pattern, problems in differential diagnosis. Arch Pathol Lab Med. 2006;130:984-8.

432. Synoracki S, Schmid ST, Ting S, Schmid KW. Thyroid C cells and their pathology. Part 2: Medullary thyroid carcinoma. Pathologe 2015; 36:254–260

433. Tacha D, Zhou D, Cheng L. Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2011; 19: 293-9.

434. Tahlan A, Dey P. Nuclear grooves. How specific are they? Acta Cytol 2001;45:48-50.

435. Tan GH, Gharib H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. Ann Intern Med. 1997; 126:226–231.

436. Terayama K, Toda S, Yonemitsu N. Papillary carcinoma of the thyroid with exuberant nodular fasciitis-like stroma. Virchows Arch.1997;431:291-5.

437. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. Cell. 2014; 159(3):676-690.

438. The Papanicolaou Society of Cytopathology Task Force on Standards of Practice. Guidelines of the Papanicolaou Society of Cytopathology for the examination of fine-needle aspiration specimens from thyroid nodules. Diagn Cytopathol 1996; 15: 84-9.

439. Thompson LDR, Wieneke JA, Paal E, et al. A clinicopathologic study of minimally invasive follicular carcinoma of the thyroid gland with a review of the English literature. Cancer. 2001;91:505-524.

440. Thompson LDR. Update on follicular variant of papillary thyroid carcinoma with an emphasis on new terminology: noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary-like nuclear. Diagnostic Histopathology, 2016, 22(5):171-175.

441. Tielens ET, Sherman SI, Hruban RH, Ladenson PW. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma. A clinicopathologic study. Cancer. 1994; 73: 424-431.

442. Ting S, Schmid ST, Synoracki S, Schmid KW. Thyroid C cells and their pathology. Part 1: Normal C cells—C cell hyperplasia - precursor of familial medullary thyroid carcinoma. Pathologe 2015; 36:246–253

443. Toniato A, Boschin I, Casara D et al. Papillary thyroid carcinoma: factors influencing recurrence and survival. Ann Surg Oncol 2008; 15(5):1518–1522.

444. Trimboli P, Treglia G, Guidobaldi L, et al. Detection rate of FNA cytology in medullary thyroid carcinoma: a meta-analysis. Clin Endocrinol 2015; 82: 280-5.

445. Trovisco V, Soares P, Preto A et al. Molecular genetics of papillary thyroid carcinoma: great expectations. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2007; 51: 643-653.

446. Tseleni-Balafouta S, Gakiopoulou H, Kavantzas N et al. Parathyroid proliferations: a source of diagnostic pitfalls in FNA of thyroid. Cancer 2007; 111(2): 130-6.

447. Tsutsumi Y. Immunohistochemical localization of gastrinreleasing peptide in normal and diseased human lung. Ann N Y Acad Sci 1988; 547: 336-50.

448. Tunca F, Sormaz IC, Iscan Y, Senyurek YG, Terzioglu T. Comparison of histopathological features and prognosis of classical and follicular variant papillary thyroid carcinoma. J Endocrinol Invest. 2015; 38(12):1327-34.

449. Tuttle RM, Ball DW, Byrd D et al. Thyroid carcinoma. J Natl Compr Canc Netw. 2010; 8: 1228-1274.

450. Tuttle RM, Lemar H, Burch HB. Clinical features associated with an increased risk of thyroid malignancy in patients with follicular neoplasia by fine-needle aspiration. Thyroid 1998; 8: 377-83.

451. Sohn YM, Kwak JY, Kim EK et al. Diagnostic approach for evaluation of lymph node metastasis from thyroid cancer using ultrasound and fine-needle aspiration biopsy. AJR Am J Roentgenol. 2010 ;194(1):38-43.

452. Tyler DS, Winchester DJ, Caraway NP et al. Indeterminate fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: identification of subgroups at high risk for invasive carcinoma. Surgery. 1994; 116:1054-1060.

453. Untch BR, Olson JA Jr. Anaplastic thyroid carcinoma, thyroid lymphoma, and metastasis to thyroid. Surg Oncol Clin N Am. 2006; 15: 661-679, x.

454. Valderrabano P, Zota VE, McIver B, Coppola D, Leon ME. Molecular Assays in Cytopathology for Thyroid Cancer. Cancer Control. 2015;22(2):152-7.

455. van den Brekel MW, Hekkenberg RJ, Asa SL, Tomlinson G, Rosen IB, Freeman JL. Prognostic features in tall cell papillary carcinoma and insular thyroid carcinoma. Laryngoscope 1997;107: 254-9.

456. Van Heerden JA, Hay ID, Goellner JR et al. Follicular thyroid carcinoma with capsular invasion alone: a nonthreatening malignancy. Surgery. 1992; 112: 1130-1136.

457. Ustun M, Risberg B, Davidson B, Berner A. Cystic change in metastatic lymph nodes: a common diagnostic pitfall in fine-needle aspiration cytology. Diagn Cytopathol 2002; 27:387–392

458. Vanderlaan PA, Marqusee E, Krane JF. Usefulness of diagnostic qualifiers for thyroid fine-needle aspirations with atypia of undetermined significance. Am J Clin Pathol. 2011;136: 572-577.

459. Vinagre J, Almeida A, Populo H, et al. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. Nat Commun 2013; 4: 2185.

460. Vinciguerra GL, Noccioli N, Bartolazzi A. Diffuse Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma: A Case Report with a Revision of Literature. Rare Tumors. 2016; 8(4):6536.

461. Virk RK, Theoharis CGA, Prasad A, et al. Morphology predicts BRAF (V600E) mutation in papillary thyroid carcinoma: an interobserver reproducibility study. Virchows Arch Int J Pathol 2014; 464: 435-42.

462. Vivero M, Kraft S, Barletta JA. Risk stratification of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. Thyroid 2013; 23: 273-9.

463. Volante M, Bozzalla-Cassione F, DePompa R, et al. Galectin-3 and HBME-1 expression in oncocytic cell tumors of the thyroid. Virchows Arch Int J Pathol 2004; 445: 183-8.

464. Volante M, Collini P, Nikiforov YE et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. Am. J. Surg. Pathol. 2007; 31:1256-1264.

465. Volante M, Fornari A, Rapa I, Papotti M. Poorly Differentiated Carcinoma of the Thyroid Gland. Pathology Case Reviews 2009;14: 219–223

466. Volante M, Landolfi S, Chiusa L, et al. Poorly differentiated carcinomas of the thyroid with trabecular, insular and solid patterns. A clinico-pathological study of 183 cases. Cancer. 2004;100: 950-957.

467. Volante M, Papotti M. Poorly differentiated thyroid carcinoma: 5 years after the 2004 WHO classification of endocrine tumours. Endocr Pathol. 2010; 21(1):1-6.

468. Volante M, Rapa I, Papotti M. Poorly differentiated thyroid carcinoma: diagnostic features and controversial issues. Endocr Pathol. 2008; 19:150–155.

469. von Wasielewski R, Rhein A, Werner M, et al. Immunohistochemical detection of E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas correlates with clinical outcome. Cancer Res. 1997;57:2501–2507.

470. Wallander M, Layfield LJ, Jarboe E, et al. Follicular variant of papillary carcinoma: reproducibility of histologic diagnosis and utility of HBME-1 immunohistochemistry and BRAF mutational analysis as diagnostic adjuncts. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2010;18: 231-5.

471. Wang Z, Chen J-Q, Liu J-L, et al. Clinical impact of BRAF mutation in the diagnosis and prognosis of papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. Eur J Clin Invest 2016; 46:146-57.

472. Watkinson JC. The British Thyroid Association guidelines for the management of thyroid cancer in adults. Nucl Med Commun 2004; 25: 897-900.

473. Welch HG, Black WC. Overdiagnosis in cancer. J Natl Cancer Inst 2010; 102(9): 605-613.

474. Wells SA Jr, Robinson BG, Gagel RF et al. Vandetanib in patients with locally advanced or metastatic medullary thyroid cancer: a randomized, double-blind phase III trial. J Clin Oncol 2012; 30:134–141

475. Wenig BM, Thompson LDR, Adair CF, Shmookler B, Heffess CS. Thyroid papillary carcinoma of columnar cell type: A clinicopathologic study of 16 cases. Cancer 1997;82: 740-53.

476. Werga P, Wallin G, Skoog L, Hamberger B. Expanding role of fine-needle aspiration cytology in thyroid diagnosis and management. World J Surg 2000;24: 907-12.

477. Williams ED, Abrosimov A, Bogdanova TI, et al. Two proposals regarding the terminology of thyroid tumors [editorial]. Int J Surg Pathol. 2000; 8:181-183.

478. Wong LQ, Baloch ZW. Analysis of the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology and similar precursor thyroid cytopathology reporting schemes. Adv Anat Pathol. 2012;19(5):313-9.

479. Woodruff JM, Huvos AG, Erlandson RA, et al. Neuroendocrine carcinomas of the larynx. A study of two types, one of which mimics thyroid medullary carcinoma. Am J Surg Pathol 1985; 9:771-90.

480. Wreesmann VB, Ghossein RA, Patel SG, et al. Genome-wide appraisal of thyroid cancer progression. Am J Pathol. 2002;161:1549 –1556.

481. Wu HH, Jones JN, Grzybicki DM, Elsheikh TM. Sensitive cytologic criteria for the identification of follicular variant of papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsy. Diagn Cytopathol 2003;29: 262-6.

482. Wu S, DeMay RM, Papas P, Yan B, Reeves W. Follicular lesions of the thyroid: a retrospective study of 1348 fine needle aspiration biopsies. Diagn Cytopathol 2012;40: E8–E12.

483. Xhaard C, Rubino C, Clero E et al. Menstrual and reproductive factors in the risk of differentiated thyroid carcinoma in young women in france: a population-based case-control study. Am J Epidemiol 2014; 180(10): 1007-1017.

484. Xing M, Alzahrani AS, Carson KA et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. JAMA 2913; 309(14): 1493-1501.

485. Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. Endocr Relat Cancer 2005;12:245-62.

486. Xing M, Liu R, Liu X, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. J Clin Oncol 2014; 32: 2718-26.

487. Xing M, Westra WH, Tufano RP et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90: 6373-6379.

488. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. Nat Rev Cancer. 2013; 13: 184-199.

489. Yamamoto Y, Maeda T, Izumi K, Otsuka H. Occult papillary carcinoma of the thyroid: a study of 408 autopsy cases. Cancer 1990; 65(5): 1173-1179.

490. Yamashita H, Noguchi S, Murakami N, Kawamoto H, Watanabe S. Extracapsular invasion of lymph node metastasis is an indicator of distant metastasis and poor prognosis in patients with thyroid papillary carcinoma. Cancer 1997;80:2268-72.

491. Yang J, Schnadig V, Logrono R, et al. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. Cancer. 2007;111:306-315.

492. Yang YJ, Demirci SS. Evaluating the diagnostic significance of nuclear grooves in thyroid fine needle aspirates with a semiquantitative approach. Acta Cytol 2003;47:563-70.

493. Yano Y, Uematsu N, Yashiro T et al. Gene expression profiling identifies platelet-derived growth factor as a diagnostic molecular marker for papillary thyroid carcinoma. Clin Cancer Res 2004; 10:2035-2043.

494. Yao R, Chiu CG, Strugnell SS, Gill S, Wiseman SM. Gender Differences in Thyroid Cancer. Expert Rev Endocrinol Metab. 2011;6(2):215-243.

495. Zhang Y, Zhong Q, Chen X, et al. Diagnostic value of microRNAs in discriminating malignant thyroid nodules from benign ones on fine-needle aspiration samples. Tumour Biol. 2014;35(9): 9343-9353.

496. Zheng T, Holford TR, Chen Y et al. Time trend and ageperiodcohort effect on incidence of thyroid cancer in Connecticut, 1935–1992. Int. J. Cancer 1996; 67(4), 504–509.

497. Zhu W, Michael CW. How important is on-site adequacy assessment for thyroid FNA? An evaluation of 883 cases. Diagn Cytopathol 2007; 35: 183-6.