



**LATVIJAS**  
**UNIVERSITĀTE**  
ANNO 1919

**MEDICĪNAS FAKULTĀTE**  
**SPECIALITĀTE-INTERNĀ MEDICĪNA**

**KRISTĪNE DUCENA**

**JAUNU MOLEKULĀRO MARKĪERU IDENTIFIKĀCIJA**  
**VAIROGDZIEDZERA ĻAUNDABĪGO AUDZĒJU AGRĪNAI**  
**DIAGNOSTIKAI**

PROMOCIJAS DARBS MEDICĪNAS DOKTORA  
ZINĀTNISKĀ GRĀDA IEGŪŠANAI INTERNAJĀ MEDICĪNĀ

Apakšnozare: endokrinoloģija

**RĪGA, 2011**

**Darba zinātniskais vadītājs:**

Medicīnas zinātņu doktors, LU profesors Valdis Pīrāgs

**Recenzenti:**

Dr. habil. med., prof. Renāte Ligere

Dr. med. prof. Andrejs Ērglis

Dr. biol. Jānis Kloviņš

**Promocijas padomes priekšsēdētāja:**

Dr. habil.med., prof. Aija Žileviča

**Promocijas padomes sekretāre:**

Dr. biol.,doc. Līga Plakane

**Pētnieciskā darba finansējums un atbalsts:**



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Šis darbs ir izstādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā „Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē”, Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātē no 2007. līdz 2011. gadam

**Zinātniskā darba norises vietas:**

Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca  
Latvijas Biomedicīnas Pētījumu un Studiju Centrs

## DARBA ANOTĀCIJA

Vairogdziedzera mezgli ir bieža atradne pieaugušo populācijā. Palpējamus mezglus diagnosticē vidēji 5% cilvēku un to incidence ir ~1 gadījums uz 1000 iedzīvotājiem gadā. Ultrasonoskopiski izmeklējot, mezglus atrod daudz biežāk – 40-67% gadījumu. Vairogdziedzera audzēji, savukārt, ir relatīvi reta atradne. Tos sastop ~ 20-80 gadījumus uz miljonu iedzīvotāju gadā ar letalitāti 5-8 gadījumi uz miljonu iedzīvotāju gadā. Lielākā daļa no tiem ir augsti diferencēti audzēji: papillāras un folikulāras karcinomas ar labu prognozi, taču 2-5% gadījumu sastop anaplastiskus vairogdziedzera vēžus, kas ir agresīvi, zemu diferencēti audzēji ar sliktu prognozi un tie nepakļaujas konvencionālai staru un ķīmijterapijai.

Jonizējošā radiācija ir galvenais papillāra vairogdziedzera vēža riska faktors, tāpēc tā incidence ievērojami pieaug pēc Hirosimas un Nagasaki atombumbu eksplozijas un Černobiļas AES avārijas 1986.gada aprīlī. Savukārt endēmisks kākslis joda deficīta apgabalos ir galvenais folikulāra vairogdziedzera audzēja riska faktors. Arī ģenētiskajiem faktoriem ir svarīga loma vairogdziedzera karcinogenezē. Piemēram, idiopātisks pārmantots ne-medulāras ģenēzes vēzis ģimenē sastāda ~3,5-6,2 % no visiem vairogdziedzera audzējiem, turpretim pārmantoti vairogdziedzera vēži kombinējas ar citiem, labi zināmiem ģenētiskiem sindromiem, piemēram ar pārmantoto resnās zarnas polipozi, Kaudenas sindromu un Vērmera sindromu.

Ir skaidri pierādīts, ka pat nepalpējams mezgls var būt ļaundabīgs, un slēptu vēžu sastopamība autopsijās ir vidēji 6%. Klīniskajā praksē nereti rodas jautājums: kā rīkoties vairogdziedzera mezglu gadījumā, kāda ir pareizā taktika – novērot vai operēt?

Patlaban diagnostikas standarta metode, ar kuras palīdzību ļaundabīgie audzēji tiek atšķirti no labdabīgiem mezgliem un adenomām, kā arī noteikts audzēja histoloģiskais apakštips, ir histoloģiska izmeklēšana, kas tiek veikta analizējot izoperēto vairogdziedzera mezglu paraugus. Tādējādi lielai daļai pacientu ar labdabīgiem mezgliem tiek veikta operācija, kas tiem nebūtu nepieciešama, ja būtu iespējams pirms operācijas noteikt mezgla veidu. Turklāt histoloģiskie kritēriji dažādu karcinomas subtipu diferenciāldiagnostikai ir subjektīvi un grūti standartizējami, metodes galvenais negatīvais aspekts ir izteikta rezultātu variabilitāte, galvenokārt folikulāro audzēju diagnostikā.

Ultrasonogrāfija (US) joprojām ir pamatmetode vairogdziedzera mezglu attēldiagnostikā, savukārt citoloģiska tievās adatas aspirācijas biopsiju (FNA) izmeklēšana US kontrolē ir zelta standarts vairogdziedzera mezglu malignitātes diagnostikā. Tomēr arī tās rezultātu būtiski ietekmē metodika, kas izmantota biopsijas paņemšanai, līdz ar to dažādās klīnikās veikto analīžu jutība variē no 43 līdz 98% un specifiskums – no 72 līdz 100%. Bez tam, 10-15% gadījumu biopsija nav informatīva, jo ir liels perifēro asiņu piejaukums vai tā nesatur pietiekamu daudzumu šūnu un ir jāatkārto, bet 15-20% gadījumu citoloģiskie izmeklējumi nespēj atšķirt folikulāru adenomu no folikulāras karcinomas. Tādēļ jaunu molekulāru biomarkieru identificēšana vairogdziedzera audos, kombinācijā ar citoloģiskajiem izmeklējumiem, dotu iespēju paaugstināt diagnostikas testu precizitāti un prognozēt slimības gaitu, ir ļoti aktuāla.

Kā biomarkieri ļaundabīgo audzēju diagnostikā var kalpot jebkuras molekulāras izmaiņas – somatiskas mutācijas, DNS metilācijas izmaiņas, izmainīts mRNS, miRNS vai proteīnu ekspresijas līmenis, posttranslācijas notikumi u.c izmaiņas. Tomēr daudzas mutācijas, piemēram gēnos *RET* un *RAS*, nereti tiek detektētas arī labdabīgās adenomās un pat Hašimoto tireodīta gadījumos, kas limitē to nozīmi ļaundabīgo audzēju diagnostikā. Labākie no pašlaik zināmajiem imunohistoķīmiskajiem marķieriem diagnostikai ir galektīns-3, trefoilfaktors-3, *CITED1*, *HBME-1* un citokeratīns 19, tomēr katra individuāla marķiera jutība ir 78-94%, bet specifiskums – no 70 līdz 93%. Vairākos pētījumos, salīdzinot gēnu ekspresijas profilus, ir atrasti vairāk kā 100 gēni, kuru mRNS ekspresijas līmeņi atšķiras labdabīgos un ļaundabīgos vairogdziedzera audos, kā arī ir identificēta virkne jaunu potenciālu marķieru limfmezglu metastāžu prognozēšanai, taču visos gadījumos ir nepieciešami tālāki pētījumi, lai novērtētu iespējas šos marķierus pielietot klīnikā.

Šajā darbā, analizējot molekulāro biomarkieru ekspresiju, pierādījām, ka statistiski ticami atšķirīgu ekspresiju demonstrē septiņi no astoņiem analizētajiem biomarkieriem (gēni *BIRC5*, *CCND1*, *CITED1*, *DPP4*, *LGALS3*, *MET* and *TFF3*, bet ne *CDH1*), ja salīdzina labdabīgus vairogdziedzera mezglus ar ļaundabīgiem audzējiem.

Individuāli vislabāk labdabīgus mezglus no ļaundabīgiem atšķir *LGALS3* (AUC=0,832,  $p<0,0001$ , 90,9% jutība, 65,6% specifiskums), savukārt divu marķieru kombinācija, *LGALS3* and *BIRC5* summa demonstrēja nelielu pārsvaru pār *LGALS3* individuāli (AUC=0,841,  $p<0,0001$ ).

Pētījumā izveidojām kompleksu biomarkieru modeli, veidotu no sešiem gēniem *LGALS3*, *BIRC5*, *TFF3*, *CCND1*, *MET* un *CITED1*, kurš ir vēl specifiskāks salīdzinot ar vienu individuālu biomarkieri vai divu biomarkieru kombināciju labdabīgu mezglu atšķiršanā no ļaundabīgiem vairogdziedzera audzējiem (AUC=0,895,  $p < 0,0001$ , 70,5% jutība, 93,4% specifiskums).

Papildus perspektīvāka un nozīmīga metode audzēja preoperatīvā diagnostikā būtu seroloģiska diagnostikas/prognostikas testa izstrādāšana. Pētījumā analizējām adhēzijas molekulu - šķīstošā E selektīna sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācijas maiņu pacientiem ar labdabīgiem vairogdziedzera mezgliem, pirms un pēc ķirurģiskas ārstēšanas. Statistiski ticami atšķirības konstatējām sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācijas līmeņos, savukārt E selektīna koncentrācija statistiski ticami nemainījās. Pētījums pierādīja, ka visu augstāk minēto proteīnu koncentrācija vairogdziedzera mezglu gadījumos bija ievērojami augstāka, salīdzinot ar veselo kontroles grupu.

Pētījumā pierādījām, ka arī seruma TSH līmenis var palīdzēt malignitātes riska novērtēšanā. Pierādījam statistiski ticami paaugstinātu TSH līmeni pacientiem ar vairogdziedzera ļaundabīgiem audzējiem, salīdzinot ar labdabīgiem mezgliem.

Pierādījam, ka piecas no analizētajam sešām US malignitātes riska pazīmēm: mikrokalcinātu esamība, hipoehogenitāte, neasa mezgla kontūra, nelīdzena virsma un centrāla haotiska vaskularizācija norāda uz lielāku ļaundabīga mezgla iespējamību, salīdzinot benignus mezglus ar maligniem, savukārt divas pazīmes – mikrokalcinātu esamība un izteikta hipoehogenitāte palīdz atšķirt benignus no aizdomīgiem mezgliem. Apstiprinājām, ka FNA ir metode ar augstu pozitīvo paredzošo vērtību, vismaz 87,5% gadījumu tās demonstrētā malignitāte pierādījās pēcoperācijas histoloģiskajā izmeklēšanā.

## **Tekstā izmantotie saīsinājumi**

ATC – anoplastisks vairogdziedzera vēzis  
A-D – autosomāli dominants  
AAACE - Amerikas endokrinologu koledža  
AES - atomelektrostacija  
ATA - Amerikas vairogdziedzera asociācija  
AUC- laukums zem līknes  
BRAF – serīna/treonīna proteīnkināze B  
COX-2 proteīns – citohroma oksidāzes apakšvienības 2 olbaltums  
CT - kompjuertomogrāfija  
cAMP - cikliskais adenozinmonofosfāts  
ETA- Eiropas vairogdziedzera asociācija  
FNA – tievās adatas punkcijas biopsija  
FA – folikulāra adenoma  
FTC – folikulārs vairogdziedzera vēzis  
FAP – ģimenes adenomatozā polipoze  
G $\alpha$  - G proteīna alfa subvienība  
GTP - guanozīntrifosfotāze  
GSK 3 $\beta$  - glikogēnsintetāzkināze 3 $\beta$   
IL-1ra – Interleikīna -1 receptora antagonists  
J - Jūdena indekss  
kDNS – komplementārā dezoksiribonukleīnskābe  
LBMC – Latvijas Biomedicīnas Pētījumu un Studiju Centrs  
LOC- Latvijas Onkoloģijas centrs  
MRI – magnētiskās rezonanses izmeklēšana  
MMP – matricas metālproteāze  
MTC – medulārs vairogdziedzera vēzis  
mRNS - matricas ribonukleīnskābe  
miRNS - mikro-ribonukleīnskābe  
MAPK - mitogēn-aktivētā proteīnkināze  
MEN – multipla endokrīna neoplāzija  
NIS - nātrija-joda simporters  
NCI- ASV starptautiskais vēža institūts

PTC - papillārs vairogdziedzera vēzis  
PPAR $\gamma$  - peroksisomu proliferāciju aktivējošais receptors  
PTEN - duāli funkcionējošā lipīdu fosfatāze  
PI3K/PTEN/AKT - fosfatidilinositola-3-kināzes signālcēļš  
P.Stradiņa KUS – Paula Stradiņa Klīniskā Universitātes slimnīca  
PVO – Pasaules Veselības Organizācija  
qRT-PCR – reālā laika reversās transkriptāzes polimerāzes ķēdes reakcija  
RET – receptoram līdzīgā tirozīnkināze  
RAKUS – Rīgas Austrumu Klīniskā Universitātes slimnīca  
RQ - relatīvā kvantitāte  
sVCAM-1 - šķīstošā vaskulārā adhēzijas molekula-1  
sICAM-1 - šķīstošā intercellulārā adhēzijas molekula-1  
SEER datubāze – Survival, Epidemiology and End Results registry  
SI - Solbiati indekss  
SK- standartklūda  
SD-standartnovirze  
TSH – tireoīdstimulējošais jeb tireotropais hormons  
TSHR - tireoīdstimulējošā hormona receptors  
TRK- tirozīnkināze  
TPO - tireoperoksidāze  
TG- tireoglobulīns  
95% TI – 95% ticamības intervāls  
US – ultrasonogrāfija  
VEGF- vaskulārais endoteliālais augšanas faktors  
VEC- Veselības Ekonomikas centrs

## SATURS

1. Ievads.....	10
2. Literatūras apskats.....	12
2.1. Vairogdziedzera audzēju incidence un epidemioloģija.....	12
2.2. Vairogdziedzera audzēju etioloģija un riska faktori.....	14
2.2.1. Joda deficīts.....	15
2.2.2. Smēķēšana.....	16
2.2.3. Jonizējošā radiācija.....	16
2.2.4. Vides faktori.....	17
2.2.5. Paaugstināts TSH līmenis.....	19
2.2.6. Ģenētiskie riska faktori.....	19
2.2.7. Vairogdziedzera mezgli anamnēzē.....	20
2.2.8. Estrogēni.....	21
2.2.9. Angioģenēzes faktori un citokīni.....	22
2.3. Vairogdziedzera audzēju klasifikācija.....	26
2.4. Vairogdziedzera audzēju patoģenēze un molekulārā ģenētika.....	28
2.4.1. Labdabīgo audzēju molekulāri ģenētiskās izmaiņas.....	28
2.4.2. Ļaundabīgo audzēju molekulāri ģenētiskās izmaiņas (kopsavilkums).....	29
2.4.3. Papillāras karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas.....	32
2.4.4. Folikulāras karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas.....	36
2.4.5. Medulāras karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas.....	37
2.4.6. Anaplastiskas karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas.....	40
2.5. Vairogdziedzera audzēju potenciālo biomarķieru identifikācija.....	42
2.5.1. Trefoil faktori.....	42
2.5.2. Galektīni.....	45
2.5.3. Katenīni.....	45
2.5.4. Kadherīni.....	46
2.5.5. Citi biežākie proteīni, kas iesaistās vairogdziedzera onkoģenēzē.....	46
2.6. Vairogdziedzera audzēju attēldiagnostika.....	48
2.6.1. Vairogdziedzera mezglu ultrasonogrāfija.....	48
2.6.2. Vairogdziedzera limfmezglu ultrasonogrāfija.....	51
2.6.3. Kļūdaini pozitīvas US atradnes.....	53
2.6.4. Indikācijas FNA US kontrolē.....	54
2.6.5. Vairogdziedzera scintigrāfija.....	57



2.6.6. Vairogdziedzera elastogrāfija.....	58
3. Darba mērķis.....	59
4. Darba uzdevumi.....	59
5. Pacienti un izmantotās metodes.....	60
6. Rezultāti.....	65
6.1. Fenotipisko riska faktoru analīze.....	65
6.2. Vairogdziedzera mezglu US riska pazīmju un FNA biopsiju analīze...	66
6.3. Adhēzijas molekulu koncentrācijas analīze .....	73
6.4. Vairogdziedzera molekulāro biomarķieru analīze .....	77
7. Diskusija.....	82
7.1. Seruma TSH koncentrācija un vairogdziedzera malignitātes risks.....	82
7.2. US malignitātes riska pazīmes vairogdziedzera audzēju diagnostikā....	83
7.3. Angioģenēzes faktoru loma vairogdziedzera audzēju diagnostikā.....	85
7.4. Molekulāro biomarķieru izmantošana vairogdziedzera audzēju diagnostikā.....	86
7.5. Folikulāras adenomas un folikulāras karcinomas diferenciāldiagnostikas problēmas.....	90
8. Secinājumi.....	93
9. Praktiskie ieteikumi.....	94
10. Pielikumi.....	95
10.1. Ētikas komisijas atļauja.....	95
10.2. Pacientu piekrišanas forma.....	97
10.3. Pacientu aptaujas anketa.....	101
10.4. 95% TI aprēķinu tabulas .....	105
11. Literatūras atsauces.....	108
12. Publikācijas par pētījuma tēmu.....	127
13. Konferenču tēzes un ziņojumi kongresos par pētījuma tēmu.....	128
14. Pateicības.....	129

## 1. Ievads

Vairogdziedzera vēzis ir visbiežākais endokrīno orgānu ļaundabīgais audzējs (1), kura precīza diagnostika pirmsoperācijas periodā joprojām ir neatrisināta problēma, īpaši pacientiem ar indeterminētu atradni tievās adatas aspirācijas biopsiju paraugos (2).

FNA ar sekojošu citoloģiju ir „zelta standarts” vairogdziedzera malignitātes diagnostikā pirms operācijas, lai pieņemtu lēmumu par tālāko ārstēšanas vai novērošanas taktiku, taču šī metode nespēj atšķirt folikulāru adenomu no karcinomas (2). Tomēr nereti FNA apraksti ir nepilnīgi un nesniedz pietiekamu informāciju par iespējamo malignitātes risku, jo FNA klasifikatori joprojām atšķiras dažādu institūciju starpā. Vairāki pētījumi demonstrē, ka pacientiem, kurus operē ar aizdomām par folikulāru neoplāziju punkcijas biopsijā, tikai 20% apstiprinās malignitāte (3). Tas liecina, ka FNA metodei ir ierobežojumi un jāmeklē precīzāki diagnostiskas instrumenti.

Pēdējo gadu vairogdziedzera audzēju molekulāro pētījumu galvenais mērķis ir identificēt dažādus biomarķierus, kuri piedalās vairogdziedzera labdabīgu mezglu un vēžu attīstībā un progresijā. Nozīmīgu mutāciju diagnostika aptuveni divām trešdaļām papillāru un folikulāru karcinomu pacientiem (*BRAF* V600E, *PAX8/PPAR $\gamma$* ), ir pavērusi lielas perspektīvas uzlabotai vairogdziedzera audzēju diagnostikai pirms operācijas periodā un terapijas iespējām (4). Klasifikatori, kas balstīti uz gēnu ekspresiju arī būtu ļoti daudzsoļi, taču patlaban ir ierobežojumi to izmantošanai klīniskajā diagnostikā, jo, pirmkārt, lielākā daļa no izdarītajiem pētījumiem ir veikti vairogdziedzera histoloģiskajos audu paraugos, bet ne FNA paraugos, otrkārt, pētījumos analizēto audzēju apakštipu skaits ir nepietiekošs (5). Tādēļ, kā viens no mūsu pētījuma trūkumiem jāmin biomarķieru detektēšana pēcoperācijas audu paraugos, taču ir uzsākti gēnu ekspresijas pētījumi FNA biopsiju sērijās. Pēc VEC un RAKUS Terapeutiskās Radioloģijas nodaļas datu bāzes statistikas varam secināt, ka Latvijā, tāpat kā citur Eiropā un pasaulē lielākai daļai pacientu atrod PTC un tikai ļoti nelielam skaitam diagnosticē folikulārus, medulārus un anaplastiskus vairogdziedzera audzējus, tādēļ arī mūsu pētījumā analizēto audzēju apakštipu skaits ir neliels.

Šī promocijas darba pētījumos pierādījām, ka klīnisko riska faktoru kombinēšana ar pirmoperācijas ultrasonoskopisko riska pazīmju analīzi un tievās adatas aspirācijas biopsiju atradni dod iespēju precīzāk atšķirt labdabīgus mezglus no ļaundabīgiem. Jaunu molekulāru biomarķieru identificēšana vairogdziedzera aspirācijas biopsijās,

kombinācijā ar citoloģiskajiem izmeklējumiem ļauj uzlabot pirms operācijas diagnostiku un izvairīties no nevajadzīgas vairogdziedzera operācijas.

## 2. Literatūras apskats

### 2.1. Incidence un epidemioloģija

Vairogdziedzera mezgli ir bieža atradne pieaugušo populācijā. To vidējā prevalence ir aptuveni 3-7%, savukārt ar augstas izšķirtspējas ultrasonogrāfiju, mezglus detektē līdz pat 50% sievietēm vecumā virs 50 gadiem (1,2).

Folikulāra adenoma ir visbiežāk sastopamais labdabīgais vairogdziedzera audzējs, taču tās reālo prevalenci ir samērā grūti novērtēt, jo klīniski un ar FNA palīdzību to nevar atšķirt no citas izcelsmes solīdiem hiperplastiskiem mezgliem. Pēc autopsiju sērijveida pētījumiem, adenomu vidējā incidence pieaugušo populācijā ir vidēji 3-5%. Folikulāras adenomas biežāk sastop sievietēm, attiecība starp sievietēm un vīriešiem ir 5:1 (2).

Vairogdziedzera vēzis ir visbiežāk sastopamais endokrīno orgānu audzējs. Tas sastāda apmēram 1,5% no visiem jaunatklātajiem audzējiem ASV un vidēji diagnosticē 37 000 jaunus gadījumus ik gadu (1). Vairogdziedzera vēža incidence ir 2-3 reizes lielāka sievietēm, piemēram, ASV incidence laika periodā no 2000. līdz 2004. gadam bija 4,3 gadījumi/100 000 vīriešu un 12,5 gadījumi/100 000 sievietēm pēc SEER datubāzes (Survival, Epidemiology and End Results) (2). Citur pasaulē incidence atšķiras dažādos ģeogrāfiskos apvidos un ir augstāka ekonomiski attīstītajās valstīs. Augstākā sastopamība novērota Ziemeļamerikā un Klusā okeāna salās (īpaši Havaju salās un Filipīnās), Īslandē un Vidējo Austrumu zemēs. Incidences atšķirības vērojamas arī etnisko grupu vidū, piemēram ASV balto iedzīvotāju vidū tā ir divas reizes lielāka nekā ASV indiāņiem vai Aļaskas pamatiedzīvotājiem (2,6).

Vairogdziedzera vēzi reti satop bērniem, tā incidence strauji pieaug vecumā pēc 20 gadiem un maksimumu sasniedz sievietēm vēlīnā reproduktīvā periodā, savukārt vīriešiem sestajā mūža dekādē. Vairogdziedzera vēža incidence visā pasaulē ir būtiski palielinājusies pēdējo trīsdesmit gadu laikā. Pēc SEER datiem, ASV tā ir trīskāršojusies kopš 1973. gada, savukārt mirstība ir palikusi nemainīga (7,8,9). Vairogdziedzera vēzis ir septītais biežākais ļaundabīgo audzēju iemesls baltās rases sievietēm ASV. Vēža incidences pieaugums galvenokārt attiecināms uz papillārajiem audzējiem, savukārt folikulāro, medulāro un anaplastisko audzēju sastopamība nav būtiski mainījusies (10,11). Tas skaidrojams, pirmkārt, ar ievērojami uzlaboto diagnostiku, pateicoties augstas izšķirtspējas USG un FNA ieviešanai klīniskajā praksē, jo aptuveni puse no pieauguma attiecināma uz audzējiem <1cm un pārējie

40% uz audzējiem, kuru izmēri ir no 1-2 cm. Otrkārt, labāk tiek atpazīts papillāras karcinomas folikulārais variants, kas agrāk tika interpretēts kā folikulārs vēzis (12,13).

Latvijā 2009. gadā LOC Terapeitiskās radioloģijas klīnikā ārstējušies 146 pacienti: 25 vīrieši, 121 sieviete. No tiem 126 gadījumos ir apstiprināts papillārs vairogdziedzera vēzis, 13 gadījumos folikulārs, 4 medulārs, 2 anaplastisks, bet 1 pacientam pierādīta vairogdziedzera maligna limfoma. Pēc VEC pieejamās informācijas, 2009. gadā Latvijā pavisam reģistrēti 190 saslimšanas gadījumi ar vairogdziedzera vēzi: 36 vīrieši un 154 sievietes, vidējā incidence 7,7 gadījumi/100 000 sieviešu un 1,8 gadījumi/100 000 vīriešu.

## 2.2. Vairogdziedzera audzēju etioloģija un riska faktori

Vairogdziedzera audzēji attīstās ārējās vides faktoru, endogēno hormonālo faktoru un ģenētiskās predispozīcijas mijiedarbības rezultātā (14,15,16). Biežākie riska faktori minēti 1.tabulā (17,18).

### 1. tabula. Vairogdziedzera audzēju riska faktori un to ģenētiskais pamats.

<p><b>Ģenētiskā predispozīcija</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• MEN2A, MEN2B, FMTC sindromi: MTC</li> <li>• FAP: PTC</li> <li>• Kaudenas sindroms: folikulāra adenoma un karcinoma</li> <li>• Ķimenes folikulāro šūnu izcelsmes vairogdziedzera audzēji: PTC</li> </ul>	<p><b>Ģenētiskās pārmaiņas</b></p> <p>Pārmantotas <i>RET</i> gēna mutācijas</p> <p>Pārmantotas <i>APC</i> gēna mutācijas</p> <p>Pārmantotas <i>PTEN</i> gēna mutācijas</p> <p>Hromosomu lokusi 19p13.2, 1q21, 2q21</p>
<p><b>Jonizējošā radiācija</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ārēja jonizējošā radiācija, terapeitiska apstarošana vai nukleāra katastrofa: PTC</li> <li>• I131 eksplozija bērnībā: PTC</li> </ul>	<p>Gēna <i>RET</i> mutācijas un citas hromosomu pārbūves</p> <p>Gēna <i>RET</i> mutācijas un citas hromosomu pārbūves</p>
<p><b>Iepriekš esoša labdabīga vairogdziedzera slimība</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vairogdziedzera mezgls/adenoma, multinodulārs kākslis: FTC, PTC</li> <li>• Hašimoto tireoidīts: primāra vairogdziedzera limfoma</li> <li>• Greivsa slimība: dati par vairogdziedzera audzēju pretrunīgi</li> </ul>	<p>Ģenētika nav skaidra, iespējams <i>RAS</i> gēna somatiskās mutācijas</p> <p>Ģenētika nav skaidra</p>
<p><b>Joda uzņemšana:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Joda deficīts: folikulāra, anoplastiska karcinoma</li> <li>• Joda pārmērīga uzņemšana: PTC</li> </ul>	<p>Ģenētika nav skaidra</p> <p>Ģenētika nav skaidra</p>
<p><b>Hormonālie un reproduktīvie faktori</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sieviešu dzimte, reproduktīvais vecums, specifisku hormonālo faktoru loma neskaidra: PTC, FTC</li> </ul>	<p>Ģenētika nav skaidra</p>

### 2.2.1. Joda deficīts

Joda deficīts ilgu laiku ir bijis visvairāk pētītais epidemioloģiskais riska faktors mezglainai vairogdziedzera slimībai. Vairogdziedzera mezglu prevalence joda deficīta apgabalos atšķiras no reģioniem, kuros ir adekvāta joda uzņemšana uzturā. Apvienotās karalistes *Wickham Survey* pētījums demonstrēja, ka Anglijā, reģionā ar pietiekošu joda uzņemšanu, mezglainu strumu sastop 23% sieviešu un 5% vīriešu (19). Vairogdziedzera mezglu sastopamība pieaug ar vecumu: dāņu populācijas pētījumā, rajonos ar pietiekošu joda uzņemšanu, mezglainu netoksisku kāksli atrada 23% no pētījuma grupas (2656 dāņi vecumā no 41 līdz 71 gadam), atzīmējot, ka sievietēm mezglu sastopamība pieaug novecojot (no 20 līdz 46%), līdzīgi arī vīriešiem (no 7% līdz 23%). Analizējot sakarību starp vecumu un vairogdziedzera tilpumu, joda deficīta apvidos (izņemot ļoti izteiktu deficītu), vairogdziedzera palielināšanās pīķis vērojams ~ 40 gadu vecumā, bez tālākas palielināšanās tendences (20). *Whickham Survey* 20 gadus ilga populācijas apsekojums demonstrē, ka reģionos ar pietiekošu joda uzņemšanu, kākšļa tilpums, pieaugot vecumam, samazinās - prevalence pētījuma sākumā 23% sieviešu, 5% vīriešu; pēc 20 gadu novērošanas šiem pašiem pacientiem – 10% sieviešu, 2% vīriešu (19).

Lai gan vairogdziedzera mezglus pārsvarā satop indivīdiem ar palielinātu vairogdziedzeri, klīniskā prakse pierāda, ka tos bieži atrod arī normāla izmēra dziedzeros. Korelācija starp joda uzņemšanu un mezglainas vairogdziedzera slimības attīstību attiecināma arī nodozas toksiskas strumas izveidošanos. Vairogdziedzera toksiski autonomi mezgli ir galvenais tireotoksikozes iemesls joda deficīta reģionos, tie sastāda ~60% no visiem tireotoksikozes gadījumiem (50% multinodulārs kākslis, 10% solīdi mezgli). Vairogdziedzera autonomijas prevalence korelē ar palielinātu nodularitāti un pieaug ar vecumu. Un pretēji, vairogdziedzera autonomiju reti satop reģionos ar pietiekamu joda uzņemšanu, tā sastāda tikai ~3-10% no visiem tireotoksikozes gadījumiem. Tātad joda deficīta novēršana populācijā samazina vairogdziedzera autonomijas attīstību. To labi demonstrē populācijas novērojums Šveicē, kur toksiska mezglaina kākšļa prevalence samazinājās par 73%, dubultojot joda saturu vārāmajā sāļī (21).

### **2.2.2. Smēķēšana**

Populācijas skrīnings atklāj, ka smēķētājiem biežāk novēro gan kākšļa, gan mezglu attīstību, salīdzinot ar nesmēķētājiem (22). To skaidro ar cigaretēs esošo palielināto tiocianāta līmeni, kurš smēķētājiem pastiprināti inhibē joda uzņemšanu un organifikāciju. Saistība starp smēķēšanu un mezglaina kākšļa attīstību vairāk vērojama joda deficīta reģionos. Salīdzinošā populācijas pētījumā Dānijā atlasīja pacientus no diviem reģioniem, no kuriem vienā bija viegls, otrā vidēji izteikts joda deficīts. 4649 pacientus no vispārējās populācijas sadalīja divās pētījuma grupās. Rezultāti demonstrēja, ka seruma tireoglobulīns un vairogdziedzera tilpums ultrasonogrāfijā statistiski ticami bija palielināts smēķētājiem, īpaši reģionos ar izteiktu joda deficītu (23). Citā pētījumā Dānijā, kurā iekļāva 8219 dalībniekus, analizēja vairogdziedzera tilpumu un vairogdziedzera hormonu līmeni asinīs smēķētājiem un nesmēķētājiem pirms un pēc jodizācijas (tā notika 2000.gadā) divos reģionos: ar vieglu un ar izteiktu joda deficītu. Rezultāti demonstrēja, ka reģionos, kur ir sasniegta pietiekama jodizācija, smēķētāju grupā joprojām ir vērojams palielināts vairogdziedzera tilpums (pirms jodizācijas 39,3%, pēc 24,2%), turpretim nesmēķētāju grupā samazināšanās bija krasāka (pirms 24%, pēc 12%). Pēc jodizācijas smēķētājiem nevēroja būtiskas izmaiņas vairogdziedzera hormonu līmenī: TSH līmenis bija zemāks, brīvā tiroksīna līmenis augstāks, salīdzinot ar nesmēķētājiem (22,24). Rezultāti ļauj secināt, ka smēķēšanas ietekme uz vairogdziedzera tilpumu ir atkarīga no joda uzņemšanas, savukārt vairogdziedzera funkciju vairāk ietekmē citi faktori (22,23).

### **2.2.3. Jonizējošā radiācija**

Jonizējošā radiācija ir papildus riska faktors ne tikai vairogdziedzera vēža, bet arī benignas nodulāras vairogdziedzera slimības attīstībā. Palielināta mezglu prevalence ir saistāma ar radionukleoīdo atkritumu iedarbību un arī apstarošanu terapeitiskos nolūkos (25).

Jonizējošais starojums bērnībā ir plaši pētīts vairogdziedzera vēža riska faktors. Gan ārēja apstarošana (rentgena stari vai gamma starojums), gan nejauša, negadījuma rakstura iekšēja iedarbība ar radioaktīvo jodu palielina vēža risku. Minimālais ļaundabīga audzēja attīstības latentais periods ir 4 gadi un risks saglabājas palielināts līdz pat 40 gadiem pēc starojuma ekspozīcijas. Lielākā daļa no radiācijas inducētiem



audzējiem ir papillāras karcinomas, pārsvarā solīdas augšanas variants. Folikulāru audzēju un labdabīgu mezglu attīstība pēc starojuma ekspozīcijas ir retāka, šie bojājumi var attīstīties pēc ilgāka latentā perioda (25,26).

Pastiprināta interese par radiāciju un tās ietekmi uz vairogdziedzeri, radās pēc Černobiļas AES avārijas 1986. gada 26. aprīlī (27). Precīzu datu par vairogdziedzera vēža pieaugumu pēc Černobiļas AES avārijas nav, tomēr konstatēts, ka aptuveni 4000 bērniem pirmajos gados pēc eksplozijas attīstījies PTC (27). Jau senāk bija zināms, ka galvas un kakla apstarošana bērībā palielina vairogdziedzera vēža incidenci, kā arī papildus pētījumi pēc atombumbu sprādzieniem Hirosimā un Nagasaki pierādīja augstāku vairogdziedzera vēža incidenci. Pētījumi demonstrē, ka radiācijas inducēto vairogdziedzera audzēju attīstība ir cieši saistīta ar apstarojuma devu un vecumu apstarošanas brīdī: pieaugušajiem risks ir ievērojami zemāks, salīdzinot ar bērniem (28).

#### **2.2.4. Vides faktori**

Vairāki pētījumi demonstrē, ka vairogdziedzera vēža incidence pieaug vulkāniskajos apgabalos. Filipīnās un Havaju salās, kā arī Īslandē ir aprakstīta vislielākā vairogdziedzera vēža sastopamība pasaulē (29,30). Tas rosina domāt, ka apkārtējās vides faktoriem ir milzīga nozīme, jo gan Havaju salās, gan Filipīnās regulāri notiek vulkānu izvirdumi, tāpat arī Īslandē, kur pēdējais lielākais izvirdums notika 2010. gada pavasarī. Vulkāni parādās dažādās tektoniskās vidēs, lielākā daļa no tiem lokalizējas pie konvergējošo plakņu robežām, piemēram gar Klusā okeāna loku, reģionu, kas ir jau ieguvis nosaukumu „uguns loks”, turpretī citi vulkāni parādās pie diverģējošo plakņu robežām, piemēram Īslandē, reģionā ap Vidus-Atlantijas kori un Austrumu Āfrikas ieplakā un Vidusjūras dienvidaustrumos (29).

Klusā okeāna piekrastes lokā ir dokumentēti vairāk nekā 80% no visiem zemes vulkāniem. Pēc SEER datu bāzes reģistra, Havaju salās ir visaugstākā vairogdziedzera vēža izplatība, ar sastopamību sievietēm 8:1 uz 100 000 un vīriešiem 3:1 uz 100000. Aprakstītas arī ievērojamas atšķirības dažādu etnisko grupu vidū ar augstāko sastopamību starp filipīniešu sievietēm 18,2 uz 100 000 un ķīniešu vīriešiem 6,3 uz 100 000 (31,32).

Citā pētījumā, kur salīdzināja vairogdziedzera vēža incidences rādītājus starp ASV dzimušiem un citās valstīs dzimušiem filipīniešiem, ķīniešiem un japāņiem, kuri pastāvīgi uzturas ASV un ASV baltajiem iedzīvotājiem. Rezultāti demonstrēja, ka filipīniešu sievietēm, kuras dzimušas Filipīnās ir 3,2 reizes augstāks vēža incidences

rādītājs salīdzinot ar ASV dzimušām baltajām sievietēm. Svarīgi atzīmēt, ka arī ASV dzimušām filipīnietēm nevēroja paaugstinātu vairogdziedzera vēža risku. Pētījums demonstrēja, ka arī filipīniešu vīriešiem, kuri dzimuši Filipīnās bija augstāks relatīvais vēža risks salīdzinot ar ASV dzimušajiem filipīniešiem. Rezultāti rosina domāt, ka vairogdziedzera vēža risks starp dažādām populācijām ir saistāms ar dzimšanas vietu (33,34). Pie tam, retrospektīvā analizē, kurā iekļāva 72 pacientus pēc tireoīdektomijas mezglainas strumas dēļ, vairogdziedzera vēzi konstatēja 69,4% salīdzinot ar kontroles grupu, kurā iekļāva 72 pacientus ar citiem riska faktoriem un vairogdziedzera vēzi konstatēja tikai 38,9%. Šis fakts vēlreiz apliecina, ka Filipīnās dzimušajiem ir ievērojami paaugstināts vairogdziedzera malignitātes risks (33,34).

Ikgadējā vairogdziedzera vēža incidence Islandē ir augstākā Eiropā un viena no augstākajām pasaulē. Islandes vēža reģistra dati laika periodā no 1955. līdz 1984. gadam demonstrē incidenci vīriešiem 4,4 uz 100 000 un sievietēm 11,7 uz 100 000, rādītājus, kuri ir divas reizes augstāki salīdzinot ar citām Ziemeļvalstīm. Tomēr mortalitātes rādītāji pēdējo 30 gadu laikā ir palikuši nemainīgi (35).

Galvenais ķīmiskais elements, kuru palielinātā daudzumā atrod vulkānos, piemēram reģionā gar Etnu, ir vanādijs. Tas ir potenciāli citotoksisks, īpaši apstākļos, ja samazinās antioksidantu cinka un selēna daudzums. Vanādijs, caur epidermālo augšanas faktoru un p38 MAPK signālceļu, inducē COX-2 proteīna pastiprinātu ekspresiju un veicina audzēja proliferāciju. Pētījumi ar smagajiem metāliem vulkāniskajā Teras salā demonstrē, ka cinka līmenis hidrotermālajos ūdeņos svārstās no 8-56  $\mu\text{g/l}$ , kas vidēji 100 reizes pārsniedz normu, kadmija līmenis ir 0,5-2,3  $\mu\text{g/l}$ , kas ir 7,5 reizes vairāk nekā jūras ūdenī, savukārt, selēna līmenis vulkāniskajos Teras ūdeņos ir ļoti samazinātā koncentrācijā. Augsts sēra un tiocianātu saturs ir konstatēts vulkāniskajā augsnē, kas arī veicina vairogdziedzera slimību attīstību, jo, kā zināms, gan sērs, gan tiocianāti inhibē joda transportu un organifikāciju (36).

Vulkāni lielos daudzumos izdala arī sēra dioksīdu ( $\text{SO}_2$ ). Piemēram, ar Kilauea vulkāna aktivitāti Havaju salās, kurš lielos daudzumos izdala sēra dioksīdu atmosfērā, saistāms sirds un asinsvadu slimību pieaugumu par vidēji 35% šajā reģionā. Pie tam sērs izkonkurē selēna uzņemšanu augos, kā rezultātā samazinās selēna pieejamība esošajā ekosistēmā (37).

Visbeidzot, arī radioaktivitāte ir viens no potenciāli svarīgajiem riska faktoriem vulkāniskajos reģionos, kas veicina tumoroģenēzes procesus (38).

### 2.2.5 Paaugstināts TSH līmenis

Pētījumi demonstrē, ka arī TSH līmenis var kalpot kā viens no vairogdziedzera mezglu malignitātes riska kritērijiem. Pierādīts, ka pacientiem ar ļaundabīgiem vairogdziedzera mezgliem, TSH līmenis visbiežāk  $>5,0$  ( $\mu\text{IU/ml}$ ). *Jin* un līdzautori analizē 653 pacientus ar mezglainu vairogdziedzeri, kuriem laika periodā no 1990. līdz 2008. gadam izdarīja tireoīdektomiju. Lai precīzi izvērtētu malignitātes riska faktoros, izmantoja daudzfaktoru loģistiskas regresijas analīzi. Rezultāti demonstrēja, ka malignus mezglus pārsvarā diagnosticēja pacientiem, kuru TSH bija augstāks ( $5,5 \mu\text{IU/ml}$  vs  $1,4 \mu\text{IU/ml}$ ,  $p < 0,0001$ ) (39). Arī *Boelaert* un kolēģi analizēja pacientu grupu, kuriem izdarīja tireoīdektomiju mezglu dēļ. Malignitātes prevalenci konstatēja 2,8% pacientu, kuriem TSH  $< 0,4$  mU/l, 3,7% ar TSH līmeni  $0,4-0,9$  mU/l, 8,3% ar TSH  $1,0-1,7$  mU/l, 12,3% TSH  $1,8$  līdz  $5,5$  mU/L, savukārt 29,6% pacientu, kuriem TSH līmenis pārsniedza  $5,5$  mU/l (40).

Jau sen zināms, ka TSH supresija, lietojot eksogēnus vairogdziedzera hormonus, samazina vairogdziedzera vēža recidīvu un mortalitātes iespēju pacientiem ar vairogdziedzera vēzi, tomēr nav datu, ka tā supresē onkoģenēzi, jo tajā papildus iesaistās virkne dažādu citu signālproteīnu kaskādes.

*Boelaert* un kolēģi pat izstrādājuši formulu, pēc kuras var noteikt vairogdziedzera mezglu audzēju risku, ņemot vērā pacienta seruma TSH līmeni, vecumu, dzimumu un kākšļa veidu. Jāatzīmē, ka šis pētījums notika laika periodā no 1984. līdz 2002. gadam, kad ultrasonogrāfiju vēl neizmantoja kā rutīnas izmeklēšanas metodi visiem pacientiem. Mūsdienu klīniskajā praksē, seruma TSH koncentrāciju var izmantot kā papildus analīzi, kombinējot ar ultrasonoskopiskajiem mezglu malignitātes kritērijiem (40,41).

### 2.2.6. Ģenētiskie riska faktori

Vairogdziedzera audzēji attīstās ģenētisko, hormonālo un apkārtējās vides riska faktoru mijiedarbības rezultātā. Ģenētiskās predispozīcijas loma visvairāk ir pētīta medulāram vairogdziedzera vēzim. Aptuveni 25% no šiem audzējiem manifestējas kā MEN sindroma komponente: MEN2A, MEN2B vai ģimenes medulārā karcinoma. Pēdējo rada pārmantota mutācija *RET* gēnā, kas lokalizējas 10q11.2 un tai raksturīga autosomāli dominanta pārmantotība ar gandrīz pilnu penetranci, bet variablu ekspresivitāti (42).

Aptuveni 5% no folikulāro šūnu izcelsmes vairogdziedzera audzējiem atrod pārmantotību ģimenēs. To izskaidro vai nu ar labi zināmiem definētiem pārmantotiem audzēju sindromiem, vai arī ar citiem, līdz šim neizskaidrotiem ģenētiskiem mehānismiem. Pētījumi demonstrē, ka pacienta, kurš slimo ar folikulāro šūnu izcelsmes vairogdziedzera vēzi, 1. pakāpes radniekiem vairogdziedzera vēža risks ir 4-10 reizes augstāks nekā vispārējā populācijā (42,43). Piemēram, viens no labi zināmiem ģenētiskiem sindromiem ir ģimenes adenomatozā polipoze (FAP), kuru izsauc pārmantota mutācija *APC* (adenomatous polyposis coli) gēnā, kurš lokalizējas 5q21(15,16). Vairogdziedzera audzēji minētā sindroma pacientiem tipiskos gadījumos manifestējas trešajā dzīves dekādē un pārsvarā skar sievietes. Lielākā daļa no FAP asociētiem vairogdziedzera vēžiem ir papillāras karcinomas un tām raksturīgas īpašas histoloģiskās iezīmes. Vairogdziedzera audzējus diagnosticē arī pacientiem ar Kaudenas sindromu (multiplu hamartomu sindroms), kuri attīstās pārmantotas mutācijas rezultātā *PTEN* gēnā, kurš lokalizējas 10q23.31 (15,16). Lielākā daļa no šiem audzējiem ir folikulāras adenomas un folikulāras karcinomas. Retāk vairogdziedzera neoplazmas sastop arī citu ģenētisku sindromu ietvaros, piemēram pie Karneja kompleksa, Vērmera sindroma, Peica-Džegersa sindroma un MEN1 sindroma.

Tomēr lielākā daļa no pārmantotiem folikulāras izcelsmes vairogdziedzera ļaundabīgiem audzējiem neietilpst zināmu ģenētisku sindromu sastāvā. Šos audzējus mēdz dēvēt arī par ģimenes ne-medulāro vairogdziedzera vēzi. Lielākā daļa no šiem audzējiem (90%) ir papillāras karcinomas, kurām raksturīga autosomāli dominanta pārmantotība ar samazinātu penetranci. Šo audzēju tendenci pārmantoties, apstiprina gadījumi, kas trim vai vairākiem pirmās pakāpes radniekiem diagnosticē vairogdziedzera vēzi. Ģenētiskie pētījumi demonstrē konkrētus uzņēmīgākos hromosomu lokusus 19p13.2, 1q21 un 2q21, tomēr vēl nav identificēti specifiski gēni šajos reģionos (15,16).

### **2.2.7. Vairogdziedzera mezgli anamnēzē**

Ilgstošs multinodulārs kākslis vai benigna vairogdziedzera adenoma ir pierādīts vairogdziedzera vēža riska faktors. Labdabīgam vairogdziedzera mezglam vai adenomai ir augstāks vēža risks nekā netoksiskam kākslim bez mezgliem (difūzai strumai). Pacientiem ar multinodulāru kāksli ir salīdzinoši augstāks gan papillāras,

gan folikulāras karcinomas risks, savukārt solitāra benigna adenoma ir saistīta ar augstāku folikulāra audzēja risku. Anaplastisks vairogdziedzera vēzis sastopams pacientiem ar ļoti ilgstošu multinodulāru kāksli anamnēzē (21,22). ASV epidemioloģiskie pētījumi demonstrē, ka labdabīgu mezglainu vairogdziedzera slimību anamnēzē atrod ~ 15% pacientu ar diferencētu vairogdziedzera vēzi un ~ 25% pacientu ar anaplastisku vēzi. Ģenētiskie mehānismi, ka saistīti ar benignas vairogdziedzera slimības pārēju ļaundabīgā formā nav līdz galam izpētīti. Piemēram, adenomas pāreja karcinomā saistīta ar somātiskajām mutācijām *RAS* gēnos, kuras aptuveni vienādā daudzumā sastop gan folikulāru adenomu, gan karcinomu gadījumos, kā arī atrod pie papillāriem audzējiem. Mutācijas *RAS* gēnā noved pie konstantas *ras* proteīna aktivitātes, kas rada pastāvīgu augšanas signālu pašprietiekamību un veicina audzēja šūnu paaugstinātu proliferāciju. *RAS* gēna mutācijas parasti parādās agrīnā audzēja formēšanās procesā un palielina malignas transformācijas iespēju (44).

Vairogdziedzera folikulāru un anaplastisku karcinomu incidence ir augstāka reģionos ar joda deficītu, galvenokārt to indivīdu vidū, kas dzīvojuši šajos apvidos vismaz 20 gadus vai pavadījuši bērnību (45).

### **2.2.8. Estrogēni**

Jau sen zināms, ka estrogēniem piemīt tiešs šūnu augšanu veicinošs efekts, kurš izpētīts *in vitro*, un ar to izskaidro faktu, ka sievietēm vairogdziedzera ļaundabīgos audzējus sastop trīs reizes biežāk nekā vīriešiem. Vairāki epidemioloģiskie pētījumi demonstrē, ka orālo kontraceptīvu lietošana ir saistīta ar mēreni paaugstinātu vairogdziedzera audzēju risku, turpretim citi epidemioloģiskie pētījumi šo saikni noliedz (46). Palielināts audzēju risks ir aprakstīts arī pacientēm, kuras lieto estrogēnu preparātus ginekoloģisku patoloģiju ārstēšanā, savukārt mazu estrogēna devu substitūcija postmenopauzālā periodā nepalielina vairogdziedzera vēža risku. Imunohistoķīmiskie pētījumi ir pierādījuši, ka vairogdziedzera audos ir estrogēnu receptori  $\alpha$  un  $\beta$ . Pierādīts, ka gan vīriešiem un sievietēm, pēc estrogēnu stimulācijas, nav atšķirības estrogēnu  $\alpha$  receptora ekspresijas intensitātē, bet sievietēm ir ievērojami augstāks  $17\beta$ -estradiola līmenis. Vairogdziedzera benignu un malignu šūnu stimulācija ar  $17\beta$ -estradiolu palielina šūnu proliferācijas ātrumu un pastiprina ciklīna D1 ekspresiju, proteīna, kurš spēlē svarīgu lomu šūnu cikla regulācijā. Klasiski

estrogēnu receptori pieder intracelulāriem receptoriem, kuri funkcionē kā transkripcijas faktori. Tomēr vairāki pētījumi demonstrē, ka estrogēni ietekmē arī ar augšanas faktoriem saistītos signālceļus. Piemēram, viens no estrogēnu darbības mērķiem ir mitogēn-aktivētā proteīnkināze (MAPK), kuras aktivitāti regulē augšanas faktori, kas kopā ar saviem receptoriem spēlē svarīgu lomu vairogdziedzera audzēju proliferācijas mehānismu regulācijā un kontrolē. Pierādīts, ka estrogēni arī aktivē agrīno mitogēnēzes gēnu *c-myc* un *c-fos* transkripciju, tādējādi veicinot vairogdziedzera audzēju attīstību (47,48).

### **2.2.9. Angioģenēzes faktori un citokīni**

Pieauguša cilvēka organismā ir cieši regulēts līdzsvars starp angioģenēzes stimulatoriem un inhibitoriem. Ja pastiprinās stimulatorie signāli vai samazinās inhibitorie signāli, šis balanss ir traucēts un attīstās patoloģiska angioģenēze. Tās laikā izzūd koordinētā organizācija starp augšanas faktoriem, adhēzijas molekulām, ārpus šūnas proteīniem un proteāzēm (49).

Vairogdziedzera audzēju augšana un spēja metastazēt ir kompleksu procesu virkne, kas atkarīga no organisma angioģenēzes un imunoloģiskām reakcijām. Jaunākās literatūras dati pierāda, ka citokīniem, hemokīniem, iekaisuma un angioģenēzes regulatoriem ir svarīga loma vēža attīstībā un metastāžu veidošanā. Palielinātu cirkulējošo adhēzijas molekulu koncentrācija atrodama dažādu audzēju, iekaisīgu zarnu slimību, septiska šoka, malārijas un autoimūnu slimību, tai skaitā vairogdziedzera, gadījumos, bet ir maz pētījumu par koncentrācijas izmaiņām mezglainu ne-autoimūnu vairogdziedzera slimību gadījumos. Tālāk apskatīti jaunākie pētījumi par šo proteīnu mediatoru lomu vairogdziedzera labdabīgu mezglu un ļaundabīgu audzēju attīstībā (50).

**Interleikīna -1 receptora antagonists (IL-1ra).** Pirmo reizi tā darbība aprakstīta 1984.gadā un sākotnēji to nodēvēja par IL-1 inhibitoru. Šis proteīns bremsē IL-1 un IL-2, kā arī regulē ar IL-1 saistītās iekaisuma reakcijas. IL-1ra kodējošā gēna polimorfisms varbūt saistīts ar paaugstinātu osteoporozes risku un kuņģa vēža attīstību, kā arī aprakstīta saistība ar vairogdziedzera vēzi. IL-1ra līmenis serumā ievērojami paaugstinās pacientiem ar anaplastisku un folikulāru vairogdziedzera karcinomu, salīdzinot ar kontroles grupu. Publicētajā pētījumā iekļāva 52 pacientus ar vairogdziedzera vēzi, no kuriem 21 konstatēja papillāru vēzi (PTC), 8 folikulāru (FTC), 12 medulāru (MTC) un 11 anaplastisku vēzi (ATC). Kontroles grupa sastāvēja

no 15 pacientiem ar labdabīgām vairogdziedzera adenomām un 27 veseliem voluntieriem. Pētījuma rezultāti demonstrēja, ka sēruma IL-1ra koncentrācija bija ievērojami augstāka pacientiem ar FTC un ATC (51).

**Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF)** arī iesaistās audzēju audu attīstībā. VEGF ir šūnu ķīmiskais signāls, kas veicina angiogēnēzi, atjaunot skābekļa piegādi audiem gadījumos, kad attīstās asins cirkulācijas traucējumi. VEGF fizioloģiskā funkcija ir radīt jaunus asinsvadus embrionālās attīstības periodā, pēc dažādiem ievainojumiem, kā arī veicināt kollaterāļu veidošanos blakus bloķētajiem asinsvadiem. Palielinātu VEGF ekspresiju atrod dažādu audzēju gadījumos, kas atvieglo vēža augšanu un metastazēšanos. Literatūrā atrodami neskaitāmi pētījumi par VEGF lomu vairogdziedzera vēža attīstībā (52,53).

Piemēram, *Bunone* un līdzautori publicēja izcilu pētījumu, kurā analizēja dažādu augšanas faktoru stimulatoru un inhibitoru ekspresiju veselos vairogdziedzera audos, diferencētu vairogdziedzera vēžu un lokālo metastāžu gadījumos. Pētījums pierādīja, ka visu vairogdziedzera vēžu gadījumos dažādu VEGF izoformu ekspresija pieaug ~ 2-10 reizes, savukārt nevēroja VEGF ekspresijas pieaugumu labdabīgos mezglos un veselos vairogdziedzera audos. Papildus pētīti demonstrēja, ka lielākā daļā analizēto limfmezglu metastāzēs arī konstatē palielinātu VEGF līmeni un tas ir pat augstāks nekā pašā primārā audzējā. Visi vairogdziedzera audzēji, izņemot sīkus mikropapillārus vēžus, pastiprināti ekspresē arī VEGF receptoru VEGFR-2, īpaši lieli papillāri audzēji, kuriem šī receptora ekspresija ir 2-4 reizes lielāka. Savukārt VEGFR-1 ekspresijas līmenis neatšķiras veselu vairogdziedzera audu un audzēju gadījumos (52).

*Poulaki* un līdzautori analizēja VEGF regulācijas mehānismus pacientiem ar vairogdziedzera vēzi, pētot IGF-1 (insulīnam līdzīgā augšanas faktora-1) ietekmi uz VEGF ekspresiju SW759 šūnu rindā, t.i., vairogdziedzera audzēju šūnu rindā. Viņi pierādīja, ka IGF-1 pastiprina VEGF mRNS un proteīna līmeni un šis efekts norit caur PI3K/Akt signālceļu. Ārstēšana ar IGF-1 arī pastiprina citu transkripcijas faktoru, piemēram proteīna-1 aktivatora (AP-1) un hipoksijas inducētā 1 $\alpha$  faktora (HIF-1 $\alpha$ ) ekspresiju. Tātad var secināt, ka līdzīgi kā citu audzēju gadījumos, IGF-1 spēlē svarīgu lomu VEGF regulācijā vairogdziedzera audzēju attīstības procesā (53).

Literatūrā aprakstīti pētījumi par VEGF koncentrācijas atšķirībām starp pacientiem ar metastātisku un ne metastātisku vairogdziedzera vēzi, polinodozas strumas gadījumos un veseliem voluntieriem. Piemēram, pētījums, kurā iekļāva 71 pacientus (62

sievietes un 9 vīriešus), vecumā  $44,9 \pm 12,3$  gadi ar diferencētu vairogdziedzera vēzi (50 papillāri, 17 folikulāri, 4 oksofili), kuriem izdarīja totālu tireoīdektomiju un pēc tam radioaktīvā joda terapiju. Pēc ārstēšanas 59 pacientiem konstatēja slimības remisiju, 12 pacientiem slimība recidivēja/persistēja. Pētījumā iekļāva arī divas kontroles grupas: 30 pacientus ar netoksisku polinodozu strumu un 30 veselus voluntierus. Rezultāti demonstrēja, ka sēruma VEGF ir ievērojami augstāks pacientiem ar attālām metastāzēm, salīdzinot ar pacientiem remisijā un veseliem voluntieriem. ( $423.4$  vs  $217.6$  vs  $235.55$  pg/ml,  $p < 0.05$ ). Pēc endogēnas TSH stimulācijas, VEGF ievērojami samazinājās ( $215.3$  vs  $169.6$  pg/ml,  $p < 0.05$ ). Pacientiem ar polinodozu strumu konstatēja ievērojami zemāku VEGF līmeni, salīdzinot ar pārējām pētījuma grupām. Tātad, var secināt, ka seruma VEGF varētu izmantot kā papildus biomarķieri pacientiem ar vairogdziedzera metastātisku vēzi. Endogēnā TSH stimulācija samazina VEGF līmeni gan veseliem voluntieriem, gan vairogdziedzera slimību gadījumos, kas liek domāt, ka tā regulatorie efekti caur receptoriem lokalizējas ārpus tireocītiem (54,55). Jaunākie atklājumi demonstrē, ka tieši **vaskulārais endoteliālais augšanas faktors C (VEGF-C)** korelē ar metastāžu attīstību limfmezglos pacientiem ar papillāru vairogdziedzera vēzi (PTC). Zināms, ka VEGF veicina audzēja invāziju asinsvados un attālo metastāžu attīstību, turpretī VEGF-C piemīt limfangiogēns efekts un tas veicina metastazēšanos limfas mezglos (56). Piemēram, pētījumā, kurā salīdzināja seruma VEGF un VEGF-C koncentrāciju pacientiem ar PTC, pirms operācijas paņēma 85 asiņu paraugus PTC pacientiem un 44 kontroles pacientiem ar labdabīgām vairogdziedzera slimībām, kuros analizēja seruma VEGF un VEGF-C līmeni. Rezultātā konstatēja, ka pirms operācijas seruma VEGF un VEGF-C līmenis pacientiem ar PTC bija ievērojami augstāks, salīdzinot ar kontroles grupu. Seruma VEGF-C līmenis bija ievērojami augstāks gados vecākiem pacientiem, pacientiem ar audzēja izplatību ārpus vairogdziedzera un ar limfmezglu metastāzēm, savukārt VEGF ievērojami palielinājās pacientiem ar multifokāliem tumoriem abās daivās. Seruma VEGF-C ievērojami samazinājās 3 mēnešus pēc operācijas pacientiem ar PTC, bet nemainījās kontroles grupā. Tātad var secināt, ka seruma VEGF-C korelē ar limfmezglu metastāžu attīstību un audzēju izplatību pacientiem ar PTC (56).

Pētnieku grupa analizē arī **VEFG, VEGF-C un VEGF-D** imunohistoķīmisko ekspresiju pacientiem ar papillāru vairogdziedzera vēzi (PTC). Pētījumā iekļāva 115 PTC analīžu paraugus un 20 paraugus ar pacientiem ar labdabīgām vairogdziedzera



adenomām, kurus analizēja imunohistoķīmiski. Ievērojami augstāku VEGF, VEGF-C un VEGF-D ekspresiju vēroja PTC grupā, salīdzinot ar adenomu grupu (79,1%, vs 30%, 87,0% vs 15% un 72,2% vs 20,0%,  $p < 0,01$ ) VEGF ekspresija korelē ar audzēja izmēru. Statistiski ticamu, ievērojami augstāku VEGF-C un VEGF-D ekspresiju vēroja pacientiem ar pozitīvām limfmezglu metastāzēm salīdzinot ar limfmezglu negatīvo grupu (93,2% vs 80,4%,  $p < 0,05$ ; 83,1% vs 60,7%,  $p < 0,01$ ).

Tātad, var secināt, ka VEGF koncentrācija ir cieši saistīta ar PTC augšanu un izmēriem, savukārt VEGF-C un VEGF-D saistās ar limfmezglu metastāžu attīstību un var kalpot kā limfmezglu metastāžu biomarkieris (54,55,56)

Literatūrā atrod arī pierādījumus, ka **MMP-9 (matrix – metalloproteinase-9)** un VEGF pieder pie proteīniem, kuri ir visciešāk saistīti ar angioneoģenēzi. MMP ir cinka atkarīgas endopeptidāzes, kuras galvenokārt piedalās dažādu ekstracelulārā matricas proteīnu degradācijā, taču ņem dalību arī šūnas proliferācijas, migrācijas, attīstības un angiogēneses procesos. Abu minēto proteīnu līmenis korelē ar papillāra vairogdziedzera vēža progresiju, tādēļ tie varētu kalpot kā preoperatīvs marķieris pie šīs vēža formas (57).

Savukārt MMP-2 (**matrix – metalloproteinase-2**) proteīna ekspresija ir cieši saistīta ar cervikālo limfmezglu metastāžu attīstību pacientiem ar PTC. Izteikta MMP-2 imunohistoķīmiska ekspresiju konstatēta arī pacientiem ar MTC, tā cieši korelē ar MTC progresiju, tādēļ var kalpot kā viens no audzēja prognozes indikatoriem (58). Literatūras atrodami pētījumi, kuri demonstrē, ka vairogdziedzera audzēju gadījumos novēro pastiprinātu iekaisuma mediatoru ekspresiju, kas korelē ar reģionālo un attālo metastāžu attīstību. Piemēram, **šķīstošais E-selektīns**, pazīstams arī kā CD62E, ir šūnu adhēzijas proteīns, kurš ekspresējas uz endotēlija šūnām citokīnu aktivācijas ietekmē. Līdzīgi citiem selektīniem, tas spēlē nozīmīgu lomu iekaisuma attīstībā. **Šķīstošā intercelulārā adhēzijas molekula-1** (sICAM-1), pazīstama arī kā CD54, zemā koncentrācijā pastāvīgi atrodas uz leukocītu membrānām un epitēlija šūnām. Tā nodrošina šūnu savstarpējo stabilitāti un veicina leukocītu migrāciju caur asinsvadu endotēlija slāni. **Šķīstošā vaskulārā adhēzijas molekula-1** (sVCAM-1), pazīstama arī kā CD106, ekspresējas asinsvadu endotēlija šūnās tikai citokīnu stimulācijas rezultātā. Tā regulē limfocītu, monocītu, eozinofilu un citu asins šūnu adhēziju endotēlijam. sVCAM-1 veicina signālu pānesi starp leukocītiem un endotēliju, kā arī piedalās aterosklerozes un reimatoīdā artrīta attīstībā. Pētījumi demonstrē, ka šīs adhēzijas molekulas piedalās arī onkoģenēzes procesos, piemēram sICAM-1

koncentrācija serumā pieaug, palielinoties audzēja ļaundabības pakāpei: anaplastiska vairogdziedzera vēža gadījumā tā ir divas reizes augstāka salīdzinot ar papillāru vairogdziedzera vēzi (59).

### **2.3. Vairogdziedzera audzēju klasifikācija.**

Vairogdziedzera audzēju histoloģiskā klasifikācija ir atspoguļota 2. tabulā (60). Tos klasificē kā primārus, sekundārus un metastātiskus. Metastātiskos vairogdziedzera audzējus sastop reti. Lielākā daļa no primārajiem vairogdziedzera audzējiem veidojas no epitēlija šūnām, īpaši no folikulārajām vairogdziedzera šūnām(61). Šī grupa ietver lielāko daļu no visbiežāk sastopamajām vairogdziedzera neoplazmām (labdabīgas folikulāras adenomas un augsti diferencētās papillārās un folikulārās karcinomas). Zemu diferencēti un anaplastiski audzēji arī veidojas no folikulārajām šūnām un uzskata, ka tie attīstās, lēni pārveidojoties (dediferencējoties) augsti attīstītām karcinomām. Medulāras vairogdziedzera karcinomas savukārt veidojas no parafolikulārajām jeb C šūnām (61).

**2. tabula. Vairogdziedzera audzēju histoloģiskā klasifikācija**

<b>I. Primārie audzēji</b>	<b>II. Sekundārie audzēji</b>
<p>1. Epiteliālie audzēji</p> <p><b>A. Folikulāro šūnu izcelsmes audzēji</b></p> <p>A.1. Labdabīgie audzēji</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Folikulāra adenoma (klasiskā forma, onkocitārā forma)</li> </ul> <p>A.2. Potenciāli maligni audzēji</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hialinizējošs trabekulārs audzējs</li> </ul> <p>A.3. Ļaundabīgi audzēji:</p> <p>Papillārs vēzis</p> <p>Histopatoloģiskie varianti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Klasiskā papillārā forma</li> <li>• Folikulārā forma</li> <li>• Makrofolikulārā forma</li> <li>• Onkocitārā forma</li> <li>• Tīro šūnu (clear cell) forma</li> <li>• Difūzā sklerozējošā forma</li> <li>• Solīdā forma</li> <li>• Papillārs vēzis ar fokālu insulāru komponenti</li> <li>• Papillārs vēzis ar skvamozo šūnu klātbūtni vai mukoepidermoīds vēzis</li> <li>• Papillārs vēzis ar vārpstveida šūnām un gigantisko šūnu vēzis</li> <li>• Kombinēts papillārs un medullārs vēzis</li> <li>• Papillāra mikrokarcinoma</li> </ul> <p>Folikulārs vēzis</p> <p>Histopatoloģiskie varianti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Minimāli un plaši invazīvs</li> <li>• Onkocitārā forma</li> <li>• Tīro šūnu forma</li> </ul> <p>Zemu diferencēts vēzis</p> <p>Mazdiferencēts (anoplastiks) vēzis</p> <p><b>B. C šūnu izcelsmes audzēji</b></p> <p>Medulāra vairogdziedzera karcinoma</p> <p><b>C. Jaukti folikulāri un C šūnu izcelsmes audzēji</b></p> <p>Jaukta medulāra un folikulāra karcinoma</p> <p>Jaukta medulāra un papillāra karcinoma</p> <p><b>D. Epiteliālie audzēji ar dažādu vai nenoteiktu šūnu izcelsmi</b></p> <p>Mukoepidermoīda karcinoma</p> <p>Skvamozo šūnu karcinoma</p> <p>Mucinoza karcinoma</p> <p>Vārpstveida šūnu audzējs ar tīmusam līdzīgu attīstību</p> <p>Karcinoma, kas demonstrē tīmusam līdzīgu attīstību</p> <p>Ektopiska timoma</p>	<p>2. Neepiteliālas izcelsmes audzēji</p> <p>Primāra limfoma vai plazmacitoma</p> <p>Angiosarkoma</p> <p>Teratoma</p> <p>Gludo muskuļu šūnu audzēji</p> <p>Perifēro nervu apvalku audzēji</p> <p>Paragangliomas</p> <p>Solitāri fibrozi audzēji</p> <p>Folikulārs dendrītisko šūnu audzējs</p> <p>Langerhansa šūnu histiocitoze</p> <p>Rosai-Dorfman slimība</p>

## 2.4. Vairogdziedzera audzēju patoģenēze un molekulārā ģenētika.

### 2.4.1. Labdabīgo audzēju molekulāri ģenētiskās izmaiņas.

Vairogdziedzera mezglu veidošanos var izskaidrot ar vairākiem mehānismiem. Folikulāro šūnu hiperplāzija vienā vai vairākos apvidos ir mezgla veidošanās pamats. Palielināta folikulāro šūnu daudzuma rezultātā pieaug folikulu skaits un palielinās dažu folikulu lielums. Dažādām folikulāro šūnu subpopulācijām ir raksturīgs atšķirīgs proliferācijas ātrums, kā rezultātā atsevišķas šūnu grupas ekspandē, ko var novērot gan mikroskopiski, gan vēlāk arī makroskopiski. Mezgli veidojas arī sekundāri, piemēram, pēc fokālas hemorāģijas vai nekrozes, savairojoties fibrozajiem audiem (61,62,63).

Pētīti arī dažādi gēni, kuri piedalās mezglainas strumas attīstībā. Lielākā daļa no šiem kandidātgēniem iesaistas arī vairogdziedzera augšanā un hormonu sintēzē, kā galvenie jāmin tireoglobulīns (*TG*), tireoperoksidāze (*TPO*), nātrija joda simporters (*NIS*) un tireoīdstimulējošā hormona receptors (*TSHR*). Identificēti arī atsevišķi hromosomu lokusi, piemēram 14q (14 hromosomas garais plecs), kas nodēvēts par MNG-1 (multinodular goiter1), arī *TSHR* ir lokalizēts 14q.

Folikulāra adenoma ir visbiežāk sastopamais labdabīgais vairogdziedzera audzējs. Tas ir labdabīgs, iekapsulēts, neinvazīvs vairogdziedzera folikulāro šūnu audzējs. Tam ir monoklonāla izcelsme, respektīvi, tas attīstās no viena šūnu tipa, pretēji citiem vairogdziedzera labdabīgiem veidojumiem, kam raksturīga polikonāla izcelsme (64,65).

Somātiskās mutācijas, visbiežāk *RAS* gēnu punktveida aktivējošās mutācijas, raksturīgas folikulārām adenomām. Tās var būt 12.,13. un 61. kodonos visos *RAS* gēnos (*NRAS*, *KRAS* un *HRAS*). *RAS* gēnu mutācijas atrod ~30% klasisku folikulāru adenomu gadījumos, savukārt retāk tās satop onkocitāru formu gadījumos (66,67). Piemēram, aprakstīts pētījums, kurā iekļāva 45 pacientus ar onkocitāra tipa un konvencionāla tipa folikulārām adenomām, no kuriem *RAS* mutācijas konstatēja 7% onkocitāras formas gadījumos un 37% konvencionālas formas folikulāru adenomu gadījumos (18).

Somātiskās mutācijas *TSHR* un *Gsa* gēnos spēlē svarīgāko lomu hiperfunkcionējošu (toksisku) vairogdziedzera adenomu attīstībā. Šo mutāciju rezultātā attīstās hroniska cAMP signālceļa stimulācija, kam ir svarīga loma vairogdziedzera augšanas un

funkcionālās aktivitātes regulācijā, iedarbojoties TSH signālam. Punktveida mutācijas *TSHR* gēnā atrod 50-80%, savukārt *Gsa* gēnu mutācijas ~5% hiperfunkcionājošu adenomu (68).

Pārējās somātiskās mutācijas, piemēram *PI3K/PTEN/AKT* signālceļus ietekmējošas mutācijas, ir retāk sastopamas (69).

#### **2.4.2. Ļaundabīgo audzēju molekulāri ģenētiskās izmaiņas (kopsavilkums).**

Pēdējo gadu laikā sapratne par vairogdziedzera vēža molekulāriem mehānismiem ir ļoti progresējusi: zināšanas pakāpeniski tiek pārnestas uz klīnisko praksi ar mērķi uzlabot preoperatīvo audzēju diagnostiku un tālāko prognozi. Molekulārās diagnostikas mērķis ir izveidot katra audzēja ģenētisko profilu. Lielākā daļa ļaundabīgo audzēju veidojas no vairogdziedzera folikulārajām šūnām: visbiežāk sastop augsti diferencētas papillāras karcinomas (~80% gadījumu), folikulāras karcinomas (15% gadījumu) un, retāk, anaplastiskas karcinomas (<5% gadījumu) un mazdiferencētus audzējus (<1% gadījumu). Anaplastiski un zemi diferencēti vēži attīstās *de novo* (no jauna) vai no iepriekš esošas papillāras vai folikulāras karcinomas. Medulāru karcinomu sastop ~3% gadījumu un tā attīstās no vairogdziedzera parafolikulārajām jeb C šūnām (70,71). Vairogdziedzera vēžu gadījumos konstatē virkne ģenētisku mutāciju, kuru prevalence norādīta 3. tabulā .

Papillāru un folikulāru vairogdziedzera vēžu gadījumos visbiežāk sastop četras mutācijas, kuras būtiski ietekmē slimības gaitu un prognozi: tās ir *BRAF* un *RAS* gēnu mutācijas, kā arī *PAX/PPAR $\gamma$*  un *RET* gēnu inducētās hromosomu pārbūves (70).

**3. tabula. Vairogdziedzera vēža mutāciju prevalence**

<b>Audzēja veids</b>	<b>Prevalence (%)</b>
Papillārs vēzis <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>BRAF</i></li> <li>• <i>RET</i></li> <li>• <i>RAS</i></li> <li>• <i>TRK</i></li> </ul>	45 20 10 <5
Folikulārs vēzis <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>RAS</i></li> <li>• <i>PAX8/PPAR<math>\gamma</math></i></li> <li>• <i>PIK3CA</i></li> <li>• <i>PTEN</i></li> </ul>	45 35 <10 <10
Zemi diferencēts vēzis <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>RAS</i></li> <li>• <i>CTNNB1</i>(proteīns <math>\beta</math> katenīns)</li> <li>• <i>TP53</i></li> <li>• <i>BRAF</i></li> <li>• <i>AKT1</i></li> </ul>	35 20 20 20 15
Anaplastisks vēzis <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>TP53</i></li> <li>• <i>CTNNB1</i> (proteīns <math>\beta</math>-katenīns)</li> <li>• <i>RAS</i></li> <li>• <i>BRAF</i></li> <li>• <i>PIK3CA</i></li> <li>• <i>PTEN</i></li> </ul>	70 60 50 20 20 <10
Medulārs vēzis <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pārmantotā forma <i>RET</i></li> <li>• Sporādiskā forma <i>RET</i></li> </ul>	>95 50

### ***BRAF* mutācijas**

Aktivējošās *BRAF* gēna mutācijas ir visbiežākās ģenētiskās pārmaiņas, kuras atrod ~ 45% PTC gadījumos (72,73). *BRAF* V600E mutācija raksturīga PTC klasiskajam histoloģiskajam variantam, to mazāk sastop PTC folikulārajā variantā (71,72). Šo mutāciju vēro arī anaplastisku un zemi diferencētu vairogdziedzera vēžu gadījumos, kuri attīstījušies no PTC. *BRAF* V600E nav sastopama folikulāra vairogdziedzera vēža un labdabīgu vairogdziedzera mezglu gadījumos, tādēļ tā jāuzskata par specifisku marķieri papillāram vēzim un ar to saistītajiem audzējiem (72,73).

### ***RET***

*RET* gēna iesaistīšanās hromosomu pārbuvē rada ģenētiskas izmaiņas, kas galvenokārt sastopamas papillāra vēža gadījumos (74). *RET* pozitīvi papillāri vēži tipiskos gadījumos sastopami gados jauniem cilvēkiem, klasiski papillāru arhitektūru histoloģiskajā izmeklēšanā un tiem bieži attīstas limfmezglu metastāzes (74,75,76).

### ***RAS***

Punktveida mutācijas *RAS* gēnos nav specifiskas konkrētam vairogdziedzera audzēja veidam, tās satop gan folikulāru, gan papillāru vēžu gadījumos, kā arī folikulāru adenomu gadījumos (77,78,79,80).

*RAS* mutācijas arī atrod 40-50% klasisku folikulāru vēžu un 20-40% klasisku folikulāru adenomu gadījumos, zemāku incidenci vēro pie onkocitāriem audzējiem, tās atrod arī pie dažiem adenomatoziem mezgliem un mezglainu strumu gadījumos (79,80).

### ***PAX8/PPAR $\gamma$***

*PAX8/PPAR $\gamma$*  veidojas no translokācijas, savienojoties transkripcijas faktoram *PAX8* un *PPAR $\gamma$*  gēnam (81). *PAX8/PPAR $\gamma$*  mutāciju atrod 3—40% klasisku folikulāru karcinomu gadījumos, ar mazāku prevalenci onkocitāro vēžu gadījumos. Audzēji, kuros atrod *PAX8/PPAR $\gamma$*  mutāciju, ir neliela izmēra, solīdi vēži, parasti raksturīgi jauniem cilvēkiem. Šo mutāciju retāk satop folikulāru adenomu gadījumos (2-10%), kā arī papillāra vēža folikulārās formas gadījumā (81,82,83).

### **miRNS**

MikroRNS ir sīkas (20-25nt) garas, nekodējošas RNS molekulas, kas posttranskripcionālā līmenī regulē gēnu ekspresiju, nomācot mRNS translāciju vai izraisot tās degradāciju, kā arī piedalās gandrīz visu šūnas fizioloģisko procesu regulācijā (84). Izmaiņas miRNS profilā izraisa šūnu fizioloģijas novirzes, kas veicina dažādu slimību, tai skaitā audzēju, attīstību. Izmainīts miRNS profils

konstatēts daudzos audzējos – piemēram, aizkuņģa dziedzera, krūts, taisnās zarnas, prostatas, vairogdziedzera, plaušu, olnīcu u.c. vēžos (85,86).

Ir pierādīts, ka miRNS atrodamas daudzos organisma šķidrumsos un dažādos organismos, kas padara miRNS profilu par pievilcīgu potenciālo biomarķieri neinvazīva testa izstrādei dažādu slimību un audzēju diagnostikai un prognozēšanai. Patlaban ir identificētas vairāk kā 500 miRNS, savukārt katrai miRNS ir vairāk nekā 100 mērķi. Audzēja kontekstā, miRNS var darboties gan kā tumora supresors, inhibējot onkogēna translāciju, gan kā onkogēns, inhibējot tumora supresorgēnu translāciju (85,86,87).

Dažās miRNS, miR-146B, miR-221, miR222, miR181b, miR155 un miR224 izteikti pastiprināti ekspresējas papillāra vairogdziedzera vēža gadījumos, kā norāda vairāki pētījumu avoti. Interesanti, ka konkrētas miRNS ekspresijas līmenis korelē ar atrodamajām gēnu mutācijām. Piemēram, miR-187 izteikti ekspresējas audzējos ar *RET* mutācijām, miR-221 un miR-222 pastiprināti ekspresējas *BRAF* un *RAS* pozitīvos audzējos, savukārt miR-146b vēro audzējos ar *RAS* mutācijām (87,88).

#### **2.4.3. Papillāras karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas**

Papillāra karcinoma ir visbiežāk sastopamais vairogdziedzera audzējs, kuram raksturīga monoklonāla izcelsme, respektīvi, tas attīstās no viena šūnu tipa (89). PTC patoģenēze ir saistīta ar izmaiņām dažādos signālceļos, no kuriem vissvarīgākais ir MAPK (mitogēna aktivētās proteīnkināzes) ceļš, kurš regulē šūnu augšanu, attīstību un dzīvotspēju. Minētā signālceļa aktivācija vairogdziedzera šūnās rada punktveida mutācijas *BRAF* un *RAS* gēnos vai hromosomu pārbūvi, kur iesaistīti *RET* un *NTRK1* gēni, šīs ģenētiskās izmaiņas sastop >70% PTC (90,91). Neskatoties uz faktu, ka visas augstāk minētās mutācijas aktivē MAPK signālceļu, katrai no tām piemīt specifiska, unikāla ietekme uz šūnu transformāciju, jo visos gadījumos vēro atšķirīgu histoloģisko variantu un variablu klīnisko manifestāciju (90). Šīs atšķirības attēlotas 4.tabulā.



**4. tabula. Aktivējošās MAPK signālceļa mutācijas papillāras karcinomas pacientiem un to klīniskās manifestācijas**

Mutācijas veids	Vidējā prevalence	Klīnikā manifestācija
<i>BRAF</i> punktveida mutācijas	45%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gados vecāki indivīdi</li> <li>• Klasiska PTC, garo šūnu variants</li> <li>• Izplatība ārpus vairogdziedzera</li> <li>• Augstāka audzēja attīstības pakāpe manifestācijas brīdī</li> <li>• Augstāks audzēja recidīva un ar audzēju saistītās mortalitātes risks</li> <li>• Tiekme dediferencēties</li> </ul>
Hromosomu pārbūves, kur iesaistās <i>RET</i> gēns	20%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gados jaunākiem indivīdiem</li> <li>• Klasiska PTC, difūzi sklerozējošais variants</li> <li>• Jonizējošais apstarojums anamnēzē</li> <li>• Limfmezglu metastāzes</li> <li>• Zemāka audzēja attīstības pakāpe manifestācijas brīdī</li> </ul>
<i>RAS</i> punktveida mutācijas	10%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PTC folikulārs variants</li> <li>• Audzēja inkapsulācija</li> <li>• Iztrūkst limfmezglu metastāzes</li> <li>• Biezāk iespējamās distālas metastāzes</li> </ul>
Hromosomu pārbūves, kur iesaistās <i>TRK</i> gēns	<5%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nav līdz galam izpētīts</li> </ul>

### ***BRAF***

Mutācija *BRAF* gēnā ir visbiežāk satopamā ģenētiskā atradne papillāru vairogdziedzera vēžu gadījumos. Aptuveni 95% no visām mutācijām skar 1799 nukleotīdu, kā rezultātā glutamīns tie aizstāts ar valīnu 600 pozīcijā (V600E). Šis punktveida mutācijas rezultātā aktivējas *BRAF* kināze, kas ilgstoši stimulē MAPK signālkaskādi, kura savukārt veicina vairogdziedzera šūnu tumoroģenēzi.

Kā citas, daudz retākas mutācijas, kuros iesaistās *BRAF* gēns, jāmin K601E punktveida mutācija, mazas insercijas vai delēcijas 600 kodona apvidū un AKAP9-*BRAF* translokācijas, kuru visbiežāk diagnosticē indivīdiem, kuri pakļauti jonizējošai radiācijai (91,92).

### ***RET***

Hromosomu pārbūves, kur iesaistīts *RET* gēns ir ģenētisks defekts, kuru atrod lielākai daļai pacientiem ar papillāru karcinomu (93). Tās veidojas saplūstot *RET* 3' pozīcijai ar dažādu citu gēnu 5' pozīciju (71). Veseliem indivīdiem *RET* gēns neekspresējas vairogdziedzera folikulārā epitēlija šūnās, tā ekspresiju vēro tikai parafolikulārajās jeb C šūnās. Papillāru audzēju gadījumos vēro *RET* gēna receptora ekspresiju un aktivāciju, kā rezultātā rodas MAPK signālceļa stimulācija un kanceroģenēzes aktivācija. Zināms, ka *RET* mutācijas ir visbiežāk satopamas bērniem un jauniem cilvēkiem pēc jonizējošās radiācijas anamnēzē (94).

Literatūrā aprakstīti dažādi hromosomālo pārbūvju veidi, kuros iesaistās *RET* gēns piemēram, *RET/PTC1* pārbūve ir visbiežāk sastopama, to atrod ~60-70% gadījumu, *RET/PTC3* sastop ~20-30% gadījumu, savukārt *RET/PTC2* un citi pārbūvju veidi ir retākāki, mazāk kā 5% gadījumu. Vienīgais izņēmums ir papillāri vairogdziedzera vēži, kas attīstījās bērniem līdz 10 gadu vecumam pēc Černobiļas AES avārijas, kad visbiežāk vēroja *RET/PTC3* translokāciju veidu (95,96,97,98). *RET/PTC1*, kuras attīstījušās jonozējošās radiācijas rezultātā, histoloģiski raksturīgs klasiskais variants, savukārt *RET/PTC3* – solīdais variants (96).

*RET* mutācijas sastop ~20% pieaugušo ar sporādiskām vairogdziedzera karcinomām, tomēr prevalence variē dažādos pētījumos: gan analizējot dažādus ģeogrāfiskos apvidus, gan izmantojot dažādas jutības tehnoloģijas mutāciju noteikšanai (99,100).

### ***RAS***

Punktveida mutācijas *RAS* gēnos sastop apmēram 10% papillāru vēžu gadījumos un tās ir specifiskas folikulārajam papillāra audzēja variantam. Šīs mutācijas lokalizējas konkrētās *NRAS*, *HRAS* un *KRAS* gēnu vietās (12.,13.un 61.kodonā) un izsauc

hronisku MAPK un PI3K/AKT signālceļu stimulāciju (101). *RAS* gēni (*HRAS*, *KRAS*, *NRAS*) kodē proteīnus, kuri izplata signālus no šūnu membrānu receptoriem. Neaktīvā stāvoklī, *RAS* proteīns ir saistīts ar guanozīna difosfātu. Pēc aktivācijas, tas atbrīvojas no guanozīna difosfāta, aktivē MAPK un citus signālceļus, kā piemēram PI3K/AKT. Aktivēts *RAS*/GTP proteīns strauji inaktivējas guanozīntrifosfotāzes (GTP) un citoplazmas GTPāzes aktivējošo proteīnu ietekmē. Savukārt, punktveida mutācijas specifiskos *RAS* gēna domēnos spēj palielināt tā affinitāti pret GTP (mutācijas 12. un 13. kodonā) vai inaktivēt autokatalītisko GTPāzes funkciju (mutācija 61. kodonā). Rezultātā mutantais proteīns uz laiku kļūst aktīvs un stimulē tumorogēneses procesus. Vairogdziedzera audzēju gadījumos visbiežāk vēro mutācijas *NRAS* 61. kodonā un *HRAS* 61. kodonā, lai gan atrod mutācijas visos trīs *RAS* gēnos. Papillāriem vairogdziedzera vēžiem, kuriem atrod *RAS* mutāciju, histoloģiski raksturīgs folikulārais variants, šī mutācija arī korelē ar biežu audzēja iekapsulēšanos un retu metastāžu attīstību limfmezglos (101,102). Citi pētījumi savukārt demonstrē, ka *RAS* mutācijas biežāk sastop attālo metastāžu gadījumos (101,102,103,104,).

#### ***NTRK1* mutācijas**

Hromosomu translokācijas ar *NTRK1* gēna iesaistīšanos dēvē par TRK pārbūvi, kura ir visbiežākā mutācija, kas rodas aktivējoties MAPK signālceļam. *NTRK1* gēns lokalizējas 1q22 hromosomā un kodē šūnu membrānas receptorus ar tirozīnkināzes aktivitāti. Līdzīgi *RET* gēnam, *NTRK1* neekspresējas normāla vairogdziedzera folikulārajās šūnās (71). *TRK* translokācijas sastop ~5% papillāru karcinomu gadījumos, lai gan dažos reģionos tās sastop līdz pat 10-15% (71,106).

#### **PI3K/PTEN/AKT signālceļa mutācijas**

PI3K/PTEN/AKT signālceļu visbiežāk aktivē mutācijas *RAS*, vai retāk mutācijas *PIK3CA* un *PTEN* gēnos. PTC gadījumos tās satop reti, ~2-5 % gadījumu, visbiežāk tās atrod ATC gadījumos (107,108).

#### 2.4.4. Folikulāras karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas

Somātiskās mutācijas, kuras atrod folikulāru karcinomu gadījumos, ir apkopotas 5. tabulā.

5.tabula. Folikulārai karcinomai raksturīgās mutācijas.

Mutācijas veids	Konvencionālais folikulāras karcinomas variants	Onkocitārais folikulāras karcinomas variants
<i>RAS</i> punktveida mutācijas	40-50%	10-15%
<i>PAX/PPAR<math>\gamma</math></i> hromosomu pārbūves	30-40%	0-5%
<i>PI3CA</i> punktveida mutācijas	5-10%	Nav aprakstītas
<i>PTEN</i> punktveida mutācijas, sīkas delēcijas	5-10%	Nav aprakstītas
<i>GRIM-19</i> punktveida mutācijas	0	~10%

#### **RAS mutācijas**

**RAS** mutācijas ir visraksturīgākās folikulārām karcinomām. Tās atrod gandrīz pusei konvencionālu formu FTC un ar zemāk prevalenci onkocitārās formas gadījumos. Punktveida mutācijas ietver trīs kodonus 12.,13., un 61. un trīs *RAS* gēnus (*HRAS*, *KRAS* un *NRAS*). Visbiežāk skartās vietas ir *NRAS* gēna 61 kodons un *HRAS* gēna 61 kodons. Šīs mutācijas stabilizē proteīnu tā aktīvajā, GTP saistītajā formā, kā rezultātā aktivējas virkne signālceļu, galvenokārt MAPK un PI3K/AKT kaskādes (105,109,110).

RAS mutācijas kalpo kā agrīnākais un, iespējams, veicinošākais vairogdziedzera folikulārās karcinogēneses notikums. To apstiprina fakts, ka šīs mutācijas atrod ne tikai pie folikulārām karcinomām, bet arī pie folikulārām adenomām un pat hiperplastiskiem mezgliem. Pētījumos ar šūnu kultūrām, *RAS* aktivē šūnu proliferāciju un veicina hromosomu nestabilitāti, kas provocē papildus mutāciju veidošanos šūnās un maligna fenotipa attīstību. Mutantā *RAS* gēna ekspresija pelēm veicina hiperplastisku mezglu, folikulāru adenomu un folikulāru karcinomu veidošanos (66,109).

#### ***PAX 8/PPAR $\gamma$* hromosomu pārbūves**

Hromosomu pārbūves, kurās iesaistās *PAX8/PPAR $\gamma$*  gēni ir otrs visbiežākais folikulāras karcinomas ģenētiskais defekts. To atrod aptuveni trešdaļai konvencionāla tipa audzēju un 5% onkocitārās formas gadījumos. Hromosomu translokācijas rezultātā t(2;3)(q13;p25), notiek divu gēnu saplūšana: *PAX8* gēns, kurš lokalizējas

2q13 savienojas ar *PPAR $\gamma$*  gēnu, kurš lokalizējas 3p25. *PAX8/PPAR $\gamma$*  pozitīvi audzēji raksturīgi gados jauniem cilvēkiem, tie ir mazāki izmēros un izplatās vaskulāri, salīdzinot ar folikulārām karcinomām, kurām neatrod šo mutāciju (81).

*PAX8/PPAR $\gamma$*  pozitīviem audzējiem nekad neatrod *RAS* mutāciju, kas apstiprina faktu, ka FTC attīstās caur diviem noteiktiem atsevišķiem molekulāriem signālceļiem: *PAX8/PPAR $\gamma$*  vai *RAS* (81).

#### **PI3K/PTEN/AKT signālceļu mutācijas**

Fosfatidilinositola-3-kināzes (PI3K/PTEN/AKT) signālceļš spēlē svarīgu lomu šūnu izdzīvošanas, proliferācijas un migrācijas regulācijā. Vairogdziedzera audzēju gadījumos šī signālceļa aktivācija ir īpaši svarīga audzēja progresijas nodrošināšanai. Folikulāru karcinomu gadījumos tas aktivējas, veidojoties mutācijām *RAS*, *PTEN* un *PIK3CA* gēnos. *PIK3CA* gēns kodē PI3K katalītisko apakšvienību. Mutācijas *PIK3CA* gēnā vēro 6-13% gadījumu un tās parasti lokalizējas 9. un 20. eksonā, savukārt mutācijas audzēja supresorgēnā *PTEN* sastop ~6-12% folikulāru karcinomu gadījumu. Tipiskos gadījumos tās ir punktveida mutācijas vai mazas delēcijas, kas skar šī gēna 5. un 7. eksonu. (107).

#### **Ar mitohondrijiem saistītās mutācijas FC onkocitārās formas gadījumos**

Onkocitārās formas FTC veidojas no šūnām ar izmainītu citoplazmas graudainību, pstiprināti akumulējoties defektīviem mitohondrijiem. Iemesls mitohondriju izmaiņām un to saistība ar neoplastisko procesu līdz galam vēl nav izpētīta. Iespējams, ka tie atspoguļo primārās izmaiņas, kuras rada mutācijas audzējā vai sekundārās, kompensatorās izmaiņas.

Mutācijas *GRIM-19* gēnā ir identificētas onkocitārās formas gadījumos. Šis gēns kodē proteīnu, kas regulē šūnu bojāeju un veicina apoptozi, kā arī ietekmē mitohondriju metabolismu (109,110).

#### **2.4.5. Medulāras karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas.**

Terminu medulāra vairogdziedzera karcinoma pirmo reizi lietoja *Hazard* un kolēģi 1955.g. gadā. Viņi definēja īpašās audzēja iezīmes, kā piemēram, tā solīdo formu, ne-folikulāras izcelsmes šūnas, stromas amiloīdu un bioloģiskās īpašības, kuras svārstās starp papillāru un anaplastisku karcinomu (111).

1968. gadā *Meyer* un *Abdel Bari* pierādīja, ka šis audzējs sekretē kalcitonīnu un tas ir kļuvis par MTC imūnhistoķīmisko marķieri līdz par mūsdienām (112).

1961. gadā *Sipple* aprakstīja klīnisko gadījumu, kad feohromocitoma kombinējas ar vairogdziedzera audzēju un drīz vien literatūrā parādījās vēl pieci līdzīgi apraksti, tāpēc ar *Sipple* sindromu joprojām saprot MEN2A (113).

1965. gadā *Schimke* un *Hartmann* pierādīja, ka MTC un feohromocitomas kombinācijai raksturīga A-D pārmantošanas forma (114).

1968. gadā *Steiner* un līdzautori aprakstīja feohromocitomas, MTC un hiperparatireizes kombināciju un pierādīja tās A-D pārmantošanas veidu ar augstu gēna penetranci un variablu ekspresivitāti. To ierosināja dēvēt par MEN2 sindromu, savukārt hipofīzes, epitēlijķermenīšu un aizkuņģa dziedzera endokrīni aktīvo audzēju kombināciju, par MEN1 sindromu (115).

*Williams* un *Pollock* aprakstīja multiplu gļotādu neirinomu kombināciju ar MTC un feohromocitomu, kuru mūsdienās pazīst kā MEN2B, savukārt ar MEN2A saprot MTC, feohromocitomas un paratireoīdu hiperplāziju vai adenomu kombināciju (116). Pārmantotās MTC formas sastāda ~15-30% no visiem klīniskajiem gadījumiem. No tiem trīs apakštipus: MEN2A, MEN2B un ģimenes MTC (FMTC). MEN 2A ir visbiežāk sastopamā forma ~ 75-90% gadījumu, savukārt FMTC un MEN2B retāk, 15% un 5% gadījumu. Pārmantotas MTC biežums ir 1 un 30,000. Tie parasti ir gados jauni cilvēki un tipiski slimība manifestējas trešajā dzīves dekādē vai agrāk. Liela daļa no pārmantotajiem gadījumiem netiek savlaicīgi diagnosticēti un ārstēti, jo nav pieejama *RET* gēnu mutāciju molekulāri ģenētiskā diagnostika. Jāatzīmē, ka tieši MTC ir visbiežākais MEN2A, MEN2B un FMTC nāves iemesls (117,118).

Ar terminu „sporādiska MTC” saprot tos MTC gadījumus, kad neatrod MTC vai citas ar sindroma izpausmes ģimenes anamnēzē. Sporādiska MTC ir biežāk sastopama nekā pārmantotā forma, ~70-85% no visām MTC (119). Lai arī lielākā daļa no sporādiskas formas gadījumiem attīstās, pateicoties iegūtām somātiskām mutācijām, tomēr 1-10% gadījumos vai pat vairāk, atrod pārmantotās *RET* mutācijas. Ja pierāda šo mutāciju klātbūtni, diagnoze nomainās par labu MTC pārmantotai formai. Daudziem no šiem indivīdiem tā ir „de novo” (no jauna) diagnosticēta mutācija un tādejādi manifestējas līdzīgi pārmantotai MTC (120).

### **Pārmantotās *RET* mutācijas**

Ģimenes MTC attīstās, pateicoties pārmantotai mutācijai *RET* gēnā. Jau 1985. gadā atklāja galveno mutanto gēnu, pateicoties kuram veidojas gan MEN2, gan Hiršprunga slimība (121).

Punktveida mutācija *RET* gēnā ir nosakāma visiem indivīdiem ar pārmantotas slimības tipisko klīnisko, patoloģisko un histoloģisko ainu. Specifisks šīs mutācijas rašanās iemesls līdz šim nav zināms, savukārt tā nosaukums *RET*, kas veidojas saīsinājuma „REarranged during Transfection”. Lielākā daļa no pārmantotajām mutācijām ir punktveida mutācijas (viena nukleotīda substitūcija). Jāatzīmē, ka *RET* gēns piedalās arī PTC patoģenēzē, kad daļa no gēna aktivējas hromosomālas translokācijas rezultātā (121,71).

*RET* gēnam ir aptuveni 21 eksonu (aktīvie, proteīnus kodējošie rajoni) un aptuveni 55 000 bāzu pāru (bp). *RET* receptors aktivē signālceļus, kuri veicina šūnu proliferāciju, diferenciaciju, motilitāti un hemotaksi. Pieauguša cilvēka organismā *RET* receptori ekspresējas vairogdziedzera C šūnās un virsnieru, simpātisko gangliju un nieru šūnās. Nervu caurulītes šūnas ekspresē *RET* receptorus embrionālās attīstības periodā un pēc tie migrē uz dažādām ķermeņa vietām. *RET* nodrošina normālu autonomās nervu sistēmas un ekskretorās sistēmas attīstību. Kopš pirmo reizi atklāja aktivējošās *RET* gēna punktveida mutācijas kā primāro MTC iemeslu, ir identificētas virkne mutācijas tā ekstracelulārā cisteīna un intracelulārā tirozīnkināzes domēnā. Mutācijas piecos cisteīna kodonos ~95% gadījumu ir sastopamas pie MEN2A un 85% gadījumu pie FMTC. Četras no tām ir lokalizētas 10. eksonā (609., 611., 618. un 620. kodonos) un viena 11 eksonā (634. kodonā) un gandrīz visos gadījumos cisteīns ir aizstāts ar kādu citu aminoskābi. 634. kodons ir galvenā mutāciju vieta MEN2A sindroma gadījumā, tas ir ietverts ~80-90% gadījumu.

Aptuveni 95% no MEN2B sindroma gadījumiem ir saistīti ar punktveida mutācijām 16. eksona 918. kodonā, kā rezultātā metionīns tiek aizstāts ar treonīnu (121,71).

### **Somātiskās mutācijas**

Somātiskās mutācijas *RET* gēnā atrod ~30-60% sporādisku medullāru karcinomu gadījumu. Visbiežāk metionīns tiek aizstāts ar treonīnu 918. kodonā un to sastop 75-95% visiem sporādisku MTC gadījumiem. MTC, kurām ir pierādītas somātiskās *RET* mutācijas, biežāk metastāzējas gan reģionālos limfmezglos, gan attāli, un ir saistītas ar sliktāku prognozi salīdzinot ar *RET* negatīvām medullārām karcinomām (117,71).

#### 2.4.6. Anaplastiskas karcinomas molekulāri ģenētiskās izmaiņas.

Anaplastiska vairogdziedzera karcinoma var attīstīties trīs patoģenēzes veidos. Pirmkārt, daļēji dediferencējoties papillārai karcinomai, otrkārt, daļēji dediferencējoties folikulārai (onkocitāras formas) karcinomai un treškārt, 'de novo' (no jauna), bez iepriekš esošas augstu diferencētas karcinomas. Šo hipotēzi pierāda fakts, ka bieži histoloģiski augsti diferencētu papillāru un folikulāru karcinomu paraugos atrod zemu diferencētas karcinomas apvidus, pārsvarā indivīdiem ar ilgstošu vairogdziedzera mezglu anamnēzi (71).

Somātiskās mutācijas, kuras atrod anaplastisku karcinomu gadījumos, iedala divās grupās. Pirmā ietver ģenētiskos bojājumus, kuri raksturīgi gan anaplastiskiem, gan augsti diferencētiem audzējiem, piemēram *BRAF* un *RAS* mutācijas (4,71). Fakts, ka šīs mutācijas atrod augsti diferencētu audzēju gadījumos, liecina par to iesaistīšanos agrīnajos karcinoģenēzes procesos un, ka tās vienas pašas nav spējīgas inducēt audzēja dediferencēšanos (122). Papildus jāpiezīmē, ka *RET* mutācijas un hromosomu pārbūves, kurās iesaistās *PAX8/PPAR $\gamma$*  gēni, bieži sastop augsti diferencētu papillāru un folikulāru karcinomu gadījumos, savukārt tās ir reti atrodamas anaplastisku karcinomu gadījumos, kas liecina, ka tās nav saistītas ar audzēja dediferensāciju.

Otrā grupa ietver *TP53* un *CTNNB1* mutācijas, kuras bieži atrod anaplastisku karcinomu gadījumos, bet reti augsti diferencētu audzēju gadījumos. Ar lielāko varbūtību tās ir atbildīgas par anaplastisko transformāciju (119,123,).

#### **RAS**

*RAS* mutāciju prevalence anaplastisku vairogdziedzera karcinomu gadījumos svārstās no 10-60%, lielos pētījumos ~30% gadījumu. Tāpat kā augsti diferencētu karcinomu gadījumos, mutācijas visbiežāk skar *NRAS* gēna 61 kodonu un *HRAS* gēna 61 kodonu, retāk skartie lokusi ir *NRAS*, *KRAS* un *HRAS* 12/13 kodons. Mutantais *RAS* gēns parasti aktivē MAPK un PI3K/AKT signālu kaskādes. Lai gan *RAS* mutācijas veidojas agrīnā tumorogēneses procesā, tieši tās ir atbildīgas par audzēja dediferensāciju. To skaidro ar mutantā *RAS* spēju veicināt hromosomu nestabilitāti un mijiedarbību ar bojāto DNS, ko var novērot šūnu kultūrās. Hromosomu nestabilitāte tālāk predisponē audzēja šūnas iegūt papildus mutācijas un tādā veidā pakāpeniski attīstās anaplastiskais process. Pētījumos in vitro novērots, ka aktivētais *RAS* proteīns samazina audzēja biomarkieru ekspresiju, piemēram TG, TSHR, NIS un TTF1 šūnu kultūrās (124).



### ***BRAF***

*BRAF* mutācijas sastop ~25% anaplastisku vairogdziedzera karcinomu gadījumos. Daudzas no *BRAF* pozitīvām anaplastiskām karcinomām satur augstu diferencētus PTC apvidus, jo šo mutāciju visbiežāk atrod papillāru karcinomu gadījumos. Līdzīgi kā PTC, arī anaplastiskiem audzējiem atrod V600E mutāciju, kura aktivē MAPK signālu kaskādi un veicina papillāras karcinomas dediferensāciju (4).

### **PI3K/PTEN/AKT (Fosfatidilinositola-3-kināzes) signālceļu mutācijas**

Mutācijas *PIK3CA* gēnā sastop ~12-23%, savukārt *PTEN* gēnā ~6-16% anaplastisku karcinomu gadījumos. Līdz galam nav skaidrs, vai šīs mutācijas parādās agrīnās vai vēlīnās tumorogēneses stadijās. Tās sastop ar līdzīgu vai pat nedaudz augstāku prevalenci salīdzinot ar augsti diferencētām karcinomām. Pretēji *BRAF* un *RAS* mutācijām, tās nemēdz kombinēties viena audzēja ietvaros. *PIK3CA* un *PTEN* mutācijas visbiežāk sastop kopā ar *BRAF* vai *RAS* mutācijām, kas rosina domāt, ka tās attīstās vēlīnos karcinogēneses posmos. Arī pakāpeniska AKT stimulācija ir nepieciešama adenomas pārveidei par augsti diferencētu karcinomu un tālāk par anaplastisku karcinomu (122).

### ***TP53* mutācijas**

*TP53* gēna mutācijas ir visbiežākās ģenētiskās pārmaiņas anaplastisku karcinomu gadījumos, tās sastop ~50-80% gadījumu. *TP53* ir kodola transkripcijas faktors un tas spēlē svarīgu lomu šūnu cikla regulācijā, DNS atjaunošanās procesos, apoptozes procesos un funkcionē kā audzēju supresorgēns. Mutācijas, kuras traucē *TP53* piesaistīšanos noteiktām DNS sekvencēm, inhibē tā transkripcionālo aktivitāti. *TP53* mutācijas detektē vēlīnos tumorogēneses posmos, tām ir svarīga loma audzēja izplatībā un sabrukšanas procesos, tāpēc tās praktiski nekad neatrod augsti diferencētu audzēju gadījumos. Novērots, ja audzējs satur gan augsti diferencētas karcinomas, gan anaplastiskas karcinomas rajonus, tad šīs mutācijas ir nosakāmas tikai anaplastiskajos reģionos (120).

### ***CTNNB1* (proteīns β- Katenīns) mutācijas**

Mutācijas *CTNNB1* gēnā, kas kodē β katenīnu, arī iesaistās audzēja anaplastiskajā transformācijā. β katenīns ir citoplazmas proteīns, kas piedalās šūnu adhēzijas procesos, kā arī Wnt (wingless) signālceļā. Iztrūkstot Wnt signālam, β katenīns ekspresējas tikai uz šūnu virsmas, kamēr citoplazmas proteīns tiek degradēts strauji pēc fosforilizēšanās, iedarbojoties multiproteīnu kompleksam, kas satur APC (adenomatous polyposis coli). Wnt antagonizē šo degradāciju un ļauj β katenīnam iekļūt kodolā, akumulēties un stimulēt mērķa gēnus. Gan APC, gan β katenīna mutācijas pastiprina šūnu degradāciju un veicina tumoroģenēzi. Tās sastop ~65% anaplastisku karcinomu gadījumos, savukārt ļoti reti augsti diferencētu audzēju gadījumos (125,126).

## **2.5. Vairogdziedzera audzēju potenciālo biomarkieru identifikācija**

**2.5.1. Trefoilfaktori (*TFFs*).** Trefoilfaktori ir mazi kompakti proteīni, kas kopā ar mucīniem sintezējas gremošanas traktā. Zīdītājiem ir zināmi 3 trefoilfaktori: *TFF1*, agrāk pazīstams kā „ar krūts vēzi saistītais peptīds pS2”, *TFF2*, agrāk pazīstams kā „spazmolītiskais polipeptīds SP” un *TFF3*, agrāk zināms kā „intestinālais trefoilfaktors”. Pateicoties kompaktai struktūrai trefoilfaktori ir stabili un nepakļaujas proteolītiskai degradācijai kuņģī un tievajās zarnās. Trefoilfaktoros galvenokārt sekretē epitēlija audi, taču kuņģis nav vienīgais orgāns, kur tie ekspresējas. Piemēram, *TFF1* un *TFF3* ekspresija pierādīta arī zemžokļa dziedzeros, tievajās un resnajās zarnās, aizkuņģa dziedzera vadu epitēlijā, lielajos žultsvados, augšējos un apakšējos elpceļos. In vitro un in vivo dati demonstrē, ka trefoilfaktori iesaistās homeostāzes uzturēšanā un gļotādu virsmu reģenerācijas procesos (127,128).

Trefoilfaktori spēlē nozīmīgu lomu vairogdziedzera attīstībā. *TFF1*, *TFF2* gēni ir iesaistīti vairogdziedzera ģenēzes agrīnā embrionālā periodā.

*TFF1*, zināms arī kā *TITF1*, *NKX2-1*, kodē homeodomēna saturošu transkripcijas faktoru, kas spēj saistīties ar *TG* un *TPO* gēna promoteriem un embriogēnēzē piedalās medialā vairogdziedzera aizmetņa endodermas slāņa sabiezēšanā. Tas lokalizējas 14 hromosomas garajā plecā (14q13) un pieder *NKX2* saimes transkripcijas faktoriem. Tā ekspresija parādās, sākoties endodermas sabiezēšanai pirmatnējā rīkles daļā. Tas

turpina ekspresēties vairogdziedzērī visu embrionālo un fetālo periodu, kā arī pēc dzimšanas, kad vēro arī tā ekspresiju C šūnās.

*TFF2*, apzīstams arī kā *FOXE1*, *TITF2* vai *FKHL15* lokalizējas 9 hromosomas garajā plecā (9q22). Šis transkripcijas faktors ir kodola proteīns, kas piesaistās *TG* un *TPO* promoteriem. Tā ekspresija sākas, attīstoties vidējam vairogdziedzera aizmetnim. Līdzīgi kā *TFF1* un *PAX8*, arī *TFF2* ekspresējas visā vairogdziedzera embrionālās attīstības periodā un turpinās arī pēc dzimšanas. *TFF2* spēlē galveno lomu vairogdziedzera mediālā aizmetņa migrācijas procesā.

Līdz šim vismazāk ir zināms par *TFF3* lomu. Tas galvenokārt ekspresējas tievo un resno zarnu šūnās, kā arī siekalu dziedzeros (128,129). Pirmo reizi *TFF3* mRNS ekspresijas atšķirības starp vairogdziedzera folikulārām adenomām un karcinomām aprakstīja pētījumā 2004. gadā Japānā (127,128,129). Izanalizējot 54 folikulāru adenomu un 29 folikulāru karcinomu gadījumus, pierādīja, ka *TFF3* ekspresija ievērojami samazinās septiņos folikulāru karcinomu gadījumos, kuras klīniski bija izteikti invazīvas, ar pierādītām distālām metastāzēm. Aprēķinātā *TFF3* specifitāte, sensitivitāte un precizitāte demonstrētajā pētījumā bija 80,0%, 91,5% un 87,5%. Pirmie rezultāti neizraisīja ievērojamu interesi pētnieku vidū, iespējams divu galveno iemeslu dēļ: pirmkārt, vairogdziedzera ļaundabīgo audzēju gadījumos *TFF3* mRNS ekspresija ir pazemināta, atšķirībā no vispārpieņemtā uzskata, ka lielākajā daļā ļaundabīgo audzēju molekulārie marķieri demonstrē pastiprinātu ekspresiju, tādejādi mazinot *TFF3* kā diagnostiskā biomarķiera vērtību. Otrkārt, vidējā *TFF3* mRNS precizitāte, folikulāras karcinomas diagnostikā, svārstās no 80-90%, kas tiek uzskatīta par diezgan zemu, salīdzinot ar citiem molekulārajiem marķieriem (129,130). Tomēr, turpinoties pētījumiem, arī citi marķieri nedemonstrēja gaidītos rezultātus, tāpēc *TFF3* mRNS ekspresijas pētījumi atsākās. Jau 2005. gadā, *Taniguchi* un līdzautori, izmantojot unikālu gēnu ekspresijas analizēšanas sistēmu, noskrīnēja vairāk nekā 2000 gēnus, kurus ekspresē vairogdziedzera folikulārie audzēji un pierādīja, ka *TFF3* ir viens no visdaudzsološākajiem molekulārajiem marķieriem folikulāras karcinomas diagnostikā (131). 2007.gadā *Foukakis* un līdzautori vēlreiz pārvērtēja 26 visperspektīvākos gēnus no iepriekšējā pētījuma un secināja, ka *TFF3* un *hTERT* mRNS ekspresijas kombinācija vislabāk palīdz atšķirt folikulāru adenomu no karcinomas (132). Vēl vienu gēnu „pārvērtēšanu” izdarīja *Krause* un līdzautori 2008. gadā, analizējot 10 kandidātģēnus un pierādīja, ka *TFF3* ekspresija vairogdziedzera ļaundabīgu audzēju gadījumos ir pazemināta un svarīgi, ka jebkura cita gēna

kombinācija ar *TFF3*, vislabāk palīdz atšķirt folikulāru adenomu no karcinomas (133). *TFF3* pastiprināta ekspresija vērojama normālos vairogdziedzera audos, adenomatozu strumu gadījumos, 80% folikulāru adenomu gadījumos un 20% minimāli invazīvu folikulāru karcinomu gadījumos, savukārt, pazemināta ekspresija raksturīga anaplastiskām karcinomām, papillārām karcinomām, plaši invazīvām folikulārām karcinomām, 80% minimāli invazīvām folikulārām karcinomām un 20% folikulārām adenomām (132,133,134, 135).

*TFF3* pazemināta ekspresija ir novērota visu maligno vairogdziedzera folikulāro audzēju gadījumos: gan plaši invazīvas folikulāras karcinomas, gan arī minimāli invazīvas karcinomas gadījumos ar distālām metastāzēm. Tātad, vairogdziedzera folikulāro šūnu audzējus var klasificēt divās grupās: labdabīgi vairogdziedzera audzēji ar paaugstinātu *TFF3* ekspresiju un, ar lielāko varbūtību, ļaundabīgi vairogdziedzera audzēji ar samazinātu *TFF3* ekspresiju. Tikai pēdējā grupa ir indikācija ķirurģiskai ārstēšanai (140). *TFF3* priekšrocības vairogdziedzera audzēju diagnostikā aprakstītas diskusijas daļā. Folikulāro tumoru klasifikācija pēc *TFF3* mRNS ekspresijas ir parādīta 6.tabulā(133).

**6. tabula. Folikulāro tumoru klasifikācija pēc *TFF3* mRNS ekspresijas.**

<i>TFF3</i> mRNS	Histoloģiskā klasifikācija	% ekspresija audzējos
Audzēji, kuri ↑ekspresē <i>TFF3</i>	Folikulāra adenoma	84%
	Minimāli invazīva folikulāra karcinoma	29%
Audzēji, kuri ↓ekspresē <i>TFF3</i>	Folikulāra adenoma	16%
	Minimāli invazīvas folikulāras karcinomas	71%
	Minimāli invazīvas folikulāras karcinomas ar distālām metastāzēm	100%
	Plaši invazīvas folikulāras karcinomas	100%

### 2.5.2. Galektīni

Galektīni ir galaktozes saistošie lektīni, kuri ekspresējas dažādās organisma šūnās. Tie veicina audzēju izpaltību prostatas, vairogdziedzera, taisnās zarnas, endometrija, kuņģa un plaušu vēžu gadījumos.

Viens no potenciālajiem vairogdziedzera molekulārajiem biomarkšiem ir **LGALS3 (proteīns galektīns 3)**. Tas ir līdz šim visplašāk pētītais vairogdziedzera audzēju marķieris, kuru varētu izmantot klīniskajā diagnostikā. Galektīnu 3 kodē gēns *LGALS3*, kurš piedalās šūnu savstarpējās adhēzijas procesos, regulē apoptozi un šūnu proliferāciju, tā pastiprināta ekspresija korelē ar vairogdziedzera audzēju agresīvu augšanu un metastazēšanos(136,137). Galektīns 3 ekspresējas gan šūnas citoplazmā, gan kodolā. Galektīna 3 ekspresija šūnas kodolā parādās, palielinoties vairogdziedzera transkripcijas faktora *TFF1* aktivitātei. Pie tam, in vitro, ievadot galektīnu-3 normāla vairogdziedzera folikulārās šūnās, attīstās maligna transformācija. Patlaban ir pierādīts, ka galektīns 3 ir svarīgs  $\beta$  katenīna-Wnt signālceļa mediators (136,137,138).

### 2.5.3. Katenīni

Katenīni ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) ir citoplazmas proteīni, kuri regulē kadherīna intracelulāro stabilitāti, nodrošinot saikni starp kadherīnu un aktīna filamentiem šūnas skeletā, kas ir pamats šūnas adhezijai ar šūnu.

$\beta$  katenīns ir epitēlijšūnu savstarpējās adhēzijas strukturālais komponents. Tas piesaistās E-kadherīna intracelulārajam domēnam un savieno to ar aktīna filamentiem. Šis process ir epitēlijšūnu slāņa veseluma veidošanās pamats, savukārt atikusī brīvā  $\beta$ -katenīna daļa normāli degradējas, jo uz to iedarbojas multiproteīnu komplekss, kurš sastāv no aksīna, tumora supresora APC (adenomatous polyposis coli) un serīna/ treonīna kināzes glikogēnsintetāzkināzes 3 $\beta$  (GSK 3 $\beta$ ). Aksīns un APC kalpo kā nesējolbaltumi, kuri cieši savieno GSK 3 $\beta$  un  $\beta$ -katenīnu, tādējādi veicinot  $\beta$ -katenīna fosforilāciju (125).

Virkne pētījumu demonstrē, ka pastāv dažādi ģenētiski defekti, kuri bremzē brīvā  $\beta$ -katenīna degradāciju. Savukārt, palielināts brīvā  $\beta$ -katenīna līmenis ir saistīts ar pieaugošu onkoloģisku risku.

Wnt faktori ir proteīnu saime, kuri cieši kontrolē brīvā  $\beta$ -katenīna līmeni. Tie ir glikoproteīni, kuri piesaistās pie šūnas virsmas *Frizzled* receptora. Wnt signāli darbojas pretēji multiproteīnu kompleksa (aksīns, tumora supresors APC un GSK 3 $\beta$ ) aktivitātei. Rezultātā brīvais  $\beta$ -katenīns netiek degradēts, tas akumulējas citosolā un

iekļūst šūnas kodolā, kur savienojas ar transkripcijas faktoriem un aktivē gēnu ekspresiju, kuri tālāk aktīvi inducē šūnu proliferāciju.

Wnt proteīni piedalās gan normālas, gan patoloģiskas endokrīnās funkcijas regulācijā. Pētījumi demonstrē, ka piemēram Wnt 1 proteīna pastiprinātu ekspresiju vēro krūts vēža gadījumos, Wnt 3a proteīns veicina  $\beta$ -katenīna translokāciju šūnas kodolā, kur tas mijiedarbojas ar androgēnu receptoriem un piedalās prostatas vēža attīstībā, savkārt Wnt 5a palielinātu ekspresiju vēro diferencētu vairogdziedzera audzēju gadījumos (126).

#### **2.5.4. Kadherīni**

Kadherīni ir transmembrānu glikoproteīni, kas ir atbildīgi par kalcija atkarīgo šūnas/šūnas adhēziju. Ja kadherīni funkcionē normāli, tad, inaktivējoties citām adhēzijas sistēmām, epitēlijšūnu slāņa veselums cieš minimāli.

E-kadherīns ir galvenais kadherīnu saimes pārstāvis, kurš spēlē galveno lomu epitēlijšūnu veseluma uzturēšanā un potenciālajā tumorogēnēzē. E-kadherīna zudums veicina audzēja šūnu invāziju un saistās ar nelabvēlīgu slimības prognozi. Parasti tā sintēze samazinās vai iztrūkst pie dažādiem epitēliāliem tumoriem, t.s. krūts, taisnās zarnas, kuņģa, nieru, barības vada u.c. audzēju gadījumos. Imūnhistoķīmisko analīžu sērijas demonstrē, ka E-kadherīns ir vairogdziedzera audzēju diferencēšanas pakāpes marķieris. Zemu diferencētu karcinomu gadījumos, E-kadherīns sastopams ļoti nelielos daudzumos vai pat iztrūkst, kas liecina par šūnu veseluma un vienotības zudumu, savkārt augstu diferencētas karcinomu gadījumos (PTC un FTC) E-kadherīna ekspresija nav reducēta (139).

#### **2.5.5. Citi biežāk sastopamie proteīni, kuri iesaistīti vairogdziedzera onkoģenēzē**

***MET*gēns/HGF** (hepatocītu augšanas faktora receptors – angl. hepatocyte growth factor) ir pastiprināti ekspresēti ~90% PTC gadījumos. Hepatocītu augšanas faktors ir citokīns, kuram piemīt virkne bioloģisku funkciju, tas veicina mitogēnēzi, morfoģenēzi, šūnu kustīgumu un invāziju. Ir zināms, ka *MET* gēns neekspresējas vai lokāli ļoti minimāli ekspresējas normālos vairogdziedzera audos, tā pastiprināta ekspresija vairogdziedzera audzēju gadījumos rosina domāt ka HGF-*MET* sistēma ir saistīta ar audzēju attīstību un progresiju (140,141,142).

**CCND1 gēns** (proteīns **ciklīns D1**) piedalās šūnu cikla regulācijā. Šī gēna mutācijas un pastiprināta ekspresija ietekmē šūnu cikla regulāciju, tāpēc ir iespējama onkoģenēzes attīstība (143).

**CITED1 gēns**(proteīns **Cbp/p300-interacting tranactivator 1**) ir šūnu cikla regulējošs gēns, kurš kodē proteīnu/p300- transkripcionālo koaktivatoru . Šis proteīns, pazīstams arī kā melanocītu specifiskais gēns 1, spēle lomu melanocītu pigmentācijas nodrošināšanā (144).

**DPP4 gēns** (proteīns dipeptilpeptidāze 4) kodē ar šūnu adhēziju saistītās molekulas. Dipeptilpeptidāze 4 ir unikāls, ar šūnas plazmatisko membrānu saistīts enzīms, kas piedalās šūnas metabolisma procesos, kaulu smadzeņu reģenerācijā, glikozes metabolisma ceļos, audzēju augšanā un šūnu savstarpējās adhēzijas regulācijas procesos (145,146)

**BIRC5 gēns** (proteīns survivīns) ir viens no galvenajiem gēniem, kas inhibē apoptozes procesus. Survivīns inhibē enzīma kaspāzes aktivāciju, kā rezultātā tiek bremzēta apoptoze jeb šūnu programmētā bojāeja. Turpretim apturot survivīna darbības signāļceļus, apoptoze pastiprinās un audzēja progresija mazinās (146).

## **2.6.Vairogdziedzera audzēju attēldiagnostika**

### **2.6.1.Vairogdziedzera mezglu ultrasonogrāfija**

Vairogdziedzera ultrasonogrāfija ir svarīgākā vairogdziedzera mezglu diagnostikas metode, jo tā ir plaši pieejama, lēta, neinvazīva metode. Augstas izšķirtspējas ultrasonogrāfija ļauj atklāt sīkus mezglus, kurus nevar izpalpēt, tā palīdz diferencēt cistas no solīdiem veidojumiem. Atšķirībā no CT un MRI, US ir reālā laika metode. Ar ultrasonogrāfijas palīdzību var detektēt 5 reizes vairāk mezglu nekā ar vairogdziedzera palpāciju un divas reizes biežāk, gadījumos, ja vienīgā mezgla lielums pārsniedz 2 cm. Augstas frekvences US zondes ļauj detektēt struktūras, kuru izmērs nepārsniedz 1mm. Pēc sonogrāfijas ieviešanas klīniskajā praksē, vairogdziedzera mezglu prevalence pieauga no 17% līdz pat 67% vispārējā populācijā. Ultrasonoskopiskais skrīnings ir rekomendēts visiem pacientiem ar palielinātu vairogdziedzera vēža risku (vairogdziedzera vēzis ģimenes anamnēzē, MEN2b vai jonizējošais starojums anamnēzē) (147,148).

Ņemot vērā, ka vairogdziedzera mezgli ir ļoti izplatīti un tikai neliela daļa no tiem ir maligni, US sniedz papildus informāciju, kas palīdz novērtēt mezgla malignitātes iespējamību, izvērtēt, kuriem mezgliem nepieciešama tievās adatas punkcijas biopsija US kontrolē (150). Ultrasonogrāfiskās pazīmes, kas palīdz atšķirt labdabīgus mezglus no ļaundabīgiem, norādītas 7.tabulā (147,148,149).



**7.tabula. US pazīmes, kuras izmanto benignu un malignu mezglu diferenciālajā diagnostikā.**

<b>Benigni</b>	<b>Maligni</b>
Normāla ehogenitāte vai hiperehogēna struktūra	Hipoehogēna struktūra
Rupji kalcināti	Mikrokalcinātu klātbūtne
Plāna, labi izteikta halo zona	Iztrūkst halo zona
Regulāras robežas	Neregulāras robežas
Nevēro invazīvu augšanu	Invazīva augšana
Nav reģionālas limfadenopātijas	Reģionāla limfadenopātija
Vāja, perifēra vaskularizācija	Intranodulāra, centrāla vaskularizācija
Mezglā platums > augstumu	Mezglā augstums > platumu

**Mezglu kalcināti** ir viena no visinformatīvākajām ultrasonoskopiskajām pazīmēm. Tie var izskatīties kā hiperehogēni punktiņi (mikrokalcināti), kā smalka lokveida apmale (t.s. olas čaumalas kalcināti), rupjas, biezas līnijveida struktūras (makrokalcināti). Rupjo kalcinātu parādīšanās nereti korelē ar ilgi noritošu Hašimoto tireoidītu vai sen diagnosticētiem benigniem mezgliem, jo rupjo kalcinātu depozi tie liecina par audu deģenerācijas un fibrozes procesu (151). Tāpat arī t.s. olas čaumalas kalcināti pārsvarā atrodami labdabīgos mezglos. Turpretim mikrokalcināti solidā mezglā ir specifiski papillārai vairogdziedzera karcinomai. Vairogdziedzera mikrokalcināti ir psamomma ķermenīši, 10-100µm apaļi, lamināri kalcija depozi. Savukārt punktveida kalcināti mēdz līdzināties t.s. komētas astes fenomenam, artefaktam, kuru novēro cistiskos un koloīdos mezglos. Tas attīstās, ultraskaņas vilnim mijiedarbojoties ar koloīda kristāliem, un šī atradne >85% gadījumu liek domāt par labdabīgu mezglu. Tomēr kopumā, kalcināti raksturīgi tikai ~30% mezglu un to neesamība neizslēdz malignitāti, tāpēc nepieciešami papildus diagnostiskie pierādījumi (152).

**Krasi izteikta hipoehogēnitate** raksturīga maligniem mezgliem: gan karcinomas, gan primāras vairogdziedzera limfomas tipiski manifestējas kā solīdi hipoehogēni veidojumi, salīdzinot ar normālo vairogdziedzera parenhīmu. Abu augstāk minēto

pazīmju kombinācijai raksturīga augsta jutība (87%), bet zems specifiskums (15,6%-27%) un zema pozitīvā paredzošā vērtība (152,153,154).

**Halo zona** jeb hipoehogēna josla ap vairogdziedzera mezglu ir US pazīme, kas raksturīga benignam mezglam, tās specifiskums sasniedz pat 95% (152,153,154,155).

**Neasi konturēts** mezgls aprakstīts gadījumos, ja vairāk nekā 50% no tā robežas nav skaidri vizualizējama (151,152,156). Neasa kontūra un neregulāras robežas liek domāt par malignu infiltrāciju apkārtējā vairogdziedzera parenhīmā. Tomēr literatūrā analizētā neaso kontūru un neregulāro robežu jutība ļoti variē, vidēji 7 līdz 97%.

**Mezglā augstums>platums** raksturīgs ovālas formas mezgliem. Pēdējo laikā ir ļoti daudz pētījumu, kas apliecina, ja mezgla augstums pārsniedz platumu, tas ir potenciāli maligns. Šīs pazīmes vidējais specifiskums ir 93% (156,157).

**Vaskularitāti** vairogdziedzera mezgla analizē ar doplerogrāfijas palīdzību. Malignitātes gadījumā raksturīga izteikta hipervaskularitāte, kuru pārsvarā vizualizē mezgla centrālajā daļā. To sastop 69-74% visu vairogdziedzera vēžu gadījumos (158). Visu US pazīmju jutības, specifiskuma, pozitīvās un negatīvās paredzošās vērtības izteikti variē dažādos pētījumos un ne vienas atsevišķas US pazīmes diagnostiskā precizitāte nepārsniedz 75%. Piemēram, hipoehogenitātei ir relatīvi augsta jutība, bet zems specifiskums (58,5%). Turpretim citiem kritērijiem, kā piemēram, mikrokalcinātu esamībai ir ļoti augsta pozitīva paredzošā vērtība, (41,8-94,2%), bet tos atrod tikai 26,1-59,1% no visiem vairogdziedzera audzējiem (zema jutība). Kombinējot vairākus US kritērijus, diagnostiskā precizitāte pieaug līdz 78%. (159,159,160,164).

Pēdējo gadu pētījumi pierāda, ka pacientiem ar multipliem mezgliem ir tāda pati malignitātes iespēja kā solitāra mezgla gadījumos (~14%): šis viedoklis atšķiras no tradicionālās skolas, kas mācīja, ka malignitātes risks samazinās pieaugot mezglu daudzumam (161). Multiplu mezglu gadījumos ATA rekomendē izdarīt FNA vismaz četros mezglos, kuri ir visdubiozākie (162).

Literatūras dati demonstrē, ka katras pazīmes individuālais jutīgums un specifiskums dažādos pētījumos atšķiras, tādēļ nav neviena ideāla augstas jutības un augstas pozitīvās paredzamās vērtības pazīme, kas ļautu diagnosticēt vairogdziedzera vēzi (164). (skat. 8.tabulu).

**8. tabula. Vairogdziedzera mezglu US malignitātes pazīmju vidējā jutība un specifiskums.**

Mezгла US pazīme	Vidējā jutība (intervāls)	Vidējais specifiskums(intervāls)	Atsauces
Mikrokalcināti	42,3 (29-59,2)	91,2 (85,5-95)	2,11,14,16
Neregulāras robežas	57,7 (47,8-77,5)	85,1 (74,3-95,3)	2,14, 15
↑ asiņu plūsma doperogrāfiski	77,2 (56,7-92,3)	79,3 (34,7-97,4)	14,15,18
Augstums>platums	58,2 (32,7-83,6)	81,4 (60-92,5)	14, 17,19
Hipoehogēnitāte	53,4 (26,5-87,1)	73,2 (43,4-94,3)	16, 17, 18, 20
Iztrūkst halo zona	63,6 (32,5-88,9)	61,2 (22,2-80)	16, 19, 20

### 2.6.2.Vairogdziedzera limfmezglu ultrasonogrāfija.

Lielākai daļai vairogdziedzera vēža pacientu reģionālajos limfmezglos atrod metastāzes. Pēc pēdējām ATA rekomendācijām, visiem pacientiem, kuri nosūtīti uz tireoīdektomiju ar aizdomām par vairogdziedzera vēzi, limfmezglu metastāžu skrīningam indicēta rutīnas kakla US. Tas ir svarīgi divu iemeslu dēļ: pirmkārt, US pozitīva atradne izmaina operācijas apjomu un otrkārt, var izvairīties no atkārtotas operācijas, slimības persistences vai recidīva dēļ. Vidējo US jutību, detektējot limfmezglu metastāzes, ir grūti novērtēt, jo lielākā daļa no benigniem limfmezgļiem nav palielināti un tos nereti nevizualizē. Publicēti vairāki pētījumi, kas analizē US jutību un specifiskumu, vizualizējot reģionālos limfmezgļus (skat. 9. tabulu), ar mērķi izslēgt vairogdziedzera malignitāti (166,167,170).

**9. tabula. Vairogdziedzera limfmezglu US malignitātes pazīmju vidējā jutība un specifiskums.**

L/m US pazīme	Vidējā jutība (intervāls)	Vidējais specifiskums (intervāls)	Atsauces
Cistisks	45,8 (11-75)	95,8 (83,3 -100)	27,28,30
Kalcinātu klātbūtne	43 (40-46)	100	27,28
Hiperehogēnitāte	68,7 (40-96)	77,35 (57,1-93,3)	27,28,30
Solbiati indekss <2 (garākais/īsākais diametrs)	65,4 (23,8-92)	59,9 (11,2-81)	27,28,30,31
Perifērā asins plūsma	75,1 (40-98)	78,5 (57,1-100)	25,28,31

Tipiskos gadījumos reaktīvs limfmezgls atšķiras ar ovālu formu un hiperehogēnu līniju (hilum) centrā. Hilārā līnija liecina par intranodālu taukaudu un asinsvada klātbūtni veselā limfmezglā. Neoplastiska infiltrācija parasti sākotnēji parādās limfmezgla ārējā apvalkā, kur notiek mezgla barošanās, kā rezultātā pazūd hilārā līnija, kas nereti ir pirmā limfmezglu malignas transformācijas pazīme. Vēlāk arī izmainās limfmezgla forma, no ovālas uz ieapaļu. Abas šīs US pazīmes: hilārās līnijas iztrūkums un limfmezgla forma ir kritērijs, lai uzskatītu limfmezglu par malignu (163,166,176). Jāatzīmē, ka arī benigns limfmezgls var izskatīties aizdomīgi apaļas formas, ja to vizualizē transversā plaknē, tāpēc ir ļoti svarīgi izmeklējumu izdarīt gan transversā, gan sagitālā (longitudinālā) plaknē, lai korekti izvērtētu mezgla formu un hilārās līnijas esamību. Objektīvākais veids, kā izvērtēt limfmezgla apaļumu ir Solbiati indekss (SI) – garākās un īsākās ass attiecība. Ja attiecība ir  $> 2$ , jādomā par ovālas formas benignu mezglu, ja  $< 2$ , apaļas formas malignu mezglu. Solbiati indeksa jutība un specifiskums dažādos pētījumos atšķiras, bet tas kalpo kā lietderīgs indikators, izvērtējot pārējās US pazīmes (165).

Benigni limfmezgli parasti ir hipoehogēni (vai tādas pašas ehogenitātes kā apkārtējā muskulatūra). Papillāra vairogdziedzera vēža (PTC) metastātiskie limfmezgli turpretim ir jauktas ehogenitātes vai hiperehogēni. Hiperehogenitāte saistīta ar koloīda depoziātiem un mezgla malignu infiltrāciju. Jauktas ehogenitātes limfmezgli rodas gadījumos, kad tajos vēro cistisku komponenti un/vai kalcinātus. Cistiski limfmezgli ir augsti specifiski malignitātei. Tos biežāk vēro bērniem un jauniem cilvēkiem, cistiska deģenerācija raksturīga agresīviem tumoriem, kuri rezultējas ar izteiktu limfmezglu nekrozi un koloīda produkciju. Arī limfmezglu kalcināti ir augsti specifiski vairogdziedzera vēzim, tos vēro PTC un MTC gadījumos (166,172,174).

Vēl viena US pazīme, kas palīdz novērtēt malignitātes risku, ir asinsplūsma limfmezglā. Tipiski benignos mezglos asins ieplūst pa centrālo hilāro daļu. Ja mezgls infiltrējas ar malignām šūnām, asinsplūsma hilārā zonā ir traucēta un vēro haotisku asins plūsmu caur limfmezglu uz perifēriju, gar kapsulu. Krāsu doplera US labi palīdz identificēt šo pazīmi un aizdomīgos mezglus atlasīt tālākai FNA(169,171,173).

Arī limfmezglu lokalizācija palīdz apstiprināt malignitāti. Visbiežāk metastātiskajā procesā iesaistās kakla centrālā zona, tomēr šai zonā preoperatīvā US diagnosticē tikai ~50% no maligniem limfmezgliem, jo vizualizāciju traucē pats vairogdziedzeris. Totāli izoperējot vairogdziedzeri, kakla centrālās zonas vizualizācijas jutība

ievērojami uzlabojas un šis apvidus kalpo kā kritiskā zona audzēja recidīva izvērtēšanai, jo metastāzes parasti atrod kakla centrālajā un apakšējā laterālajā līmenī. Palielināti limfmezgli submandibulārajā reģionā raksturīgi iekaisīgam procesam, ko bieži rada mikrotraumas un infekcijas mutes dobumā (167,170,171).

Limfmezglu malignitātes diagnostikā visinformatīvāk ir izdarīt citoloģisku izmeklēšanu kombinācijā ar Tg līmeņa noteikšanu, kas ir diezgan stabils, jo šūnu materiālā to neietekmē serumā cirkulējošu Tg antivielu klātbūtne (175).

### **2.6.3. Kļūdaini pozitīvas vairogdziedzera US atradnes.**

Ultrasonogrāfijas speciālistam vienmēr jādomā, kādas struktūras var atgādināt recidivējošu vairogdziedzera vēzi. Pēcoperācijas vairogdziedzera ložā labi var vizualizēt barības vadu. Tas atrodas pa kreisi, uzreiz blakus trahejai, tāpēc šo struktūru var atpazīt, lūdzot pacientu norīt. Raksturīga gaiši balta zibšņa vizualizācija, gaisam izejot caur barības vadu. Līdzīga atradne, kura atgādina papillāra vairogdziedzera vēža recidīvu vai vairogdziedzera mezglu neoperētā vairogdziedzerī, ir faringozofageāls divertikuls (176,177). Par to jādomā, ja veidojums ir kustīgs, izdarot rīšanu. Malignus limfmezglus US var atgādināt arī epitēlijķermenīšu adenoma, pēcoperācijas granuloma vai pēcoperācijas neirinoma (178). Epitēlijķermenīšu adenomas visbiežāk ir lokalizējas vairogdziedzera ložā, tās atrod arī gar karotīdajām artērijām vai augšējā videnē. Tipiskos gadījumos tās izskatās kā bagātīgi vaskularizēti hipoehogēni veidojumi, kuras vienā galā var pamanīt barojošo artēriju. Granulomas savukārt rodas šuvju vietās un lokalizējas vairogdziedzera ložā vai laterālajā kakla daļā. Tās parasti ir hipoehogēnas ar ehogēnu centrālo zonu, vietā, kur bijusi šuves uzlikšanas vieta. Neirinošas ir līdzīgas granulomām un reaktīviem limfmezgliem, jo arī tās ir hipoehogēnas, saplūstošas masas ar centrālu hiperehogēnu zonu. Tās atpazīst pēc virspusējās lokalizācijas un sāpēm pie palpācijas. Atšķirībā no reaktīviem limfmezgliem, neirinošas un granulomas ir samērā maz vaskularizētas (179). Vizualizējot augšējo videni, jauniem cilvēkiem var ieraudzīt tīmusu. Kakla tīmiskie audi nav bieža atradne, tomēr par tiem jāatceras diferenciālās diagnostiskās procesā. Tie atgādina mežģīnes, jo sastāv no neskaitāmām fibrozām septām, kuras caurauž asinsvadu tīklojums (176,178).

#### **2.6.4. Indikācijas tievās adatas punkcijas (FNA) biopsijai US kontrolē.**

Tievās adatas punkcijas biopsija ir metode, ar kuras palīdzību iegūst materiālu citoloģiskai izmeklēšanai. Metodei raksturīga augsta jutība (65-98%) un specifiskums (72-100%) vairogdziedzera vēža diagnostikā un tā joprojām ir zelta standarts vairogdziedzera mezglu un limfmezglu malignitātes diagnostikā. Pētījumi demonstrē, ka neskaidros gadījumos, FNA samazina diagnostiskas tireoīdektomijas nepieciešamību līdz pat 50% gadījumu (185).

Lai izvērtētu, vai palpējamam mezglam nepieciešama FNA, jāievāc detalizēta anamnēze un jāveic fizikāla izmeklēšana, ietverot kakla limfmezglu palpāciju. Mezglu laboratoriskajā diagnostikā izmanto seruma TSH līmeņa noteikšanu. Ja TSH ir supresēts, tas ir signāls, ka mezgls varētu būt toksiska adenoma un diagnozes apstiprināšanai indicēta scintigrāfija. Taču vairāk nekā 90% gadījumu TSH līmenis ir normāls vai paaugstināts, tāpēc šajos gadījumos nākošais solis pēc ultrasonogrāfijas ir tievās adatas punkcijas biopsija (180,181).

Vairogdziedzera mezgliem, kurus atklāj, nejauši izdarot doplerogrāfiju galvas un kakla asinsvadiem, malignitātes risks ir aptuveni 10%. Šiem mezgliem ir indicēta detalizēta US izmeklēšana. Ja mezgla izmērs pārsniedz 1-1,5 cm, jāizdara FNA, ja vien mezgls nav vienkārša cista. FNA var aizstāt ar klīnisku novērošanu (ar 6-18 mēnešu intervāliem) arī gadījumos, ja mezgls ir >1cm un nav atrodams US malignitātes riska pazīmes (181,182,183).

**Vairogdziedzera citoloģiskās diagnostikas terminoloģija un morfoloģiskie kritēriji.** Neskatoties uz FNA jau ilglaicīgo pielietojumu klīniskajā praksē, joprojām dažādas profesionālas organizācijas piedāvā atšķirīgu terminoloģiju, diagnostiskos kritērijus, novērošanas taktiku un terapijas iespējas, joprojām nav universāli akceptētu vadlīniju un rekomendāciju. Viena no visbiežāk praksē lietotajām klasifikācijas sistēmām sastāv no sešām kategorijām. Pēc tās FNA aspirātus iedala: labdabīgos (benignos), atipiskos, aizdomīgos uz folikulāru neoplazmu (indeterminētos), aizdomīgos uz malignitāti, malignos vai nedagnostiskos paraugos (5,184,185).

##### **Benigna citoloģiskā atradne.**

Šai kategorijai raksturīgs zems malignitātes risks (<1%) un visbiežāk to sastop mezglainas strumas, Hašimoto tireoīda, hiperplastisku, adenomatozu vai koloīdu mezglu gadījumos, tāpēc tālākā taktika ļoti variē dažādu institūciju un klīnicistu vidū.

Ņemot vērā, ka kļūdaini negatīvas atbildes sastop līdz pat 5% benignu vairogdziedzera mezglu gadījumos, rekomendē rūpīgu klīnisko novērošanu. Pacientiem ar multipliem vairogdziedzera mezgliem ir tāds pats malignitātes risks kā viena mezgla gadījumos, tāpēc novērošanas protokols neatšķiras. Mezgliem ar aizdomīgām US pazīmēm ir indicēta biežāka (reizi 6 mēnešos) klīniska un US novērošana dinamikā, neskatoties uz benignu FNA atradni. Labdabīgus mezglus dinamikā novēro ar palpācijas un US palīdzību. Ja konstatē būtisku mezgla palielināšanos vai negatīvas izmaiņas US (piemēram, neregulāras mezgla robežas vai centrālu hipervaskularizāciju), rekomendē atkārtotu FNA vai ķirurģisku terapiju. (164,165). US ir vislabākā metode, lai detektētu izmaiņas mezgla izmēros. Lai arī nav universāla pieņēmuma, ko nozīmē „būtiska mezgla palielināšanās”, gan ATA (American Thyroid Association), gan NCI (National Cancer Institute), deklarējusi, ka mezgla tilpuma pieaugums par 20% ar minimālu palielināšanos (vismaz par 2mm) divās vai vairākas dimensijās, uzskatāms par nozīmīgu. Abas asociācijas arī rekomendē tālāku klīnisko novērošanu citoloģiski benigniem un viegli palpējamiem mezgliem, kuri parādījušies no jauna 6-18 mēnešu intervālu (162,180).

#### **Atipiska citoloģiskā atradne.**

**Malignitātes risks svārstās starp 5-10%.** Ļoti heterogēna grupa, ietver visus gadījumus, kad citoloģija nav pārliecinoši benigna, tomēr morfoloģiska atipija ir nepietiekoša, lai apstiprinātu folikulāru neoplazmu, Hurtle šūnu neoplazmu vai izteiktu aizdomas par malignitāti (186). Daudzi autori uzskata, ka šī kategorija ir ļoti apgrūtināta klīnicistiem, lai lemtu par tālāko taktiku, tāpēc to būtu jāoptimizē un citoloģiskajos paraugos to nevajadzētu sastapt biežāk par 7% gadījumu (187). Novērošanas taktikas ir ļoti pretrunīgas, jo uzskata, ka šai grupai raksturīgs zems specifiskums un pozitīvā paredzošā vērtība. Daži autori rekomendē atkārtot FNA, US un veikt izmeklēšanu ar radioaktīvajiem izotopiem, kā arī neskaidros gadījumos izdarīt imunocitoķīmiju, lai uzlabotu diagnostisko precizitāti un dinamikā sekot līdzi US malignitātes riska pazīmēm. NCI dažiem pacientiem rekomendē neatkarīga eksperta, citologa konsultāciju, gadījumos, ja sākotnēja diagnoze ir atipija vai nenoteikta rakstura bojājums (185).

### **Aizdomas par folikulāru neoplazmu (indeterminēta atradne).**

**Malignitātes risks svārstās no 20-30%.** Šī kategorija ietver ne-papillārus folikulāras morfoloģijas vai Hurtle šūnu bojājumus vai neoplāzijas. Lielākā daļa pētījumu demonstrē, ka līdz pat 20% no vairogdziedzera mezgliem, kas citoloģijā klasificēti ka folikulāras neoplazmas, operācijas histoloģiskais materiāls apstiprina malignitāti. Malignitātes risks Hurtle šūnu bojājumu gadījumos pārsniedz 20%, gadījumos, ja mezgls ir  $\geq 3,5$  cm. Pacientiem ar FNA pierādītu folikulāru neoplazmu rekomendē ķirurģisku eksplorāciju. Parasti izdara lobektomiju ar sekojošu materiāla histoloģisko izmeklēšanu, lai novērtētu mezgla kapsulāro un vaskulāro invāziju. Ja histoloģijā diagnosticē papillāru vai folikulāru karcinomu, jāizdara totāla tireoīdektomija, jo lobektomija ir pietiekama tikai mazu, neinvazīvu audzēju gadījumos (183,185).

### **Aizdomas par malignitāti.**

Šī kategorija ietver:

- Aizdomas par papillāru vēzi (PTC). **Lielākai daļai no šīs grupas 50-75% atrod papillāras karcinomas folikulāro variantu.**
- Aizdomas par medulāru (MTC) vēzi. Šī grupa ietver visus gadījumus, kad citoloģiskā atradne ir nepietiekoša, lai pārliecinoši apstiprinātu diagnozi un izdarītu imunohistoķīmisko kalcitonīna ekspresijas noteikšanu, tāpēc rekomendē papildus noteikt kalcitonīna līmenis asins serumā.
- Aizdomas par citu primāru vai sekundāru (metastātisku) vēzi.
- Aizdomas par anaplastisku vēzi (totāla bojāto šūnu nekroze).

Pacientiem, kuriem FNA demonstrē aizdomas par malignitāti, nepieciešam ķirurga konsultācija. Operācijas steidzamība ir atkarīga no histoloģiskā apraksta un pacienta vispārējā stāvokļa (183,185).

### **Apstiprināta malignitāte.**

Citoloģiskais paraugs pārliecinoši apstiprina papillāru, folikulāru (FTC), medulāru, anaplastisku vai metastātisku vēzi. Kļūdaini pozitīva atradne malignitātes gadījumos ir <1%. Šajos gadījumos visiem pacientiem indicēta ķirurģiska ārstēšana. Ja pastāv izdomas par metastātisku vēzi, citologam jānorāda iespējamā primārā audzēja lokalizācija. NCI ierosinājis, ka metastāžu gadījumā nepieciešama vairogdziedzera ķirurģija, ja vien nav klīnisku kontraindikāciju (162,183,185).



**Nediagnostiska atradne.** Ar to saprot gadījumus, kad analizējamā paraugā atrod ļoti maz šūnu vai iztrūkst vairogdziedzera folikulāras šūnas, kā arī situācijas, kad materiāls pārsvarā satur perifērās asinis vai cistas saturu. Ja materiāls satur cistas šķidrumu, lielākā daļa autoru rekomendē atkārtot FNA 6-18 mēnešu laikā, jo parasti cistiskie bojājumi ir saistīti ar zemu malignitātes iespēju. Solīdu mezglu gadījumos, rekomendē atkārtot FNA, tiklīdz kā iespējams, un, ja atkārtoti saņem nediagnostisku atbildi, jāapsver ķirurģiska ārstēšana, jo malignitātes iespēja ir 9% no šiem gadījumiem. Gadījumos, ja pacients izvēlas nogaidošu taktiku un mezgls ir  $\leq 1$  cm, tad alternatīva ķirurģijai ir ultrasonoskopiskā novērošana. Ja dinamika konstatē mezgla palielināšanos, tad rekomendē atkārtotu punkciju vai ķirurģisku ārstēšanu (185,186).

### **2.6.5. Vairogdziedzera scintigrāfija**

Vairogdziedzera scintigrāfiju galvenokārt izmanto autonomi funkcionējošu mezglu diagnostikai. Vadoties pēc radioaktīvā joda uzkrāšanās, mezglus klasificē „aukstajos” (samazināta  $J^{131}$  uzkrāšanās), „karstajos” (pastiprināta uzkrāšanās mezglā, supresēta uzkrāšanās blakusesošajos audos) vai „siltajos” (uzkrāšanās līdzīga blakusesošajiem audiem). Karstie mezgli reti ir ļaundabīgi, turpretim auksto mezglu gadījumā malignitātes risks ir 5-8% (162,163,187). Ņemot vērā, ka kopumā ~85% no vairogdziedzera mezgliem ir „aukstie”, scintigrāfijai nav liela pozitīvā paredzamā malignitātes vērtība. Tādēļ ATA (American Thyroid Association) vadlīnijas un ASV endokrinologu koledža (AACE) rekomendē vairogdziedzera scintigrāfiju tikai gadījumos, ja TSH ir supresēts (vai zemi normāls reģionos ar joda deficītu) vai, ja pastāv aizdomas par retrosternālu strumu vai ektopiski lokalizētiem vairogdziedzera audiem. Savukārt ETA (Eiropas vairogdziedzera asociācija) rekomendē scintigrāfiju visiem pacientiem ar multinodulāru kāksli. Citas diagnostikas metodes, piemēram MRI un CT izmanto daudz retāk, jo tām nav priekšrocību malignitātes diagnostikā. Retrosternālu strumu gadījumos, kas vizualizācija ar ultrasonoskopiju ir ierobežota, CT vai MRI varbūt nepieciešama (162,163).

### **2.6.6. Vairogdziedzera elastogrāfija**

Samērā jauna diagnostikas metode ir vairogdziedzera elastogrāfija. Tai piemīt izteikta jūtība, kas demonstrē blīvuma un elastības atšķirības starp veselām un izmainītiem audiem. Elastogrāfijas procesā uz audiem iedarbojas ar paaugstinātu spiedienu un vēro audu saraušanās atšķirības. Metode nav ieteicama, ja mezgla sastāvā ir >20% cistiskas struktūras, rupji kalcināti, ja mezgls < 8mm, kā arī savstarpēji saaugušiem mezgliem (188). Pēc literatūras datiem, elastogrāfija ir ļoti jutīga (97%) un specifiska metode (100%), taču tai nepieciešams speciāls aprīkojums un ilgāks izmeklēšanas laiks, kā arī papildus pieredze un lielāks pacientu skaits, lai to varētu izmantot ikdienas praksē (188,189).

### **3. Darba mērķis**

Šī promocijas darba mērķis ir vairogdziedzera labdabīgo un ļaundabīgo audzēju klīnisko un molekulāro marķieru izpēte un identifikācija, vairogdziedzera ļaundabīgu audzēju agrīnās diagnostikas uzlabošanai.

### **4. Darba uzdevumi**

1. Identificēt klīniskos un bioķīmiskos riska faktorus, kuri palielina vairogdziedzera malignitātes risku.
2. Novērtēt vairogdziedzera mezglu US malignitātes riska pazīmju sastopamību.
3. Novērtēt tievās adatas aspirācijas (FNA) diagnostisko precizitāti un salīdzināt citoloģijas rezultātus ar pēcoperācijas histoloģisko atradni.
4. Salīdzināt adhēzijas molekulu koncentrāciju asinīs starp veseliem indivīdiem un pacientiem ar vairogdziedzera audzējiem un novērtēt koncentrācijas dinamiku pēc vairogdziedzera operācijas.
5. Salīdzināt molekulāro biomarķieru ekspresiju starp labdabīgiem un ļaundabīgiem vairogdziedzera audzējiem un veseliem vairogdziedzera audiem; izveidot biomarķieru paneli, kas ļautu pēc punkcijas biopsijas novērtēt potenciālos vairogdziedzera audzēju riska marķierus.

## 5. Pacienti un izmantotās metodes

Promocijas darbā apkopotie pētījumi ilga no 2007. līdz 2011. gadam un noritēja P.Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā, RAKUS, Latvijas Biomedicīnas Pētījumu un Studiju Centrā un Teikas klīnikā. Pētījuma veikšanai tika saņemta LU EKMI klīniskās izpētes Ētikas komisijas atļauja, kas izdota 05.11.2007.

**Pirmajā posmā** veicām pacientu anketēšanu un analizējām fenotipiskos riska faktorus. Pētījumā iekļāvām 124 pacientus ar labdabīgiem mezgliem un ļaundabīgiem vairogdziedzera audzējiem, kuriem bija plānota vairogdziedzera operācija. Pirms operācijas apkopojām hormonu analīžu rezultātus (TSH mIU/L). Fenotipisko riska faktoru analīze aprakstīta sadaļā 6.1.

Lielākai daļai no anketētajiem pacientiem (n=99) apkopojām pirmsoperācijas pieejamos ultrasonoskopiskos aprakstus, kuros analizējām vairogdziedzera US malignitātes riska pazīmes. US malignitātes riska pazīmju analīze un rezultāti aprakstīti 6.2.sadaļā.

Fenotipisko anketu un US datu statistiskai apstrādei izmantojām SPSS18. Windows versiju. TSH līmeņa statistiskajā analizē izmantojām nepārtraukto t testu. Statistisko ticamību noteicām ar Pearson Chi – Square testu, ja paredzamais gadījumu skaits bija >5, bet ar Fisher's Exact Test – ja paredzamais gadījumu skaits bija <5. Statistikas testiem izvēlējāmies tradicionālo nozīmīguma līmeni  $\alpha = 0,05$ , tādēļ par statistiski ticamiem rezultātiem uzskatījām tos, kuru p vērtība bija <0,05. Papildus analizējam arī potenciālos riska faktorus: pacienta vecumu, iedalot grupās (<45, 45-59, 60-74,  $\geq 75$  gadi) un pacienta dzimumu.

**Otrajā posmā** novērtējām vairogdziedzera US malignitātes riska pazīmju (nehomogēna struktūra, mikrokalcinātu esamība, izteikti pazemināta ehogenitāte, neasa kontūra, nelīdzena virsma, centrāla haotiska vaskularizācija) diagnostisko vērtību un to sastopamību četrās citoloģiskajās grupās (benigns, atipisks, aizdomīgs uz malignitāti un maligns), kā arī salīdzinājām punkcijas biopsiju rezultātus ar pēcooperācijas histoloģisko atradni. Lai savāktu pietiekoši lielu pētāmo pacientu skaitu, retrospektīvi analizējām 428 pacientus ar vairogdziedzera mezgliem, kuriem izdarīja vairogdziedzera ultrasonogrāfiju ar sekojošu tievas adatas aspirācijas biopsiju „Teikas klīnikā” laika periodā no 2009. līdz 2010. gadam viens pieredzējis radiologs diagnostis. Tievās adatas punkcijas biopsijas laikā katram pacientam materiālu aspirēja uz 4 priekšmetstikliņiem. Materiāla apstrādē izmantoja hematoksilīna eozīna

krāsošanas metodi. Paraugus uzskatīja par nediagnostiskiem gadījumiem, ja izrādījās nepietiekošs šūnu materiāls, respektīvi vairāk nekā sešas šūnu grupas saturēja mazāk par 10 šūnām katra un nebija pierādījumu par atipisku šūnu klātbūtni.

Ultrasonoskopisko malignitātes riska pazīmju datu statistiskajā apstrādē izmantojam  $\chi^2$  testu, ja paredzamais gadījumu skaits bija  $>5$  un *Fischer's exact test*, ja sagaidāmo gadījumu skaits apakšgrupā bija  $<5$ . Otrā darba posma rezultāti aprakstīti sadaļā 6.2.

**Trešajā posmā** 42 pacientiem, kuriem laikā no 11.2007.līdz 05.2008 P.Stradiņa KUS ķirurģijas klīnikā izdarīja vairogdziedzera operāciju mezglu dēļ, savācām asiņu paraugus adhēzijas molekulu noteikšanai pirms operācijas un pacienti nodeva kontroles asiņu paraugus divus mēnešus pēc vairogdziedzera operācijas. P.Stradiņa KUS Endokrinoloģijas centra zinātniskajā laboratorijā analizējām šķīstošā sE-selektīna, sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācijas maiņu pacientiem ar labdabīgiem vairogdziedzera mezgliem. Pētījumā iekļāvām pacientus, kuriem nekonstatēja galvenos adhēzijas molekulu koncentrāciju ietekmējošos faktorus: smēķēšanu, koronāro sirds slimību, autoimūnu vairogdziedzera slimību un citas lokalizācijas audzējus. Pēcoperācijas histoloģijas atradnē visos gadījumos konstatēja folikulāru adenomu vai mikro/makro koloīdu strumu. Adhēzijas molekulu koncentrācijas līmeni serumā noteica ar xMAP tehnoloģiju (Luminex-200 analizatoru). Trešā darba posma rezultāti aprakstīti sadaļā 6.3.

**Ceturtajā posmā** izdarījam molekulāro marķieru ekspresijas analīzes operācijas laikā savāktajos audu paraugos. Pētījumā iekļāvām 105 pacientus ar labdabīgiem un ļaundabīgiem vairogdziedzera audzējiem, kuriem veica subtotālu vai totālu tireoīdektomiju P.Stradiņa KUS vai RAKUS laika periodā no 2008. līdz 2010.gadam. Visiem pacientiem operācijas laikā paņēma audu paraugu histoloģiskai izmeklēšanai, kā arī pētījumam, pēdējo ievietoja RNS stabilizatorā (RNALater® (Applied Biosystems, ASV) un līdz analizēšanai uzglabāja saldētavā  $-20^{\circ}\text{C}$ . Histoloģisko izmeklēšanu veica pieredzējis patologs un diagnozi apstiprināja pēc PVO standarta histopatoloģiskajiem kritērijiem. Analizējamajos paraugos 61 gadījumā apstiprināja labdabīgus vairogdziedzera audzējus: folikulāras adenomas mikro vai makrofolikulāro formu, savukārt 44 gadījumos ļaundabīgus audzējus: 33 papillāras vairogdziedzera karcinomas (PTC), 5 medulāras karcinomas (MTC), 3 anaplastiskas karcinomas (ATC) un 3 folikulāras karcinomas (FTC). Visus pacientus informējām

par pētījumu, iepazīnājam ar pacienta informācijas lapu, un dalībnieki parakstīja piekrišanas formu, kuru apstiprināja LU EKMI ētikas komiteja.

Pētījumā analizējām mRNS ekspresijas līmeni 8 potenciālajiem vairogdziedzera tumorogēneses gēniem – *BIRC5*, *CCND1*, *CDH1*, *CITED1*, *DPP4*, *LGALS3*, *MET* and *TFF3* ar RT-PCR analizatoru. Vispirms izdarījām RNS ekstrakciju un kDNS sintēzi, pēc tam kvantitatīvo RT-PCR.

- Totālās RNS izdalīšana no audiem un kDNS sintēze
  1. Adu paraugus pēc operācijas ievietojām RNAlater<sup>®</sup> (Ambion, ASV) reaģentā.
  2. Adu paraugus homogenizējām, izmantojot FastPrep-24 instrumentu, lizējošo matrici D (MP Biomedicals, ASV) un 1ml lizējošā šķidrums (Lysis solution<sup>®</sup> Ambion, ASV).
  3. Totālas RNS izdalīšanai izmantojām MirVana<sup>®</sup> (Ambion, ASV) un sekojām ražotāja instrukcijām.
  4. Paraugus apstrādājām ar „DNA-free<sup>™</sup>” kitu (Ambion, ASV) pirms kDNS sintēzes.
  5. Paraugos noteicām RNS koncentrāciju ar NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000 (Thermo Scientific, ASV) spektrofotometru.
  6. kDNS sintēzei izmantojām High-Capacity kDNS Reversās transkripcijas kitu (Applied Biosystems, ASV) un sekojām ražotāja instrukcijām.
- Kvantitatīvā RT-PCR

Kvantitatīvās RT-PCR (qPCR) reakcijai veikšanai izmantojām 2µl of 1:10 atšķaidītu kDNS reaģentu maisījumu, ABSolute Blue<sup>™</sup> SYBR green Low ROX (Thermo Scientific, ASV) un reakciju izdarījām ar ABI7500 sekvenēšanas sistēmu (Applied Biosystems, ASV). Reakcijai izveidojām atbilstošās primeru koncentrācijas, kuru sekvenses norādītas 10. tabulā.

**10. tabula. qPCR izmantotie praimeru**

Gēna nosaukums	Sekvence (5'→3')	PCR produkta lielums (bp)	Gēnu Bankas pieejas no.
<b>Kandidātģēni</b>			
LGALS3 F	CTGATTGTGCCTTATAACCTGC		
LGALS3 R	AAGCAATTCTGTTTGCATTGG	100	NM_002306.3
TFF3 F	GTACGTGGGCCTGTCTGC		
TFF3 R	GATCCTGGAGTCAAAGCAGC	121	NM_003226.3
DPP4 F	TGATGCTACAGCTGACAGTCG		
DPP4 R	CTGAGCTGTTTCCATATTCAGC	164	NM_001935.3
CITED1 F	GCTCTGAAATGCCAACAACG		
CITED1 R	TGGTTCCATTTGAGGCTACC	174	NM_001144886.1
MET F	TCTGCCTGCAATCTACAAGG		
MET R	AAGGTGCAGCTCTCATTTCC	153	NM_001127500.1
CDH1 F	AGAAACAGGATGGCTGAAGG		
CDH1 R	AGCACCTTCCATGACAGACC	199	NM_004360.3
CCND1 F	TGGTGAACAAGCTCAAGTGG		
CCND1 R	ATCACTCTGGAGAGGAAGCG	280	NM_053056.2
BIRC5 F	CAGCCCTTTCTCAAGGACC		
BIRC5 R	AAGCAGAAGAAACTGGGC	152	NM_001168.2
<b>References ģēni</b>			
PGK1 F	CTTAAGGTGCTCAACAACATGG		
PGK1 R	ACAGGCAAGGTAATCTTCACAC	119	NM_000291.3
POLR2A F	GGGTCATCTTCCCAACTGGAG		
POLR2A R	CACCAGCTTCTTGCTCAATTCC	164	NM_000937.4

Lai izvēlētos labākos references ģēnus, izmantojām 7 references kandidātģēnu paneli (*PGK1*, *PLA2*, *TUBA3*, *ACTB*, *GAPDH*, *TBP*, *POLR2A*) un pārbaudījām to mRNS stabilitāti 10 vairogdziedzera audu paraugos pieciem pacientiem (2 PTC, 3 FA, 5 normāli audi) un atlasījām divus visstabilākos ģēnus (*POLR2A* and *PGK1*), izmantojot brīvo pieeju GeNorm Win 3.4 (<http://medgen.ugent.be/~jvdesomp/genorm>). Katram kDNS paraugam aprēķinājām normalizācijas faktoru (NF), izmantojot GeNorm Win3.4, balstoties uz *PGK1* and *POLR2A* ekspresijas līmeni. Attīrīto kDNS no 10 vairogdziedzera audu paraugiem izmantojām kā references paraugus un tos iekļāvām katrā eksperimentā. Katram ģēnam noteicām relatīvo ekspresijas kvantitāti (*RQ*), kuru aprēķinājām salīdzinot tā ekspresiju konkrētajā paraugā ar šī ģēna visaugstāko konstatēto ekspresijas līmeni. Relatīvās kvantitātes (*RQ*) ģēnu ekspresijas aprēķināšanā izmantojām  $2^{-\Delta CT}$  metodi un

datus normalizējām, izmantojot katra parauga normalizācijas faktoru NF ( $RQ=(2^{\Delta CT})/NF$ ).

Molekulāro biomarķieru ekspresijas datu statistiskajā apstrādē izmantojam neparametrisko Manna-Vitneja  $U$  testu, ar kura palīdzību salīdzinājām katra analizētā kandidātģēna relatīvās kvantitātes (  $RQ$  ) vērtības divās paraugu grupās (labdabīgi mezgli pret ļaundabīgiem mezgliem; ļaundabīgi mezgli pret visiem relatīvi normālajiem kontroles audu paraugiem). Relatīvā kvantitāte ir veids kā visērtāk var izteikt gēnu ekspresiju, tā ir relatīva, jo tiek normalizēta pret normalizācijas faktoru, kas tiek aprēķināts no citu gēnu relatīvās ekspresijas, kuru ekspresija ir relatīvi nemainīga, neatkarīgi no parauga, visbiežāk šie ir references gēni jeb t.s. *house-keeping* gēni.

Statistikas testiem tika izvēlēts tradicionālais nozīmīgums līmenis  $\alpha = 0,05$ , tādēļ par statistiski ticamiem rezultātiem tika uzskatīti tie, kuru  $p$  vērtība bija  $< 0,05$ .

Lai novērtētu katra individuālā biomarķiera diagnostisko vērtību un pēc tam arī kopējā biomarķieru modeļa diagnostisko vērtību, konstruējām ROC līknes, tad aprēķinājām laukumu zem līknes. Biomarķieru sliekšņa vērtības jeb robežvērtības noteikšanai ROC līknēs izmantojām Jūdena indeksu, kuru iegūst, kombinējot kopējo jutību un specifiskumu ( $\text{jutība} + \text{specifiskums} = J - 1,0$ ; jo tuvāk 1, jo testa izpildījums labāks).

Daudzfaktoru loģistisko regresiju (multivariate logistic regression) izmantojām, lai noteiktu saistību starp vairogdziedzera mezglu pēcoperācijas histoloģisko atradni un gēnu ekspresijas rezultātiem. Sākotnējais daudzfaktoru loģistiskās regresijas modelis ietvera visu noteikto gēnu iespējamās savstarpējās kombinācijas. Katram paraugam aprēķinājām pozitīvo paredzamo vērtību un izveidojām ROC līknes. Lai izdarītu precīzu biomarķieru kombināciju validēšanu, katrā reakcijā izdarījām LOOCV (leave one-out cross validation), šādi testējot modeli daudzas reizes, katrā reizē izslēdzot vienu pacientu un testējot modeli uz atlikušajiem pacientiem, novērtējot kā modelis atpazīst izslēgto pacientu, kā labdabīgu vai ļaundabīgu. Datu statistiskai apstrādei izmantojām Windows SPSS 17.0 (SPSS, ASV), Genex (Multid, Zviedrija) un GraphPadPrism 5 (GraphPad, ASV) programmas. Ceturtā darba posma rezultāti aprakstīti sadaļā 6.4.



## 6. Rezultāti

### 6.1. Fenotipisko riska faktoru (anketu) analīze

Pētījumā fenotipiskos datus apkopojām 124 personām, no kuriem 21 jeb 16,8 % bija vīrieši, bet 103 jeb 83,2 % sievietes. Vidējais sieviešu vecums bija 56,2 gadi (SK±1,5), vīriešu 54,5 gadi (SK ±3,0) kas atbilst vidējam vecumam, saslimstot ar sporādisku vairogdziedzera vēzi.

No analizētajiem pacientiem, 85 jeb 68,5 % konstatējām labdabīgu mezglainu strumu, savukārt 39 jeb 31,5 % vairogdziedzera vēzi. Vidējais pacientu vecums mezglainas strumas grupā bija 53,9 gadi (SK±1,6), savukārt vairogdziedzera vēža grupā 60,0 gadi (SK ±2,2),  $p=0,045$ , kas norāda, ka pacienti ar vairogdziedzera vēzi ir statistiski ticami vecāki, salīdzinot ar labdabīgas mezglainas strumas pacientiem.

Pacientiem ar labdabīgu mezglainu strumu, analizējot ģimenes anamnēzi, vairogdziedzera slimību radiniekiem atradām 36,5%, savukārt, aptaujāto vēža pacientu radiniekiem 25,6%, tātad nav statistiski ticamas atšķirības,  $p=0,234$ .

Statistiski ticamu atšķirību ieguvām ( $p<0,05$ ), analizējot TSH līmeņa atšķirības abās pacientu grupās. Analizētās pacientu grupas fenotipiskie dati atspoguļoti 11.tabulā.

#### 11.tabula. Fenotipisko datu raksturojums.

Raksturlielums	Labdabīgi mezgli	Vairogdziedzera vēzis	P vērtība
Skaitis	85	39	
Dzimums: <ul style="list-style-type: none"><li>• sievietes</li><li>• vīrieši</li></ul>	73 (85,9%) 12 (14,1%)	30 (76,9%) 9 (23,1%)	P=0,217
<b>Vecums (vidējais) ±SK</b>	<b>53,87 (±1,6)</b>	<b>59,56 (±2,2)</b>	<b>P=0,045</b>
<b>TSH līmenis mIU/l ± SK</b>	<b>0,8±0,10</b>	<b>1,9 ±0,36</b>	<b>P=0,013</b>
Smēķēšana: <ul style="list-style-type: none"><li>• nesmēķētāji</li><li>• bijušie smēķētāji</li><li>• smēķētāji</li></ul>	60 (70,6%) 13 (15,3%) 12 (14,1%)	33 (84,6%) 4 (10,3%) 2 (5,1%)	P=0,211
Vairogdziedzera vēzis ģimenes anamnēzē	31 (36,5%)	10 (25,6%)	P=0,234

Zemākais novērotais TSH līmenis strumu grupā bija 0,004mIU/l, augstākais 3,8 mIU/l. Aprēķinātais vidējais TSH līmenis mezglainu strumu grupā bija 0,82 mIU/l (SK 0,106).

Analizēto vēžu grupā zemākais TSH bija 0,188mIU/l, augstākais 4,43mIU/l. Aprēķinātais vidējais TSH vairogdziedzera vēžu grupā bija 1,90mIU/l.

Kopumā var secināt, ka vidējais TSH līmenis vēžu grupā bija statistiski ticami lielāks salīdzinot ar labdabīgas mezglainas strumas grupu,  $p=0,013$ . Rezultāti parādīja, ka tireotoksikoze vēžu grupā ir bija 2,6% pacientu, savukārt mezglainas strumas grupā 21,2% pacientu,  $p=0,007$ .

## **6.2. Vairogdziedzera mezglu US riska pazīmju un FNA biopsiju analīze**

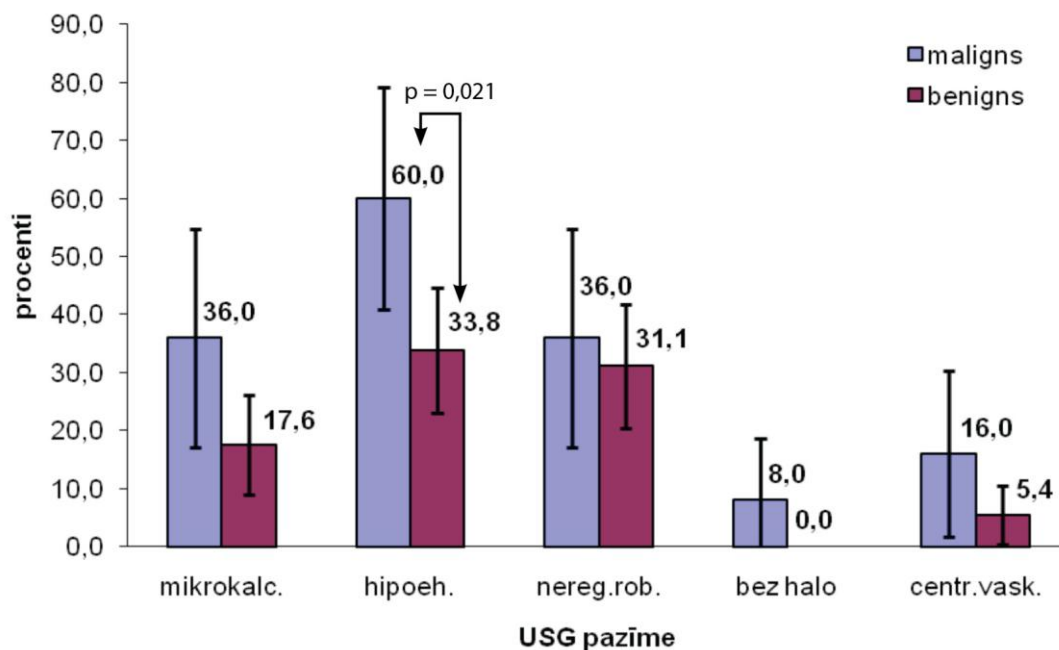
No anketētajiem 124 pacientiem (skat.6.1.), pirmsoperācijas vairogdziedzera ultrasonogrāfiska izmeklēšana bija pieejama 99 pacientiem : 74 pacientiem ar labdabīgu mezglainu strumu un 25 pacientiem ar vairogdziedzera vēzi. Pētījumā analizējām „klasiskās” vairogdziedzera mezglu malignitātes riska US pazīmes: hipoehogenitāti, mikrokalcinātu klātbūtni, neregulāras mezgla robežas, halo zonas iztrūkumu, reģionālo limfmezglu palielinājumu, centrālu vaskularizāciju, kā arī retāk sastopamas, bet literatūrā aprakstītas US mezglu malignitātes riska pazīmes: retrosternāli lokalizētu vairogdziedzera un „aizdomīgākā mezgla” palielināšanos dinamikā, kā arī, ja tas izmēros pārsniedza >3cm. Analizētās ultrasonogrāfiskās pazīmes un to sastopamība atspoguļota 12. tabulā.

**12.tabula. Analizēto US pazīmju sastopamība pacientiem ar vairogdziedzera vēzi un labdabīgiem vairogdziedzera mezgliem.**

US pazīme	Labdabīga mezglaina struma	Vairogdziedzera vēzis	P vērtība
<b>Hipoehogēns mezgls</b>	33,8%	<b>60,0%</b>	<b>P=0,021</b>
Reģionālie l/m	0%	8%	P=0,062
Halo zonas iztrūkums	0%	8%	P=0,062
Mikrokalcināti	17,6%	36,0%	P=0,092
Centrāla vaskularizācija	5,4%	16,0%	P=0,108
Mezgli>3cm	41,9%	32,2%	P=0,382
Mezglā palielināšanās	4,1%	8,0%	P=0,6
Neregulāras robežas	31,1%	36,0%	P=0,8
Retrosternāla struma	11%	3%	P=1,0

Papildus analizējām vairogdziedzera mezglu US pazīmes, kuras ir īpaši specifiskas maligniem vairogdziedzera audzējiem: mikrokalcināti, hipohogenitāte, neregulāras mezgla robežas, halo zonas iztrūkums un haotiska centrāla intranodulāra vaskularizācija.

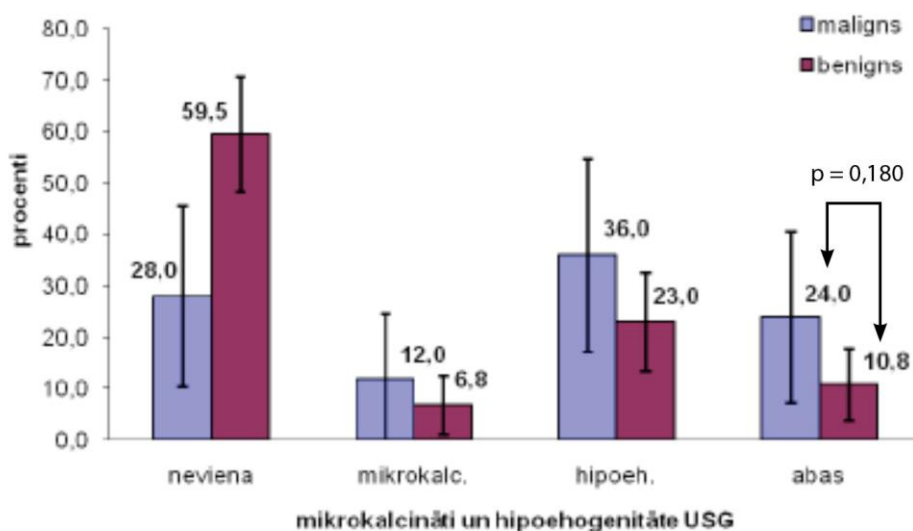
Mūsu pētījuma rezultāti rāda, ka (%) visbiežāk sastopamās mezglu malignitātes riska pazīmes ir mikrokalcināti, hipohogenitāte un neregulāras mezgla robežas. US pazīmju sastopamības biežums pacientiem ar vairogdziedzera vēzi un labdabīgiem mezgliem atspoguļots 1. attēlā.



**1.attēls. US malignitātes riska pazīmju sastopamība (%) pacientiem ar vairogdziedzera vēzi un labdabīgiem vairogdziedzera mezgliem.**

Pētījuma rezultāti demonstrēja, ka statistiski ticama atšķirība atrasta tikai vienai ultrasonoskopiskai pazīmei- hipoehogenitātei, kura atšķīrās mezglainas strumas un vairogdziedzera vēža grupā, ( $p=0,021$ ).

Papildus kombinējam arī divas visspecifiskākās US vairogdziedzera mezglu malignitātes riska pazīmes: mikrocalcinātu esamību un hipoehogenitāti. Rezultāti liecināja, ka analizējamo pacientu grupā, abas US pazīmes satop 24% vairogdziedzera vēža pacientu un 10,8% pacientu ar labdabīgiem vairogdziedzera mezgliem, statistiski ticamu atšķirību nekonstatējām,  $p=0,180$  (skat. 2.attēlu).



## 2.attēls. USG pazīmju īpatsvars (%) atkarībā no histoloģijas.

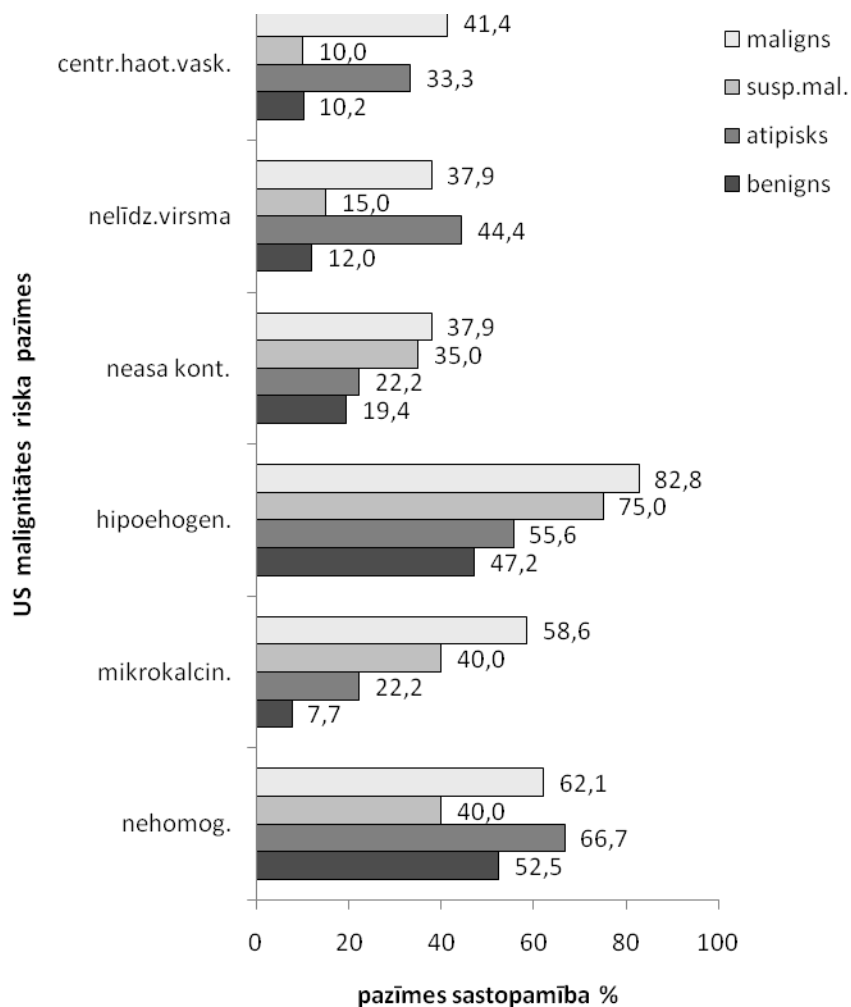
Visbeidzot, daudzfaktoru analīze demonstrē, ka, kombinējot vecumu un dzimumu, izredžu attiecība (OR)=1,03. Tas nozīmē, ka, pieaugot vecumam par vienu gadu, vēža risks pieaug- izredžu attiecība ir 1,03. Savukārt, samērojot dzimumu pēc vecuma, statistiski nozīmīgu saistību ar vēža risku nenovēro OR=0,5.

Ar mērķi analizēt US malignitātes kritērijus lielākai grupai, mēs papildus retrospektīvi apkopojām 428 pacientu datus, kuriem izdarīja vairogdziedzera ultrasonogrāfiju ar sekojošu tievas adatas aspirācijas biopsiju. Šai grupai izanalizējām sešus ultrasonoskopiskos vairogdziedzera malignitātes kritērijus: nehomogēnu struktūru, mikrokalcinātu esamību, izteikti pazeminātu ehogenitāti, neasu kontūru, nelīdzenu virsmu un centrālu haotisku vaskularizāciju, kā arī salīdzinājām punkcijas datus ar operācijas histoloģisko atradni pēc vēža reģistra.

No 428 pacientiem diagnostikas aspirācijas bija 385 gadījumos un tās klasificējām kā benignas (324), atipiskas (9), aizdomīgas uz malignitāti (20) vai apstiprinātas malignitātes gadījumi (32). Neinformatīvas bija 43 punkcijas biopsijas (10%), kurās analizējamais paraugs pārsvarā saturēja perifērās asinis vai cistas šķidrumu vai konstatēja par maz analizējamo šūnu, savukārt trim pacientiem ar vairogdziedzera vēzi punkcijā, nebija pieejami US apraksti, tādēļ US malignitātes riska pazīmes šajā grupā analizētas 29 pacientiem.

Rezultāti parādīja, ka salīdzinot US pazīmju sastopamību 4 citoloģiskajās grupās, statistiski ticamas atšķirības konstatē četrām US malignitātes riska pazīmēm: hipoehogenitātei, mikrokalcinātiem, nelīdzenei kontūrai un centrālai haotiskai

vaskularizācijai ( $p < 0,001$ ), savukārt divas pazīmes - mezgla nehomogenitāte un neasa kontūra - statistiski ticamu atšķirību nedemonstrē. (skat. 3. attēlu)



**3. attēls.** US malignitātes riska pazīmju sastopamība analizētajās citoloģiskajās grupās.

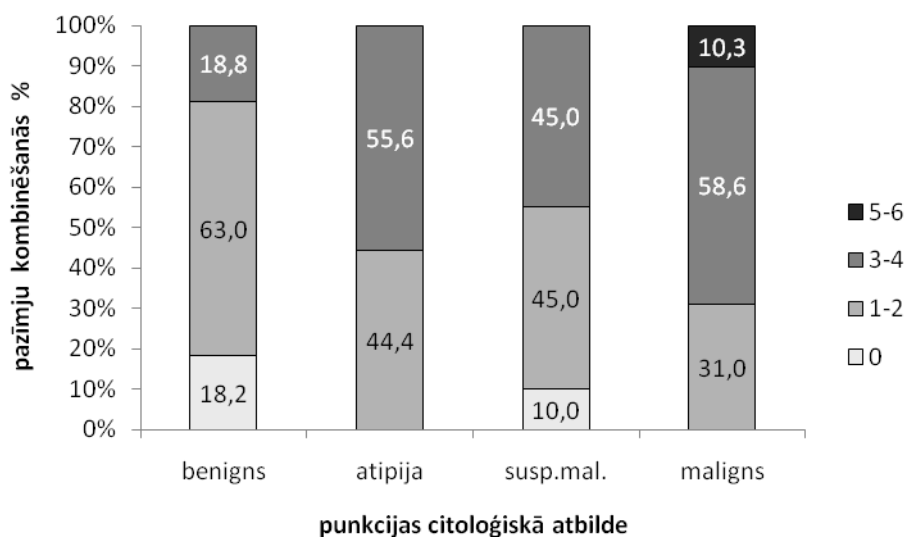
Benignus no maligniem vairogdziedzera mezgliem, atšķir piecas no sešām analizējamām US pazīmēm (hipoehogēns mezgls, mikrokalcinātu esamība, nelīdzena virsma, centrāla haotiska vaskularizācija (  $p < 0,001$ ), neasa kontūra ( $p = 0,031$ )). Benignus no atipiskiem mezgliem statistiski ticami atšķir tikai viena no sešām analizētajām US riska pazīmēm: nelīdzena virsma ( $p = 0,019$ ) un ir tendence atšķirties vaskularizācijai ( $p = 0,062$ ).

Salīdzinot atipiskus un aizdomīgus mezgliem, tad statistiski ticamas atšķirības nenovēro nevienai no analizētajām pazīmēm, savukārt, ja salīdzina aizdomīgus uz malignitāti un malignus mezglus, tad statistiski ticami no pārējām analizētajām US pazīmēm atšķir tikai centrāla haotiska vaskularizācija ( $p = 0,017$ ).

Ja savstarpēji salīdzina benignus un aizdomīgiem uz malignitāti mezglus, tad statistiski ticami atšķirīgas ir divas no analizētajām pazīmēm: mikrokalcinātu esamība ( $p < 0,001$ ,) un hipoehogenitāte ( $p = 0,016$ ).

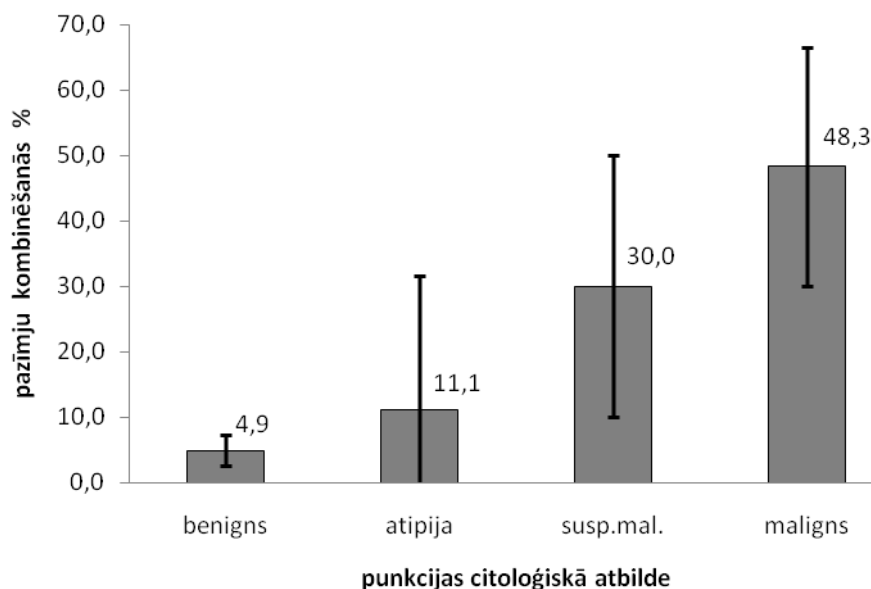
Ja salīdzina US pazīmju sastopamību starp atipiskiem un maligniem mezgliem, tad statistiski ticami neatšķiras neviena no sešām analizētajām pazīmēm.

Arī vairāku pazīmju vienlaicīga esamība statistiski ticami atšķiras analizētajās citoloģijas grupās ( $p < 0,001$ ), skat. 4.attēlu.



**4.attēls. US malignitātes riska pazīmju kombinēšanās(%) citoloģiskajās grupās.**

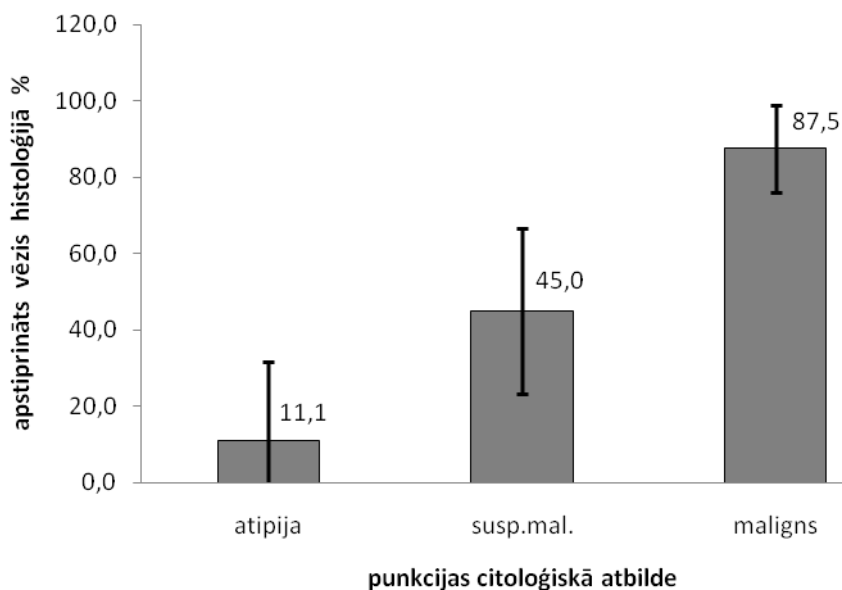
Benignus no aizdomīgiem uz malignitāti mezgliem statistiski ticami atšķir divas no analizētajām sešām US malignitātes riska pazīmēm: mikrokalcinātu esamība ( $p < 0,001$ , *Fishers Exact Test*) un hipoehogenitāte ( $p = 0,016$ ), tāpēc pārbaudījām šo divu pazīmju kombinācijas sastopamību visu analizējamo citoloģisko grupu gadījumā. ( $p < 0,001$ ) – skat. 5. attēlu.



**5. attēls. US pazīmju: mikrokalcinātu un hipoehogenitātes kombinēšanās analizētajās citoloģiskajās grupās.**

Pēc RAKUS Terapeitiskās radioloģijas nodaļas datu bāzes analizējam visus gadījumus, kad tievās adatas aspirācijas biopsijā konstatēja atipiju, aizdomas par malignitāti vai vairogdziedzera vēzi. Šiem pacientiem salīdzinājām citoloģisko ainu ar histoloģisko atradni pēc vairogdziedzera operācijas un iegūtajos datos novērtējām punkcijas diagnostisko precizitāti. Rezultāti demonstrēja, ka no 32 pacientiem, kuriem punkcijā konstatēja vairogdziedzera vēzi, histoloģija to apstiprināja 28 pacientiem jeb 87,5% gadījumu, mezgliem, kuri bija aizdomīgi uz malignitāti, operācijas materiālā vēzi pierādīja 9 pacientiem jeb 45% gadījumu, savukārt, no 9 pacientiem, kuriem punkcijā atrada atipiju, histoloģija to apstiprināja 1 gadījumā jeb 11,1% (skat. 6. attēlu).



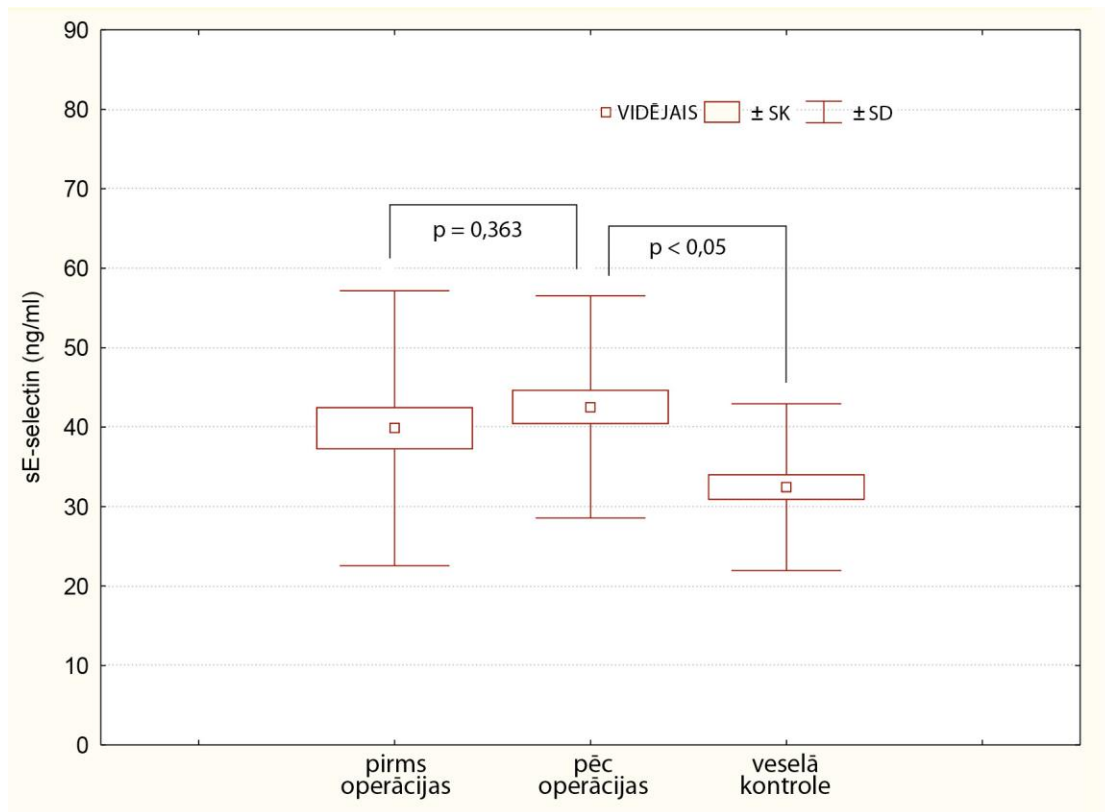


**6 .attēls. FNA biopsiju salīdzinājums ar histoloģisko atradni.**

**6.3.Adhēzijas molekulu koncentrācijas analīze.**

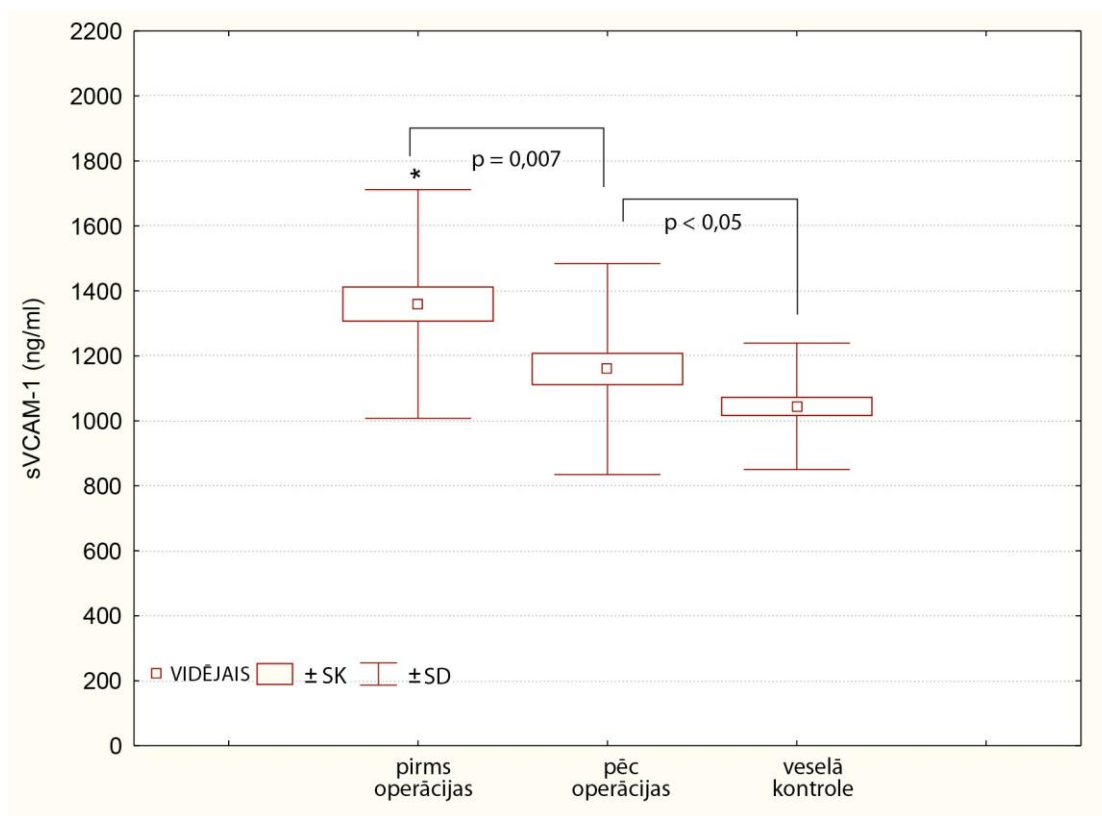
Pētījumā pierādījām statistiski ticami paaugstinātu seruma sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrāciju pirms ķirurģijas, salīdzinot ar koncentrāciju 2 mēnešus pēc operācijas, savukārt nevērojām statistiski ticamas atšķirības sE-selektīna koncentrācijā.

Sērums sE-selektīna, sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācija vairogdziedzera mezglu gadījumos bija ievērojami augstāka salīdzinot ar veselo kontroles grupu. Seruma šķīstošā E-selektīna koncentrācijas līmenis pirms operācijas  $39,8 \pm 17,3$  ng/ml un 2 mēnešus pēc operācijas  $42,5 \pm 14,0$  ng/ml, ( $p=0,3632$ ) statistiski nozīmīgas atšķirības neparādīja ( $p=0,363$ ), savukārt statistiski ticamu koncentrācijas pieaugumu konstatējām, salīdzinot ar veselo kontroles grupu  $14,1 \pm 1,1$  ng/ml, ( $p < 0,05$ ). (skat. 7.attēlu)



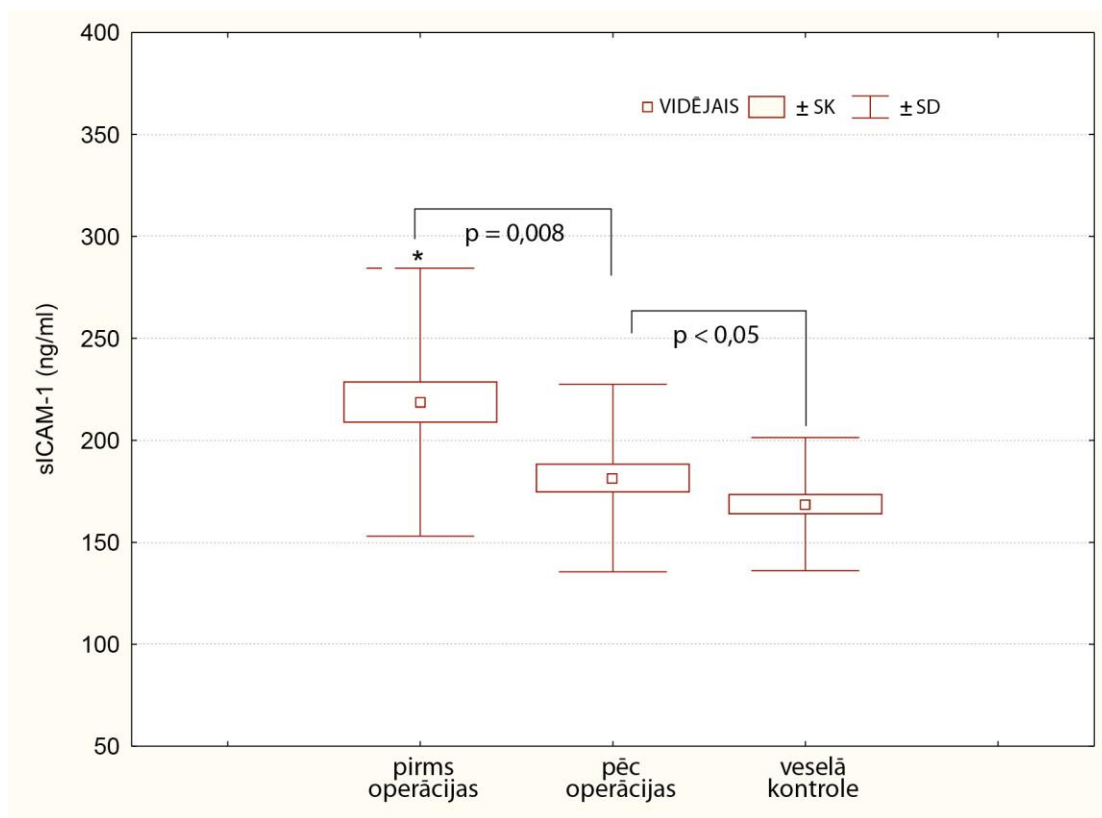
**7.attēls. Seruma šķīstošā E-selektīna koncentrācijas līmenis pacientiem ar vairogdziedzera mezgliem pirms operācijas un 2 mēnešus pēc operācijas, salīdzinot ar veselo kontroles grupu.**

Seruma sVCAM-1 vidējais koncentrācijas līmenis pirms operācijas bija  $1359,8 \pm 352,3$  ng/ml, savukārt 2 mēnešus pēc operācijas  $1159,4 \pm 324,6$  ng/ml, ( $p=0,0076$ ), tātad tas statistiski ticami samazinājās. Vairogdziedzera mezglu grupā konstatējām ievērojami augstāku seruma sVCAM-1  $1359,8 \pm 352,3$  ng/ml koncentrācijas līmeni, salīdzinot ar veselo kontroles grupu  $788,8 \pm 16,2$  ng/ml, ( $p < 0,05$ ) (skat. 8.attēlu).



**8.attēls. Seruma sVCAM-1 koncentrācijas līmenis pirms operācijas un 2 mēnešus pēc operācijas pacientiem ar vairogdziedzera mezgliem, salīdzinot ar veselo kontroles grupu.**

Seruma sICAM-1 koncentrācijas vidējais līmenis pirms operācijas bija  $218,7 \pm 65,6$  ng/ml, savukārt 2 mēnešus pēcoperācijas  $181,5 \pm 45,9$  ng/ml, ( $p=0,0086$ ), tātad tas statistiski ticami samazinājās. Vairogdziedzera mezglu grupā konstatējam ievērojami augstāku seruma sICAM -1 koncentrācijas līmeni  $218,7 \pm 65,6$ , salīdzinot ar veselo kontroles grupu  $91,8 \pm 9,5$  ng/ml, ( $p < 0,05$ ) (skat. 9. attēlu).



**9.attēls. Seruma sICAM koncentrācijas līmenis pirms operācijas un 2 mēnešus pēcoperācijas, salīdzinot ar veselo kontroles grupu.**

#### 6.4. Molekulāro biomarkieru analīze pacientiem ar labdabīgiem un ļaundabīgiem vairogdziedzera audzējiem

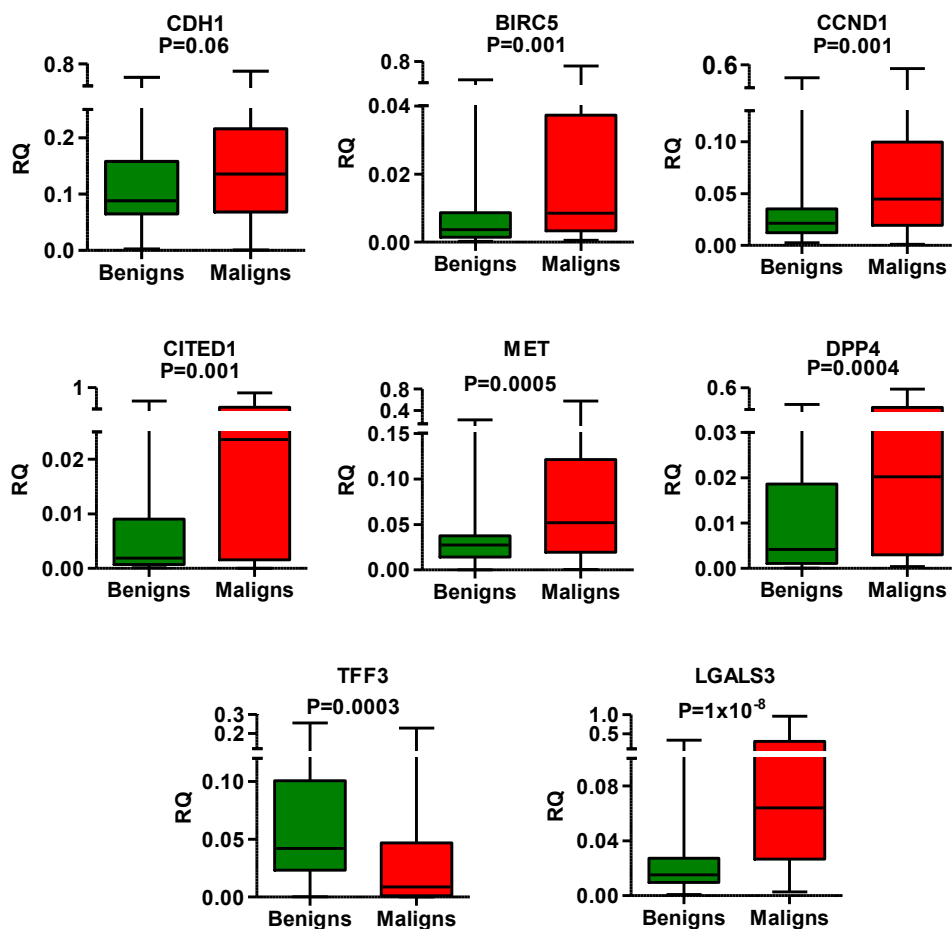
##### Individuālo biomarkieru mRNS ekspresija un to diagnostiskā vērtība.

Katra individuāla biomarkiera mRNS ekspresijas analīzes demonstrē, ka statistiski ticami atšķiras visu analizēto kandidātģēnu, izņemot *CDHI*, relatīvais daudzums (*RQ*), salīdzinot labdabīgus mezglus ar ļaundabīgiem audzējiem.

Ļaundabīgos vairogdziedzera audzējos *LGALS3*, *DPP4*, *MET*, *CITED1*, *CCND1* un *BIRC5* ekspresija ir statistiski ticami paaugstināta, savukārt *TFF3* ekspresija ir pazemināta. (skat. 13. tabulu un 10. attēlu).

13. tabula Kandidātģēnu *RQ* un to diagnostiskā vērtība

Ģēns, proteīns	RQ vērtības - Vidējais±SK			Manna-Vitneja U tests - p-vērtības		ROC līknes - AUC	
	Normāli	Benigni	Maligni	Normāls pret Malignu	Benigns pret Malignu	Normāls pret Malignu	Benigns pret Malignu
<i>LGALS3</i> , Galekģīns-3	0.068 ±0.013	0.035 ±0.007	0.248 ±0.067	2.2x10 <sup>-5</sup>	1x10 <sup>-8</sup>	0.715 (<0.0001)	0.832 (<0.0001)
<i>TFF3</i> , trefoil faktors- 3	0.115 ±0.011	0.066 ±0.007	0.037 ±0.008	4.1x10 <sup>-8</sup>	0.0003	0.782 (<0.0001)	0.696 (0.001)
<i>DPP4</i> , Dipeptidil peptidāze-4	0.011 ±0.002	0.0146 ±0.003	0.066 ±0.016	0.0001	0.0004	0.693 (<0.0001)	0.695 (0.001)
<i>MET</i> , hepatocītu augšanas faktora receptors	0.048 ±0.005	0.033 ±0.004	0.110 ±0.021	0.01	0.0005	0.610 (0.037)	0.689 (0.001)
<i>CITED1</i> , Cbp/p300- mijiedarbības transaktivators 1	0.010 ±0.002	0.021 ±0.008	0.161 ±0.048	0.001	0.001	0.654 (0.003)	0.67 (0.003)
<i>CCND1</i> , Ciklīns D1	0.037 ±0.004	0.036 ±0.007	0.084 ±0.017	0.002	0.001	0.647 (0.005)	0.67 (0.003)
<i>BIRC5</i> , Survivīns	0.025 ±0.011	0.009 ±0.002	0.045 ±0.018	0.0001	0.001	0.694 (<0.0001)	0.668 (0.003)



**10.attēls Analizēto kandidātģeņu vidējie mRNS ekspresijas līmeņi benignos (n=61) un malignos(n=44) vairogdziedzera audu paraugos**

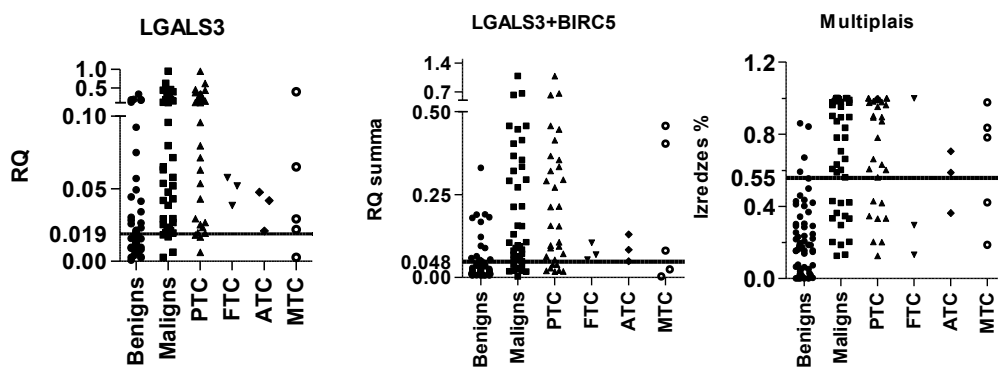
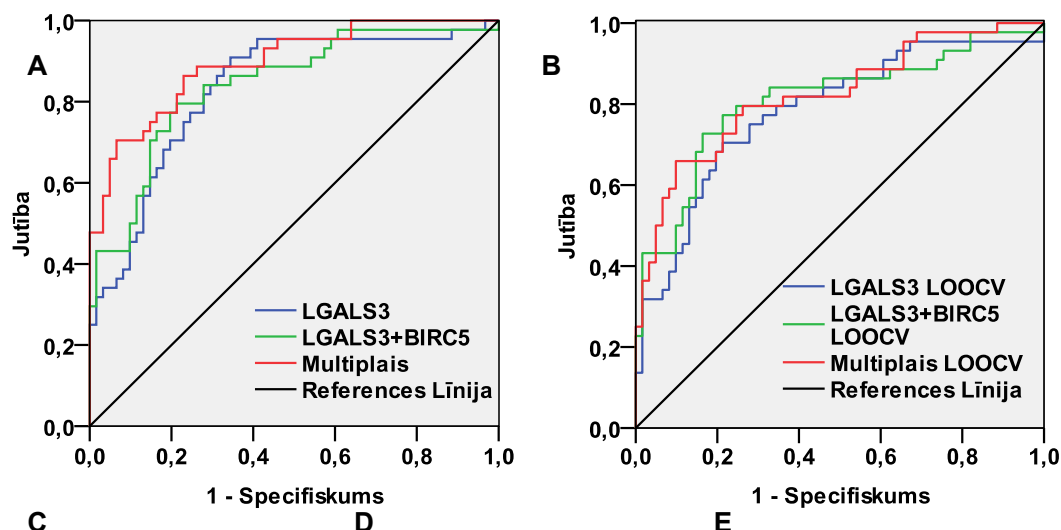
*LGALS3* ir vislabākais individuālais markieris, kas atšķir ļaundabīgus no labdabīgiem audzējiem mūsu analizētajā ģeņu grupā (AUC= 0,832,  $p < 0,0001$ ). *LGALS3* relatīvais daudzums (RQ) labākajā sliekšņa vērtības punktā ir 0,019, tātad tas spēj atšķirt labdabīgus mezglus no ļaundabīgiem ar augstu precizitāti (jutība 90,9%, specifiskums 65,6%).

Analizējot *LGALS3* jutību ļaundabīgo audzēju apakšgrupās, konstatējām, ka *LGALS3* ekspresija ir atšķirīga dažādos audzēju apakštipos (11. attēls, C). Statistiski ticami paaugstināti *LGALS3* bija ekspresēti 29 no 33 PTC, 4 no 5 MTC un visos FTC un ATC audu paraugos. Lai arī pēc validācijas, *LGALS3* laukums zem līknes (AUC) nokritās līdz 0,783, tomēr šī biomarkiera individuālā vērtība joprojām pārsniedza citus kandidātģeņus.

### **Kombinētais biomarkieru modelis un tā diagnostiskā vērtība**

Lai novērtētu vairāku biomarkieru kombinācijas pārsvaru pār vienu individuālu marķieri, konstruējam modeli, ar mērķi identificēt gēnu kombināciju ar visaugstāko diagnostisko vērtību.

Kopumā novērtējām 27 divu biomarkieru kombinācijas, no kurām tikai viena: *LGALS3* un *BIRC5* RQ summa demonstrēja visaugstāko AUC, kas spēj atšķirt benignus mezglus no maligniem labāk nekā individuāls marķieris (AUC=0,841,  $p<0,0001$  un AUC=0,809,  $p<0,0001$  LOOCV modelim) (skat. 11.attēlu A, B). Pie vislabākās sliekšņa vērtības modeļa jutība sasniedza 79,5% un specifiskums 78,7%. Kā parādīts attēlā 11D, šī divu gēnu kombinācija spēj identificēt visus FTC un ATC gadījumus, bet nespēj noteikt 7 of 33 PTCs (21%) un 2 no 5 MTCs (40%), kas liek domāt, ka šim modelim ir zemāka vērtība MTC diagnostikā, taču to nepieciešams apstiprināt pētījumos ar lielāku pacientu skaitu.



Testa rezultāti Mainīgie						Asimptotiskais 95% Konfidences intervāls	
	Laukums zem līknes	Standart kļūda	Modeļa ticamības koeficients	Jutība	Specifiskums	Apakšējā robeža	Augšējā robeža
LGALS3	0.832	0.041	<0.0001	90.9%	65.6%	0.752	0.913
LGALS3 LOOCV	0.783	0.047	<0.0001	70.5%	78.7%	0.691	0.875
LGALS3+BIRC5	0.841	0.04	<0.0001	79.5%	78.7%	0.763	0.919
LGALS3+BIRC5 LOOCV	0.809	0.046	<0.0001	77.3%	78.7%	0.720	0.898
Multiplais	0.895	0.031	<0.0001	70.5%	93.4%	0.834	0.955
Multiplais LOOCV	0.823	0.042	<0.0001	65.9%	90.2%	0.74	0.906

**11. attēls. Labākais individuālais biomarķieris, divu labāko biomarķieru kombinācija un multiplais biomarķieru modelis. Skaidrojums:** A un B attēlo labākā individuālā biomarķiera (LGALS3), divu labāko biomarķieru kombinācijas (LGALS3 un BIRC5 summa) un multiplā modeļa ROC līknes un LOOCV ROC līknes. C, D, E punktveida panelis, attēlo LGALS3 RQ, LGALS3 un BIRC5 RQ summas modeli un multiplo modeli, kas demonstrē kā modelis atpazīst vai neatpazīst labdabīgus un ļaundabīgus audzējus, ļaundabīgo audzēju apakštipus labākajā sliekšņa vērtības punktā. Tabulā norādīts labākais individuālais biomarķieris, divu labāko biomarķieru kombinācija un kombinētais biomarķieru modelis un to LOOCV modeļa ROC līknes AUC dati, jutība un specifiskums labākajā sliekšņa vērtības punktā.



Mūsu pētījumā arī pierādājām, ka divu biomarkieru kombinācijas attiecība *TFF3/LGALS3*, vislabāk spēj atšķirt folikulāru adenoma no folikulāras karcinomas (AUC=0,758,  $p<0,0001$ , jutība 72,7%, specifiskums 85,3%). Tomēr, neskatoties uz faktu, ka *TFF3/LGALS3* attiecībai ir augstāks specifiskums, modeļa kopējā diagnostiskā vērtība ir zemāka nekā *LGALS3* individuāli. Daudzfaktoru loģistiskā regresija parādīja, ka vairāku biomarkieru kombinācija uzlabo diagnostisko precizitāti, ja salīdzina ar vienu individuālu biomarkieri vai divu biomarkieru kombināciju.

Mūsu izveidotais modelis sastāv no sešiem mainīgajiem lielumiem, kuriem ir pozitīva ietekme diagnostisko rezultātu: *LGALS3* un *BIRC5* RQ summa, *TFF3* un *LGALS3* RQ attiecība, *TFF3* un *CCND1* RQ attiecība un, attiecība starp *TFF3* RQ un *MET*, *CITED1* RQ summu, attiecība starp *TFF3* RQ un *MET*, *BIRC5* RQ summu un attiecība starp *TFF3* RQ un *CCND1*, *BIRC5* RQ summu.

Kombinētais modelis ir diagnostiski precīzāks par *LGALS3* individuāli, *LGALS3* un *BIRC5* RQ summu (AUC=0,895,  $p<0,0001$  un AUC=0,823,  $p<0,0001$  LOOCV modelim). Labākajā sliekšņa vērtības punktā, tā jutība sasniedza 70,5% un specifiskums 93,4% (attēls 11A).

## 7. Diskusija

### 7.1. Seruma TSH koncentrācija un vairogdziedzera malignitātes risks.

TSH līmenis ir viens no visbiežāk minētajiem vairogdziedzera vēža riska faktoriem literatūrā (63). Mūsu pētījuma rezultāti to atkārtoti apstiprināja, un seruma TSH koncentrācija statistiski ticami atšķirās starp pacientiem ar benigniem vairogdziedzera mezgliem un vairogdziedzera vēzi.

Kopumā, pēc mūsu izdarītā pētījuma, varam secināt, ka vidējais TSH līmenis vēžu grupā bija statistiski ticami lielāks, salīdzinot ar labdabīgas mezglainas strumas grupu, ( $p=0,013$ ). Rezultāti demonstrē, ka tireotoksikoze vēžu grupā ir tikai 2,6% pacientu, savukārt mezglainas strumas grupa 21,2% pacientu,  $p=0,007$ .

Ir labi zināms, ka diferencētiem vairogdziedzera audzējiem atrod tireotropīna (TSH) receptorus uz šūnu membrānas un tie atbild uz TSH stimulāciju, pastiprināti ekspresējot dažādus proteīnus, piemēram Tg, NIS un dažādus augšanas faktorus, kuri pastiprina šūnu proliferācijas ātrumu (40). Pētījumi ar dzīvniekiem demonstrē, ka TSH supresija pelēm pēc radioaktīvās apstarošanas samazina vairogdziedzera audzēju attīstību. Seruma TSH koncentrācijas supresija, lietojot vairogdziedzera hormonu preparātus, samazina recidīvu biežumu un mortalitāti pacientiem ar vairogdziedzera vēzi. Iespējams, ka malignitātes risks palielinās, pieaugot TSH līmenim, jo TSH piemīt trofiska ietekme uz vairogdziedzera audiem, kā rezultātā aktivējas neoplastiskais process (40).

Arī vairāki pētījumi demonstrē, ka TSH var kalpot kā vairogdziedzera audzēju marķieris. Piemēram, *Bolaert* un kolēģi demonstrēja, ka malignitātes risks pieaug, ja pacientu TSH ir  $> 0,9$  mIU/l. Binārās regresijas analīzes demonstrē, ka pacientiem, kuru TSH ir robežās starp 1,0 – 1,7 mIU/l ir lielāks vairogdziedzera vēža risks, salīdzinot ar pacientiem, kuru TSH ir mazāks par 0,4mIU/l, savukārt risks ir vēl lielāks, ja TSH ir robežās starp 1,8-5,5mIU/l (40).

Tomēr literatūrā atrodami arī daži ierobežojumi, TSH izmantošanai malignitātes riska izvērtēšanai. Piemēram, pacienti ar mezglainu strumu, kuriem plānota vairogdziedzera operācija, nereprezentē vidējo populāciju, bet selektīvu atlasī. Jāatzīmē, ka TSH līmenis atšķiras arī dažādu rasu un etnisko grupu starpā, kā arī novecojot. Baltajiem cilvēkiem, salīdzinot ar melnādainajiem, atrod augstāku TSH kopējo koncentrāciju (1,54  $\mu$ IU/ml vs. 1,18  $\mu$ IU/ml;  $P < 0.001$ ), savukārt veciem cilvēkiem ( $>80$  gadi) tā arī ir augstāka, salīdzinot ar jauniem (20 līdz 29 gadi)

individīdiem. Šie novērojumi liek domāt, ka TSH, *per se*, palielina audzēja attīstības iespēju vairogdziedzera mezglos, pieaugot pacienta vecumam (39).

## **7.2. Ultrasonoskopisko malignitātes riska faktoru izmantošana vairogdziedzera audzēju diagnostikā**

Ikdienas praksē problēmas pieņemt pareizo lēmumu nerada benignie un pārlicinoši malignie mezgli, jo to novērošanas algoritmi ir skaidri definēti, bet grūtības rodas atipisko un aizdomīgo mezglu gadījumos. Mūsu pētījumā secinājām, ka, salīdzinot benignus un malignus vairogdziedzera mezglus, statistiski ticamu atšķirību demonstrē piecas no sešām analizējamajām US pazīmēm: hipoehogēns mezgls, mikrokalcinātu esamība, nelīdzena virsma, centrāla haotiska vaskularizācija ( $p < 0,001$ ), neasa kontūra ( $p = 0,031$ ), savukārt, benignus no aizdomīgiem mezgliem, statistiski ticami atšķir divas pazīmes: mikrokalcinātu esamība ( $p < 0,001$ ) un hipoehogenitāte ( $p = 0,016$ ).

Analizējot literatūru, ir skaidrs, ka US pazīmju jutības, specifiskuma, pozitīvās un negatīvās paredzošās vērtības izteikti variē dažādos pētījumos un ne vienas atsevišķas US pazīmes diagnostiskā precizitāte nepārsniedz 75%, savukārt kombinējot vairākus US kritērijus, tā pieaug līdz 78% (152,164). Piemēram, hipoehogenitātei ir relatīvi augsta jutība, bet zems specifiskums (58,5%) un zema pozitīva paredzošā vērtība un ir novērots, ka ~55% benigni mezgli manifestējās kā solīdi hipoehogēni veidojumi, savukārt, krasi izteiktas hipoehogenitātes specifiskums sasniedz pat 94%, bet jutība pazeminās līdz 12%. Citiem kritērijiem, kā, piemēram, mikrokalcinātu esamībai, ir ļoti augsta pozitīva paredzošā vērtība, (41,8-94,2%), bet, zemās jutības dēļ, tos atrod tikai 26,1-59,1% no visiem vairogdziedzera audzējiem (152,154,164).

Labi zināms, ka halo zonas esamība ir augsti specifiska benigniem mezgļiem, tomēr tā iztrūkst pusei no visiem labdabīgiem mezgļiem, pie tam, 10-25% no visiem PTC ir daļēji vai pat pilnīgi izteikta halo zona. Līdzīgi dati atrodami arī tādām US pazīmēm kā neasa kontūra un neregulāras robežas: 15%-59% no benigniem mezgļiem ir vāji norobežoti un tiem raksturīgas mikro vai makrolobulācijas (adenomatozi mezgli). Arī vaskularitāte nav individuāli specifiska vairogdziedzera malignitātes pazīme. *Frates* un līdzautori aprakstījuši, ka vairāk nekā 50% no benigniem mezgļiem ir hipervaskulāri (161). Turpretim pilnīga avaskularitāte ir lietderīga pazīme: pilnīgi avaskulāri mezgli praktiski nekad nav maligni. Kombinējot vairākus US kritērijus, diagnostiskā precizitāte pieaug līdz 78% (152,154,161). Mūsu pētījumā konstatējām,

ka benignus no aizdomīgiem uz malignitāti mezgliem vislabāk atšķir divas US malignitātes riska pazīmes: mikrokalcinātu esamība un mezgla hipohogenitāte. Tās kombinējot, novērojā, ka abas pazīmes atrod gandrīz pusei (48,3%) pacientu ar maligniem vairogdziedzera mezgliem un tikai 4,9% pacientu ar benigniem mezgliem. Tātad varam secināt, ka abu pazīmju vienlaicīga esamība palīdz diagnosticēt iespējamo vairogdziedzera malignitāti.

Jāpiezīmē, ka mūsu pētījumā US malignitātes pazīmju sastopamību varēja ietekmēt arī pacientu atlasē īpatnības. Tā kā pētījumā tika iekļauti pacienti, kuriem jau bija nozīmēta FNA, tad pētījuma populācija jau reprezentēja pacientus ar augstāku malignitātes risku, turklāt par FNA indikāciju kalpoja pašas US riska pazīmes. Iespējams, ka rezultāti atšķirtos, ja pētījumā iekļautu arī pacientus ar incidentalomām jeb nejauši diagnosticētiem vairogdziedzera mezgliem. Tādejādi mūsu pētījumā konstatētās US malignitātes pazīmju atšķirības citoloģiskajās grupās nav attiecināmas uz jebkuru vairogdziedzera mezglu gadījumu.

Tievās adatas punkcijas biopsija joprojām ir vissvarīgākā metode vairogdziedzera mezglu malignitātes diagnostikā, lai izšķirtos par tālāko taktiku: novērot vai operēt.

Mūsu pētījumā iekļāvām 428 pacientus, kuriem veica FNA US kontrolē. Nediagnostiskas aspirācijas konstatēja ~10% gadījumu jeb 43 paraugos, to sastopamība Eiropas valstu klīnikas svārstās no 10-15% gadījumu (185,190). Iegūtajos paraugos parasti konstatē perifērās asinis vai cistas šķidrumu (190). Neizdevušos aspirāciju ir iespējams atkārtot, bet atipiski un aizdomīgi gadījumi ir dilemma klīnicistam, tāpēc salīdzinājām punkciju biopsiju rezultātus ar histoloģisko atradni operācijas materiālā, secinājām, ka no 32 pacientiem, kuriem punkcijā konstatēja vairogdziedzera vēzi, histoloģiskā izmeklēšana to apstiprināja 28 pacientiem jeb 87,5% gadījumu, mezgliem, kuri bija aizdomīgi uz malignitāti, operācijas materiālā vēzi pierādīja 9 pacientiem jeb 45% gadījumu, savukārt, no 9 pacientiem, kuriem punkcija demonstrēja atipiju, histoloģiskā izmeklēšana to apstiprināja 1 gadījumā jeb 11,1%. Mūsu rezultāti ir līdzīgi, salīdzinot ar analizēto literatūru, kur malignitātes risks atipisko mezglu gadījumos ir ap 5%-10%. Tas nedaudz atšķiras aizdomīgo mezglu grupā : literatūrā ap 20%-30%, mūsu pētījumā 45%. Tas izskaidrojams ar nelielo analizējamo pacientu grupu, kā arī ar citoloģiskās diagnostikas problēmām Latvijā. Apkopojot punkciju biopsiju rezultātus, var secināt, ka pacientus, kuriem biopsijas paraugā konstatē folikulāru bojājumu vai izsaka

aizdomas par folikularu neoplāziju, joprojām klasificē vienā grupā ar pacientiem, kuriem pastāv aizdomas par malignitāti un atsevišķi netiek izdalīta folikulārās neoplāzijas grupa.

### 7.3. Angioģenēzes faktoru loma vairogdziedzera audzēju diagnostikā

Angioģenēzes faktori spēlē svarīgu lomu vairogdziedzera labdabīgu un ļaundabīgu slimību patoģenēzē. Apkopojot pašreizējās zināšanas par angioģenēzes faktoru lomu, tās jau izmanto attīstot jaunas ārstēšanas stratēģijas vairogdziedzera audzēju gadījumos. Galvenie terapijas mērķi ir sekojoši: pirmkārt, audzēja šūnu producēto angioģenēzes stimulatoru blokāde vai aktivācija un otrkārt, endogēno angioģenēzes inhibitoru stimulācija vai angioģenēzes inhibitoru uzņemšana (antiangioģēno līdzekļu), piemēram uzņemot medikamentus, kuri veicina šūnu proliferācijas inhibīciju, hemotaksi vai migrāciju no audzēja endoteliālām šūnām (49,52).

Pēdējos gados arī plaši turpinās pētījumi ar jauniem ķīmijterapijas preparātiem, kurus varētu efektīvi izmantot anaplastiska vairogdziedzera vēža ārstēšanā, kas ir visagresīvākais vairogdziedzera audzējs ar vissliktāko prognozi. Laba terapeitiskā efektivitāte ir fosbretabulīnam, pretvēža medikamentam, kas bloķē audzēja asinsriti un samazina adhēzijas molekulu ekspresiju. Pēc 6 mēnešu terapijas pacientiem ar anaplastisku vairogdziedzera vēzi, tika konstatēta būtiska sICAM koncentrācijas mazināšanās, tāpēc perspektīvā tas varētu būt terapijas biomarķieris (191). Ekspermentos izmanto arī VEGF monolonālo antivielu, kuru ievada subkutāni eksperimentālām pelēm, izmantojot ARO-81 šūnu rindu, 1 nedēļu pēc audzēja implantācijas. Pēc 6 nedēļu terapijas anaplastiskā audzēja tilpums samazinās par 60%. (192). Labu terapijas efektivitāti *in vitro* sasniedz, kombinējot manumicīnu (Manumycin) un paklitakselu (Paclitaxel), kā rezultātā vēro audzēja augšanas inhibīciju (193). Antiangioģēno līdzekļu efektivitāti pēta arī folikulāru vairogdziedzera audzēju gadījumos. Piemēram, PTK/ZK 75mg/kg, ievadīts eksperimenta pelēm, inhibē VEGF receptora tirozīnkināzi, kā rezultātā vēro VEGF receptora blokādi un audzēja masas redukciju par 41% un samazinātu asinsvadu blīvumu (194). Līdzīgu terapijas efektivitāti, ievērojami samazinot audzēja masas tilpumu un asinsvadu blīvumu, parādījusi arī antiVEGF monoklonālā antivielā mAbA4.61, kā arī subkutāni ievadīts endostatīns (191). Klīniskajos pētījumos arī

kombinē dažādus antiangiogēnos medikamentus. Piemēram, labus sākotnējos rezultātus demonstrē CA4p, miktotubuļu depolarizējoša substance, kas veicina endotēlija šūnu skeleta izmaiņas, izsaucot audzēja šūnu išēmisku nekrozi (195).

Literatūrā atrod virkni pētījumu par citokīnu un adhēzijas molekulu lomu autoimūnu vairogdziedzera slimību patoģenēzē, galvenokārt Greivsa slimības un ar to saistītās autoimūnās orbitopātijas norisē (49,52). Daudz mazāk pētīta mijiedarbība starp TSH un dažādiem augšanas faktoriem, kuri iesaistās vairogdziedzera mezglu attīstībā. Mūsu veiktais pētījums demonstrē, ka ne tikai autoimūnu, bet arī mezglainu vairogdziedzera slimību gadījumos ievērojami paaugstinās šķīstošā E-selektīna, sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācija serumā, salīdzinot ar veselo kontroles grupu, savukārt sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācija serumā būtiski pazeminās pēc vairogdziedzera mezglu ķirurģiskas ārstēšanas. Šie rezultāti ļauj domāt, ka pastāv mijiedarbība starp TSH un adhēzijas molekulām, kuras stimulē vairogdziedzera epitēlijšūnu aktivāciju un noteiktu adhēzijas molekulu ekspresiju.

Kopumā varam secināt, ka pēc dažādu proteīnu mediatoru koncentrācijas izmaiņām serumā ir iespējams konstatēt ļaundabīgus audzējus, noteikt limfmezglu vai attālo metastāžu klātbūtni vai arī prognozēt to veidošanos. Nākotnē būtu jāturpina pētījumi, kuros tiktu analizēta citokīnu, augšanas faktoru un adhēzijas molekulu ekspresija visos vairogdziedzera labdabīgu un ļaundabīgu audzēju veidos, un tas būtu papildu neinvazīvs preoperatīvs diagnozes un prognozes tests (49,52).

#### **7.4. Molekulāro biomarkieru izmantošana vairogdziedzera audzēju diagnostikā**

Pēdējos gados izpratne par vairogdziedzera audzēju molekulāro ģenētiku ir ļoti progresējusi. Daļu diagnostikas metožu jau izmanto klīniskajā praksē, piemēram BRAF V600E mutāciju detektēšanu PTC diagnostikai FNA paraugos (196,197,219). Mikročipu tehnoloģijas ļauj identificēt tūkstošiem gēnu, kuri ekspresējas noteikta tipa šūnās vienlaicīgi, vienādos apstākļos un vidē un palīdz identificēt galvenos dalībniekus konkrētajos signālceļos. Vairākos pētījumos salīdzinot gēnu ekspresijas profilus, ir atrasti vairāk kā 100 gēni, kuru mRNS ekspresijas līmeņi atšķiras labdabīgos un ļaundabīgos vairogdziedzera audos, kā arī ir identificēta virkne jaunu potenciālu marķieru limfmezglu metastāžu prognozēšanai, taču visos gadījumos ir nepieciešami tālāki pētījumi, lai novērtētu iespējas šos marķierus pielietot klīnikā (196,197,207,208).

Mūsu pētījumā kā perspektīvākie individuālie biomarkieri vairogdziedzera audzēju diagnostikā uzskatāmi: *LGALS3* (proteīns galektīns-3) un *TFF3* (proteīns trefoilfaktors-3), savukārt divu biomarkieru *LGALS3* and *BIRC5* RQ summa demonstrēja nelielu pārsvaru pār *LGALS3* individuāli.

*LGALS3* vislabāk spēja labdabīgus vairogdziedzera mezglus no ļaundabīgiem audzējiem mūsu analizētajā gēnu grupā. Zināms, ka galektīns 3 pieder beta galaktozes saistošo proteīnu saimei, pārsvarā lokalizējas citoplazmā un ekspresējas uz šūnas virsmas. Šis proteīns iesaistās virknē bioloģisku procesu, ieskaitot šūnu savstarpējo adhēziju, proliferāciju, šūnu cikla regulāciju, angiogēnēzi, tumorogēnēzi un metastazēšanos. Daudzi pētījumi demonstrē, ka galektīna 3 paaugstināta ekspresija vērojama gan primāru, gan metastātisku audzēju gadījumos. Pierādīts, ka arī vairogdziedzera ļaundabīgo audzēju gadījumos, galektīna 3 ekspresijas līmenis ir saistīts ar audzēja metastātisko potenciālu (198). Piemēram, *Htwe* un kolēģi konstatējuši, ka PTC gadījumos vērojama izteiktāka galektīna-3 ekspresija audzēja šūnās perifērijā, salīdzinot ar centrā esošajām šūnām (199). Savukārt, *Kawachi* ar līdzautoriem apraksta, ka galektīna-3 ekspresija atšķiras dažādu vairogdziedzera audzēju tipu gadījumos un arī audzēja stadijās (138). Tātad varam secināt, ka galektīna-3 ekspresijas līmenis ir atkarīgs no konkrētā orgāna vai audiem un, iespējams, to modulē audzēja vai audu specifiski faktori. Arī mūsu pētījumā, analizējot *LGALS3* jutību ļaundabīgo audzēju apakšgrupās, konstatējam, ka *LGALS3* ekspresija atšķiras, tomēr to ekspresē lielākā daļa visu maligno audzēju. Šī atradne apstiprina faktu, ka *LGALS3* kalpo kā universāls vairogdziedzera audzēju biomarkieris.

Jaunākie pētījumi un arī mūsu darba rezultāts pierāda, ka arī *TFF3* ir drošs marķieris vairogdziedzera audzēju diferencialdiagnostikā. *TFF3* ir ekspresija vairogdziedzera ļaundabīgu audzēju gadījumos ir pazemināta. Tā iemesls joprojām līdz galam nav skaidrs, taču pastāv dažādas hipotēzes (200,201). Piemēram, literatūrā atrodami pētījumi, ka *TFF3* funkcionē kā tumora supresorgēns, jo tā ekspresija malignu vairogdziedzera audzēju gadījumos ir pazemināta. Tomēr līdz galam *TFF3* kā tumora supresora loma nav apstiprināta, jo, piemēram, vairogdziedzera un taisnās zarnas vēža gadījumos tā mRNS ekspresija ir pazemināta, savukārt prostatas un barības vada vēža gadījumos paaugstināta (202,203). Ņemot vērā, ka *TFF3* primāri ekspresējas kuņģa zarnu traktā, nepietiekoša *TFF3* ekspresija novērota daudzu gastrointestinālo slimību, t.s. Krona slimības, čūlainā kolīta un holecistīta gadījumos (204). Arī Hašimoto

tireoidīta gadījumos, konstatēta pazemināta *TFF3* ekspresija un tās iespējamais cēlonis ir normālu vairogdziedzera folikulāro šūnu destrukcija, kas attīstas hroniska autoimūna tireodīta gadījumos (129). Pēc šiem novērojumiem varam secināt, ka *TFF3* funkcionālie patoģenēzes mehānismi hronisku zarnu trakta slimību un hroniska tireodīta gadījumos ir līdzīgi. Interesanti, ka gan *galektīns 3*, gan *TFF3* piedalās epitēlija šūnu skropstiņu attīstībā un to kustīguma nodrošināšanā. Šī atradne rosina domāt par abu proteīnu vēl neizpētīto lomu vairogdziedzera folikulāra epitēlija šūnu malignās transformācijas procesos (205,206).

Mūsu pētījumā divu biomarkķeru *LGALS3* and *BIRC5* RQ summa vislabāk spēj atšķirt labdabīgus mezglus no vairogdziedzera audzējiem un šis modelis demonstrēja nelielu pārsvaru par *LGALS3* individuāli. Mūsu rezultāti apstiprina, ka vairogdziedzera ļaundabīgu audzēju gadījumos vērojama pastiprināta *BIRC5* ekspresija, salīdzinot ar labdabīgiem mezgliem. Zināms, ka *BIRC5* ( proteīns Survivīns ) ir viens no galvenajiem apoptozes inhibitoriem, tā gēns ir lokalizēts 17q25. Survivīns inhibē apoptozi, ietekmējot dažādus trigerus, piemēram Fas-Fas ligandu signālceļu un kaspāzes kaskādes (209,210). Pētījumi demonstrē, ka pastiprinātu *BIRC5* ekspresiju vēro dažādu karcinomu – barības vada, pancreas, kolorektāla un sīkšūnu plaušu vēža gadījumos. *Ito* un līdzautori konstatējuši pozitīvu Survivīna imunoreaktivitāti 11,1% FA gadījumos, 19% FTC gadījumos, 22,5% PTC gadījumos un līdz pat 80% MTC un 84,2 % ATC gadījumos, savukārt tā ekspresija ir negatīva veselos vairogdziedzera audos (209,210). Šī atradne rosina domāt, ka, pirmkārt, šis proteīns spēlē svarīgu lomu karcinomu attīstībā un progresijā un, otkārt, tā ekspresija ir saistīta ar audzēja attīstības pakāpes kritumu.

Mūsu pētījums demonstrē, ka sešiem gēniem un to mainīgajiem lielumiem, ir pozitīva ietekme rezultātu, atšķirot labdabīgus vairogdziedzera mezglus no ļaundabīgiem audzējiem. Pētījumā katram mainīgajam piešķīrām koeficientu, kas norāda uz tā nozīmīgumu – ietekmi uz rezultātu. Sešus mainīgo lielumus ir veidojušas 6 gēnu RQ vērtības, no kuriem mainīgais pirmajā gadījumā ir *LGALS3* un *BIRC5* RQ summa, otrajā *TFF3* un *LGALS3* RQ attiecība, trešajā *TFF3* un *CCND1* RQ attiecība, ceturtajā - attiecība starp *TFF3* RQ un *MET*, *CITED1* RQ summu, piektajā - attiecība starp *TFF3* RQ un *MET*, un *BIRC5* RQ summu un pēdējā - attiecība starp *TFF3* RQ un *CCND1*, *BIRC5* RQ summu. Apvienojot šos sešus mainīgos, kas tiek pareizināti ar piešķītajiem koeficientiem un matemātiski modificēti, tiek aprēķināts, ar kādu vērtību tas tiks pareizi klasificēts. Kombinētais modelis ir diagnostiski precīzāks par *LGALS3*



individuāli, kā arī par *LGALS3* un *BIRC5* RQ summu (AUC=0,895,  $p < 0.0001$  un AUC=0,823,  $p < 0.0001$  LOOCV modelim). Modelim ir augsts specifiskums, kas apstiprina tā lietderību klīniskajā praksē un iespēju savlaicīgi identificēt vairogdziedzera ļaundabīgos audzējus.

Kombinētajā modelī, bez iepriekš aprakstītajiem gēniem *LGALS3*, *TFF3* un *BIRC5*, iesaistīti arī *MET*, *CITED1* un *CCND1*, kuriem arī ir būtiska nozīme vairogdziedzera karcinogēnēzē. *MET*, hepatocītu augšanas faktora receptors, mūsu pētījumā bija statistiski ticami pastiprināti ekspresēts, salīdzinot labdabīgus vairogdziedzera mezglus un ļaundabīgus audzējus. Lielākā daļa literatūrā aprakstītie pētījumi demonstrē līdzīgus rezultātus un uzsver, ka *MET* proteīns varētu būt ļoti lietderīgs diagnostiskais un prognostiskais instruments, jo tā pastiprināta ekspresija ir saistīta ar augstāku PTC metastazēšanās un recidīva risku, tomēr atrodami arī pētījumi, kuros konstatēta pazemināta *MET* ekspresija PTC distālu metastāžu gadījumos (141,142). Šī atradne rosina domāt, ka *MET* individuāli nav specifisks proteīns, kas norāda par vairogdziedzera ļaundabīgo audzēju izplatību un diferenciacijas samazināšanos. *CITED 1* gēnu, pirmo reizi klonēja 1996. gadā un sākotnēji domāja, ka tas ir tikai specifisks melanomai, taču atklāja, ka tā paaugstināta ekspresija vērojama arī citu ļaundabīgo audzēju, piemēram prostatas, glioblastomu, krūts un vairogdziedzera karcinomu gadījumos. Pētījumi demonstrē, ka *CITED1* paaugstinātu ekspresiju vēro 93% PTC, 25% FTC, 28% FTC onkocitāro formu gadījumos un 10% FA gadījumos, savukārt normālos vairogdziedzera audos tā ekspresija ir negatīva (144), kas apstiprina, ka *CITED1* ir īpaši specifisks PTC. Precīzs mehānisms, kāpēc *CITED1* PTC gadījumos pastiprināti ekspresējas, līdz galam nav skaidrs. Zināms, ka *CITED1* gēns pats nepiesaistās pie DNS, bet piedalās citu transkripcijas faktoru regulācijā, kuri piesaistās pie DNS un ietekmē transkripciju. Literatūrā atrodami interesanti novērojumi, ka *CITED1* piesaistās estrogēnu receptoram  $\alpha$  un pastiprina tā jutību pret estrogēniem, kā arī veicina estrogēnu inducēto TGF  $\alpha$  ekspresiju, kura ekspresija savukārt ir paaugstināta PTC gadījumos, salīdzinot ar normāliem vairogdziedzera audiem (211). *CCND1* (ciklīns D1) pastiprināta ekspresija vērojama gan labdabīgu, gan ļaundabīgu vairogdziedzera audzēju gadījumos. Pētījumi demonstrē, ka ciklīna ekspresija individuāli nav specifiska konkrētam vairogdziedzera ļaundabīgā audzēja apakštipam un neatrod arī korelāciju starp tā ekspresiju un audzēja attīstības pakāpi, pacienta vecumu un dzimumu. *Weinberger* un līdzautori novērojuši paaugstinātu ciklīna D1 ekspresiju 46% PTC, 46% FTC, 18% MTC un 50% ATC gadījumu (212).

Atkārtoti pētījumi demonstrē, ka ciklīna D1 ekspresija cieši korelē ar galektīna 3 ekspresiju, kas norāda, ka galektīns 3 ir svarīgs  $\beta$  katenīna/Wnt signālceļa mediators un, ka  $\beta$  katenīna stimulētā ciklīna D1 ekspresija varbūt atkarīga no galektīna 3, respektīvi, galektīns 3 pastiprina ciklīna D1 ekspresiju caur  $\beta$  katenīna atkarīgiem signālceļiem (213). Šī atradne rosina domāt, ka galektīna 3 ekspresijai ir cieša korelācija ar  $\beta$  katenīna un ciklīna D1 ekspresiju vairogdziedzera audzēju gadījumos.

### **7.5. Folikulāras adenomas un folikulāras karcinomas diferenciāldiagnostikas problēmas**

Joprojām viens no grūtākajiem patologa uzdevumiem ir atšķirt folikulāru adenomu, kuras sastop līdz pat 90% no visiem vairogdziedzera audzējiem, no minimāli invazīvas folikulāras karcinomas.

Galvenās iezīmes pierāda, ka abiem audzējiem ir virkne kopīgu bioloģisko īpašību:

- Abiem audzēja veidiem ir līdzīgs histopatoloģiskais raksturojums, izņemot invāzijas esamību
- Folikulārās karcinomas reti ir ļoti mazas. Tikai ~3-5% gadījumu tās ir  $\leq 1$ cm, pretēji 27% papillārām karcinomām. Tas rosina domāt, ka daudzas folikulāras karcinomas attīstās no jau esošiem audu bojājumiem, nevis *de novo* (214,215).
- Folikulāras karcinomas tipiski manifestējas 8-10 gadus vēlāk nekā folikulāras adenomas un ir lielākas izmēros, kas liecina par progresiju ilgākā laika vienībā (216).
- Transgēnām pelēm, kurām izraisa mutācijas *RAS* vai *PTEN* gēnos, vispirms attīstās folikulāras adenomas un lielākā vecumā vai pēc papildus goitrogēnas stimulācijas, veidojas folikulāras karcinomas (217,218).
- Abiem audzēju veidiem ir līdzīgi molekulārie un citoģenētiskie defekti: mutācijas *RAS*, *PTEN* un *PIK3CA* gēnos atrod abiem audzējiem, taču biežāk tās sastop folikulāru karcinomu gadījumos (217,218).

Turpretim, daļa pētījumu demonstrē, ka ne vienmēr adenomas progresija par karcinomu ir folikulārās karcinoģenēzes paradigma:

- Translokācijas starp 19q13 un 2p21 hromosomu lokusiem bieži sastop adenomu, savukārt ļoti reti karcinomu gadījumos, kas rosina domāt, ka adenomām, kuras nes šīs translokācijas, ir potenciāli zems risks transformēties par karcinomu (217).
- *PAX8/PPAR $\gamma$*  gēnu inducētas hromosomu pārbūves vēro lielākai daļai folikulāru karcinomu, taču samērā reti folikulāru adenomu gadījumos, kas rosina domāt, ka audzējiem ar šo ģenētisko defektu raksturīgs savs, alternatīvs ģenētiskais stāstības mehānisms bez iepriekš esošas adenomas eksistences (217,218).

Šīs atradnes, lai arī netiešas, rosina domāt, ka vairogdziedzera folikulāro šūnu tumoroģenezē iespējami trīs atšķirīgi mehānismi:

Pirmkārt, daļa karcinomu var attīstīties no iepriekš esošas adenomas, kurā izveidojusies *RAS* mutācija. Otrkārt, karcinomas, kurās detektē *PAX8/PPAR $\gamma$*  gēnu inducētas hromosomu pārbūves, var attīstīties tieši, bez iepriekš esošas adenomas stadijas. Treškārt, adenomām, kurās atrod translokācijas starp 19q13 un 2p21, kā arī hiperfunkcionējošām adenomām ar *TSHR* un *Gs $\alpha$*  mutācijām, nav raksturīga adenomas progresija karcinomā (68,82).

Galvenā histoloģiskā atšķirīgā iezīme ir kapsulas cauraugšana vai asinsvadu invāzija. Tomēr nereti viegla kapsulas cauraugšana raksturīga arī labdabīgiem folikulāriem audzējiem. Pie tam, abiem audzēju tipiem vēro dažādas attīstības pakāpes šūnu atipiju un pastiprinātu asinsvadu ieaugšanu. Lai arī vairāki pētījumi norāda, ka kapsulas cauraugšana ir mazāk svarīga nekā asinsvadu cauraugšana un, ka folikulāras karcinomas lielums un stadija korelē ar pacienta prognozi, tomēr joprojām ir nepieciešami jauni, labāki kritēriji, kuri atvieglotu diferenciāldiagnostisko darbu. Iespējams, kā alternatīva stratēģija un perspektīva ir meklēt mRNS vai proteīnus, kuru ekspresijas izmaiņas raksturīgas īpaši folikulāriem vēžiem (105,220).

Zināms, ka *TFF3* ir viens no visdaudzsološākajiem gēniem folikulāras karcinomas diagnostikā. Literatūrā aprakstīti vairāki pētījumi par kandidātģēniem vai to kombinācijām, piemēram, *Foukakis* un līdzautori demonstrēja, ka no 26 analizētajiem kandidātģēniem, *TFF3* un *hTERT* mRNS kombinācija vislabāk spēj atšķirt FA no FTC. (137). Arī *Krause* un līdzautori izanalizējot 10 kandidātģēnus, secina, ka *TFF3* ir vislabākais indikators FTC diagnostikā (133).

Mūsu pētījumā pierādījām, ka divu biomarkieru kombinācijas attiecība *TFF3/LGALS3*, vislabāk spēj atšķirt folikulāru adenoma no folikulāras karcinomas (AUC= 0,758,  $p < 0,0001$ , jutība 72,7%, specifiskums 85,3%). Tomēr neskatoties uz faktu, ka modelim ir augsts specifiskums, kopējā diagnostiskā vērtība *TFF3/LGALS3* attiecībai ir zemāka nekā *LGALS3* individuāli un, ņemot vērā, ka *TFF3* ekspresija ļaundabīgo audzēju šūnās ir pazemināta, šo modeli ir tehniski grūtāk validēt nekā modeļus, kur abu gēnu ekspresija ir paaugstināta, tāpēc klīniskajā praksē ieteicamāks būtu *LGALS3* un *BIRC5* RQ summas modelis.

## 8. Secinājumi

1. TSH ir vienīgais klīniskais riska faktors, kas statistiski ticami atšķiras starp labdabīgiem mezgliem un ļaundabīgiem vairogdziedzera audzējiem mūsu analizētajā pacientu grupā: vidējais TSH līmenis analizētajā vairogdziedzera vēžu grupā bija statistiski ticami lielāks, salīdzinot ar labdabīgo mezglu grupu ( $p=0,013$ ); tireotoksikoze malignu mezglu grupā bija tikai 2,6% pacientu, savukārt labdabīgu mezglu grupā 21,2% pacientu, ( $p=0,007$ ).

2. Piecas no sešām analizētajām US malignitātes riska pazīmēm: mikrokalcinātu esamība, hipohogenitāte, neasa mezgla kontūra, nelīdzena virsma un centrāla haotiska vaskularizācija norāda uz lielāku ļaundabīga mezgla iespējamību, salīdzinot benignus mezglus ar maligniem, savukārt divas pazīmes: mikrokalcinātu esamība un izteikta hipohogenitāte palīdz atšķirt benignus no aizdomīgiem mezgliem.

3. Tievās adatas aspirācijas biopsija ir metode ar augstu pozitīvo paredzošo vērtību, vismaz 87,5 gadījumu tās demonstrētā malignitāte apstiprinās pēcoperācijas histoloģiskajā izmeklēšanā mūsu analizētajā pacientu grupā.

4. Seruma sICAM-1 un sVCAM-1 koncentrācijas bija statistiski ticami paaugstinātas pirms ķirurģijas, salīdzinot ar koncentrācijām divus mēnešus pēc operācijas, kas liecina par vairogdziedzera mezglu spēju pastiprināti ekspresēt noteiktas adhēzijas molekulas.

5. Labdabīgus no ļaundabīgiem vairogdziedzera mezgliem spēj atšķirt septiņi no analizētajiem astoņiem kandidātgēniem mūsu analizētajā grupā (*LGALS3*, *DPP4*, *MET*, *CITED1*, *CCND1*, *BIRC5*, *TFF3*, bet ne *CDH1*). Multipla, no sešiem gēniem izveidota biomarķieru modeļa kombinācija, spēj labāk atšķirt labdabīgus mezglus no ļaundabīgiem, salīdzinot ar vienu individuālu gēnu vai divu gēnu modeli.

## 9. Praktiskie ieteikumi

Lai precīzāk atšķirtu labdabīgus vairogdziedzera mezglus no ļaundabīgiem, ieteicams:

- Rūpīgi izanalizēt riska faktorus, kas saistīti ar paaugstinātu vairogdziedzera malignitātes iespēju, piemēram jonizējošā radiācija anamnēzē, medulārs vairogdziedzera vēzis vai multipla endokrīna neoplāzija ģimenes anamnēzē, paaugstināts TSH līmenis mezglainas strumas gadījumos;
- Identificēt US malignitātes riska pazīmes: nehomogēnu struktūru, mikrokalcinātu esamību, izteikti pazeminātu ehogenitāti, neasu kontūru, nelīdzenu virsmu, centrālu haotisku vaskularizāciju un mezgla augstumu>platumu;
- Pacientus ar vismaz divu US malignitātes riska pazīmju kombināciju nosūtīt uz tievās adatas aspirācijas biopsiju;
- Ja tievās adatas aspirācijas biopsija demonstrē atipisku šūnu klātbūtni, tā jāatkārto pēc 3 mēnešiem; atkārtotas atipiskas atradnes gadījumā indicēta ķirurģiska ārstēšana;
- Ja tievās adatas aspirācijas biopsija parāda aizdomas uz malignitāti vai apstiprina malignitāti, indicēta ķirurģiska ārstēšana;
- Ja tievās adatas aspirācijas biopsijā ir diferenciāldiagnoze starp papillāru un folikulāru vairogdziedzera vēzi, iesaka noteikt *BRAF* V600E mutāciju, kas ir augsti specifiska papillāram vairogdziedzera vēzim.

# 10.Pielikumi

## 10.1.Ētikas komitejas atļauja

1.pielikums LEKMI Zinātniskās izpētes  
Ētikas komisijas nolikumam.  
Apstiprināts: LEKMI ZP sēdē

### LATVIJAS EKSPERIMENTĀLĀS UN KLĪNISKĀS MEDICĪNAS INSTITŪTA

#### ZINĀTNISKĀS IZPĒTES ĒTIKAS KOMISIJA

#### PIETEIKUMS

#### I. PROJEKTA VADĪTĀJS

Vārds, uzvārds: **Valdis Pīrāgs, zinātniskais grāds:** profesors  
Zinātniskās iestādes nosaukums: *LU Eksperimentālās un klīniskās medicīnas institūts, P.Stradiņa KUS*  
Adrese: *O.Vācieša ielā 4, Rīga LV-1004; Pilsoņu 13, Rīga LV-1002*  
Tālr.: 29237760; E-pasts: [pirags@latnet.lv](mailto:pirags@latnet.lv)

#### II. PROJEKTA NOSAUKUMS

**JAUNU MOLEKULĀRO MARKĪERU IDENTIFIKĀCIJA VAIROGDZIEDZERA MEZGLU UN  
AUDZĒJU GADĪJUMOS**

#### III. PROJEKTA IZPILDĪTĀJI

Vārds, uzvārds: **Kristīne Ducena, zinātniskais grāds:** LU MF doktorante  
Zinātniskās iestādes nosaukums: *LU Eksperimentālās un klīniskās medicīnas institūts, P.Stradiņa KUS*  
Adrese: *O.Vācieša ielā 4, Rīga LV-1004; Pilsoņu 13, Rīga LV-1002*  
Tālr.: 29494947; E-pasts: [kristine@ducens.com](mailto:kristine@ducens.com)

Vārds, uzvārds: **Pēteris Tretjakovs; Zinātniskais grāds:** *Dr. biol.* Amats: *vad. pētnieks*  
Zinātniskās iestādes nosaukums: *LU Eksperimentālās un klīniskās medicīnas institūts*  
Nodaļa: *Endokrinoloģijas; Adrese: O.Vācieša ielā 4, Rīga LV-1004*  
Tālr.: 7069309; 26167125 Fakss: 7612038; E-pasts: [tretjako@latnet.lv](mailto:tretjako@latnet.lv)

Vārds, uzvārds: **Antra Jurka; Zinātniskais grāds:** *Dr. biol.* Amats: *vad. pētnieks*  
Zinātniskās iestādes nosaukums: *LU Eksperimentālās un klīniskās medicīnas institūts*  
Nodaļa: *Endokrinoloģijas; Adrese: O.Vācieša ielā 4, Rīga LV-1004*  
Tālr.: 7069309; Fakss: 7612038; E-pasts: [antra.jurka@latnet.lv](mailto:antra.jurka@latnet.lv)

Vārds, uzvārds: **Edvīns Miklaševičs** Zinātniskais grāds: *Dr. biol.* Amats: *vad. pētnieks*  
Zinātniskās iestādes nosaukums: *P. Stradiņa KUS*  
Nodaļa: *Molekulārās bioloģijas un ģenētikas; Adrese: Pilsoņu 13, Rīga, LV - 1002*  
Tālr.: 7069980 E-pasts: [edvins@stradini.lv](mailto:edvins@stradini.lv)

Vārds, uzvārds: **Jānis Vilmanis;** Zinātniskais grāds: *– (ārsts-ķirurgs).* Amats: *pētnieks;* Zinātniskās iestādes  
nosaukums: *P. Stradiņa KUS*  
Nodaļa: *3. Ķirurģijas; Adrese: Pilsoņu 13, Rīga, LV - 1002*  
Tālr.: 7069203, 7614305; E-pasts: [jvilmanis@inbox.lv](mailto:jvilmanis@inbox.lv)

Vārds, uzvārds: **Zenons Narbutis;** Zinātniskais grāds: *– (ārsts-ķirurgs).* Amats: *pētnieks;* Zinātniskās iestādes  
nosaukums: *P. Stradiņa KUS*  
Nodaļa: *5. Ķirurģijas; Adrese: Pilsoņu 13, Rīga, LV - 1002*  
Tālr.: 7069205, 7614305; E-pasts: [narbutis@apollo.lv](mailto:narbutis@apollo.lv)

VI. APLIECINĀJUMS Es, Valdis Pīrāgs (vadošais pētnieks),

esmu pilnībā iepazinies ar informāciju, kas attiecināma uz pētījumu. Es ievērošu pētījuma protokolu, Helsinku deklarāciju un uz klīniskiem pētījumiem attiecināmos Latvijas Republikā spēkā esošus likumdošanas nosacījumus. Man ir pienākums ziņot par protokola izmaiņām un klīniskā pētījuma rezultātiem kompetentām pētniecības iestādēm un komisijām.

Datums 30.10.2007.

Paraksts



Šo vietu aizpilda LEKMI Zinātniskās izpētes Ētikas komisija

VII. PARAKSTI

APSTIPRINĀTS

NEAPSTIPRINĀTS

Datums 5.11.2007. Paraksts, atšifrējums



LEKMI Zinātniskās izpētes Ētikas komisija

Datums 05.11.2007. Paraksts, atšifrējums



Direktors, LEKMI



## 10.2. Pacienta informācijas lapa un piekrišanas forma

### Pacienta informācijas lapa

LU Eksperimentālās un klīniskās medicīnas institūts (LU EKMI) sadarbībā ar Paula Stradiņa klīnisko universitātes slimnīcu veic zinātnisku pētījumu *"Jaunu molekulāro marķieru identifikācija vairogdziedzera mezglu un audzēju gadījumos"*.

Vairogdziedzera mezgli ir bieža atradne pieaugušo populācijā. Palpējamus mezglus diagnosticē vidēji 5% gadījumu un to incidence ir ~1 gadījums uz 1000 iedzīvotājiem gadā. Ultrasonoskopiski izmeklējot, mezglus atrod daudz biežāk – 40-67% gadījumu. Vairogdziedzera audzēji, savukārt, ir relatīvi reta atradne. Tie sastāda ~ 20-80 gadījumu uz miljonu iedzīvotāju gadā ar letalitāti 5-8 gadījumi uz miljonu iedzīvotāju gadā. Tomēr ir skaidri pierādīts, ka pat nepalpējams mezgls varbūt ļaundabīgs un okultu vairogdziedzera vēžu sastopamība autopsijās ir vidēji 6% gadījumu [21]. Klīniskajā praksē nereti rodas jautājums: kā rīkoties vairogdziedzera mezglu gadījumā, kāda ir pareizā taktika – novērot vai operēt?

Līdz šim klīniskajā praksē vēl nav pieejamas precīzas agrīnās diagnostikas metodes, ar kuru palīdzību var novērtēt audzēja risku vairogdziedzera mezglu gadījumos. Šī pētījuma rezultātā, apkoposim savāktos audu paraugus no veselām uz izmainītajām vairogdziedzera daļām un tajos analizēsīm audzēju marķieru ekspresiju. Šī pētījuma gala mērķis ir atrast atšķirību starp audzēju marķieru ekspresiju veselo, labdabīgo mezglu un ļaundabīgo audzēju gadījumos, lai nākotnē tos varētu analizēt arī pirms operācijas punkcijas materiālā un venozajās asinīs, kas savlaicīgi ļautu izvērtēt onkoloģisko risku.

**Jūs esiet uzaicināts (-a) piedalīties šajā pētījumā, un Jūsu dalība tajā ir absolūti brīvprātīga. Ja Jūs vēlēšities pārtraukt savu līdzdalību pētījumā, Jūsu ārstēšanas kurss un attiecības ar ārstiem nekādā ziņā netiks mainītas. Pēc Jūsu vēlēšanās, Jūsu līdzdalība tajā var tikt pārtraukta jebkurā brīdī, nemainot pierasto ārstēšanas kursu un tā kvalitāti. Jūsu ārsts ir tiesīgs pārtraukt Jūsu līdzdalību pētījumā, ja tas būtu ieteicams sakarā ar Jūsu veselības stāvokli.**

Pirms operācijas un sešu līdz astoņu nedēļu laikā pēc operācijas Jums paņems divus stobriņus ar venozajām asinīm, kuri nepieciešami augšanas faktoru un citokīnu noteikšanai.

Pētījuma laikā no izoperētā vairogdziedzera mezgla paņems audu gabaliņu, kuru vēlāk iesaldēs un tajā analizēs audzēju marķieru ekspresiju. Ja būs iespējams, paņems arī materiālu no blakus esošajiem neizmainītajiem vairogdziedzera audiem, ar mērķi salīdzināt audzēju marķieru ekspresiju starp veselajiem un izmainītajiem vairogdziedzera audiem. Neviens no minētajiem izmeklējumiem nepaildzinās Jūsu uzturēšanos slimnīcā.

Izmeklējumu laikā tiks nodrošināta maksimāla drošības pakāpe. Ja slimniekam izmeklējuma laikā radīsies jebkādi sarežģījumi, to ārstēšanas izmaksas segs zinātniskā projekta-granta vadītājs no šī projekta atvēlētajiem līdzekļiem. Jums nebūs jāsedz nekādi izdevumi, kas saistīti ar Jūsu līdzdalību pētījumā.

Visa medicīniskā informācija tiks uzskatīta par konfidenciālu. Neviens, izņemot Jūsu ārstu un pētījuma personālu, nezinās par Jūsu līdzdalību šajā pētījumā. Personas identifikācija notiks, izmantojot pacienta iniciāļus un pētījuma numuru. Jūsu vārds netiks iekļauts nevienā atskaitē. Ar savu parakstu Jūs dodat atļauju tikai Ētikas komisijas darbiniekiem un valsts pārvaldes institūcijām īpašas nepieciešamības gadījumā piekļūt Jūsu medicīniskajai dokumentācijai. Neskaidrību, problēmu un jautājumu gadījumā visu pētījuma laiku Jūs varat griezties pie projekta pētnieces ārstes – endokrinoloģes Dr. Kristīnes Ducenas.

Pilsoņu iela 13, 9. endokrinoloģijas nodaļa, LV-1002, Rīga, tālr. 7069209,  
[kristine@ducens.com](mailto:kristine@ducens.com)

## Pacienta piekrišanu apliecinošā veidlapa

Es, \_\_\_\_\_  
/pacienta vārds, uzvārds/

ar šo apliecinu, ka esmu informēts (-a) par pētnieces, Dr. K. Ducenas pētījuma:  
" *Jaunu molekulāro marķieru identifikācija vairogdziedzera mezglu un audzēju  
gadījumos*" gaitu un iespējamiem riska faktoriem.

Esmu izlasījis (-usi) un iepazīties (-usies) ar pacienta informācijas lapu, kas ir saistīta ar šo pētījumu. Bez tam man ir bijusi iespēja noskaidrot visus mani interesējošos jautājumus šajā sakarā. Esmu sapratis (-usi) man sniegtās atbildes.

Es apzinos un saprotu, ka pētniece ārste endokrinoloģe Dr. K. Ducena var informēt manu ārstējošo ārstu par pētījuma norisi. Es saprotu, ka visa informācija, kas ir saistīta ar pētījuma norisi, tiks uzskatīta par konfidenciālu, un mans vārds netiks minēts nevienā atskaitē.

Ar šo es apliecinu, ka esmu brīvprātīgi piekritis (-usi) piedalīties pētījumā, paturot sev tiesības jebkurā laikā saņemt papildus informāciju par pētījuma norisi, kā arī atsaukt savu piedalīšanos pētījumā. Tāpat arī *pētniecei*, ārstei endokrinoloģei Dr. K. Ducenai ir tiesības jebkurā laikā atsaukt manu piedalīšanos pētījumā.

Pacienta vārds, uzvārds

\_\_\_\_\_  
(drukātiem burtiem)

Pacienta paraksts \_\_\_\_\_

Datums \_\_\_\_\_

**Es ar šo apliecinu, ka esmu pilnībā izskaidrojusi pētījuma būtību un norisi, kā arī riska pakāpi, kas pastāv piedaloties šajā pētījumā –**

***Pētniece* ārste endokrinoloģe Kristīne Ducena**

Paraksts \_\_\_\_\_

Datums \_\_\_\_\_

### 10.3. Pacientu aptaujas anketa

## VESELĪBAS UN IEDZIMTĪBAS ANKETA

(aizpilda genoma pētījumu dalībnieks kopā ar pētījuma darbinieku)

### I daļa – INTERVIJA

1. Kāds ir jūsu dzimums? Sieviete  Vīrietis
2. Jūsu dzimšanas gads? Gads: \_\_\_\_\_ Kāds ir jūsu šobrīd vecums gados? Gadi: \_\_\_\_\_
3. Kur Jūs esat dzimis? Kurzeme , Vidzeme , Latgale , Zemgale , Rīga , Cita valsts \_\_\_\_\_
4. Kur dzimuši Jūsu tuvinieki (atzīmējiet tikai to, ko Jūs zināt, izmantojot augstākminētos reģionu apzīmējumus)?  
Tēvs \_\_\_\_\_ Tēva tēvs \_\_\_\_\_ Tēva māte \_\_\_\_\_  
Māte \_\_\_\_\_ Mātes tēvs \_\_\_\_\_ Mātes māte \_\_\_\_\_
5. Kāda ir Jūsu un Jūsu tuvinieku tautība? Jūsu \_\_\_\_\_  
Tēva \_\_\_\_\_ Tēva tēva \_\_\_\_\_ Tēva mātes \_\_\_\_\_  
Mātes \_\_\_\_\_ Mātes tēva \_\_\_\_\_ Mātes mātes \_\_\_\_\_
6. Kāds ir Jūsu ģimenes stāvoklis? Precējies , Neprecējies , Šķīries , Atraitnis
7. Kādi ir jūsu dzīves apstākļi? Dzīvoju viens  dzīvoju ar ģimeni  dzīvoju ar partneri  dzīvoju ar vecākiem
8. Vai Jums ir brāļi vai māsas? Nē  Jā  māsas \_\_\_\_\_ brāļi \_\_\_\_\_ pusmāsas \_\_\_\_\_ pusbrāļi \_\_\_\_\_
9. Vai Jums ir dvīņubrālis vai dvīņumāsa? Nē  Jā  brālis \_\_\_\_\_ māsa \_\_\_\_\_
10. Vai Jums ir savi bērni? Nē  Jā  meitas \_\_\_\_\_ dēli \_\_\_\_\_
11. Kāda ir Jūsu izglītība? Augstākā , Vidējā , Speciālā , Pamatskolas
12. Vai Jūs esat Černobiļas AES avārijas seku likvidators? Jā , Nē
13. Vai Jūs dzīves laikā esat bijis pakļauts kaitīgiem vides vai darba faktoriem? Nē , Jā .  
Kādiem? \_\_\_\_\_
14. Vai Jums ir alerģija? Nē , Jā , Iespējams , Nezinu , Ja zināt, tad pret ko? \_\_\_\_\_
15. Vai Jums ir medikamentu nepanesamība? Nē , Jā , Iespējams , Nezinu ,  
Ja ir, tad kurus medikamentus nepanesat?  
Novokaīns  Hormoni  Sirds zāles  Vakcīnas  Kontrastvielas  Vitamīni   
Antibiotiķi  Aspirīns  Pretsāpju  Asinsspiediena  Citi  \_\_\_\_\_
16. Vai Jūs regulāri lietojat medikamentus? Nē , Jā  Kādus?  
Pret bezmiegu  Pret sirdslēkmēm  Pret sirds ritma traucējumiem  Pret sāpēm   
Pret krampjiem  Pret paaugstinātu asinsspiedienu  Pret elpas trūkumu  Antibiotiķus   
Hormonu preparātus  Hormonālo kontracepciju  Pret paaugstinātu glikozes līmeni   
Pret gremošanas traucējumiem  Vitamīnus  Citus  \_\_\_\_\_
17. Vai Jūs šobrīd smēķējat? Nē , Jā  Cik gadus? \_\_\_\_\_ Cik cigaretes dienā? \_\_\_\_\_
18. Vai Jūs dzīves laikā jebkad esat smēķējis un šobrīd atmetis? Nē , Jā   
Cik gadus kopumā ir smēķēts? \_\_\_\_\_ Cik cigaretes dienā vidēji? \_\_\_\_\_
19. Vai bieži esat uzturējies piesmēķētās telpās? Nē , Jā
20. Vai Jūs lietojiet alkoholu?  
Nē , izņēmuma gadījumos , 1-2 reizes nedēļā , vismaz 3 reizes nedēļā , katru dienu

**21. Cik daudz vidēji vienā reizē lietojiet alkoholu? (1 glāzīte = apmēram 50g stiprā alkohola, )**

Vienu glāzīti , dažas glāzītes , līdz labsajūtai , kamēr vairs nav ko dzert .

**22. Kāds ir Jūsu dzīvesveids šobrīd un agrāk?**

Dzīvesveids	Pārsvarā sēžu, guļu, pārvietojos ar automašīnu, fiziska slodze ne biežāk kā reizi nedēļā. Fiziski neaktīvs,	Eju kājām iepirkties, pastaigāties, bet fiziska slodze ne biežāk kā 4 reizes nedēļā. Fiziski mazaktīvs,	Strādāju fiziski smagu darbu, bieži braucu ar velosipēdu, skrienu, peldu, sportoju vairāk kā 4 reizes nedēļā. Fiziski aktīvs,	Esmu profesionāls sportists
Agrāk	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pēdējā laikā	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**23. Cik ilgi ir dzīvojuši Jūsu tuvinieki?**

Lūdzu ierakstiet mirušo tuvinieku vecumu atbilstošajā vietā.

Lūdzu neatzīmēt tos tuviniekus, priekšlaicīgi gājuši bojā - krituši karā, gājuši bojā izsūtījumā, nelaimes gadījumos un tamlīdzīgi.

	<20	21-30g.v	31-40.g.v	41-50g.v.	51-60g.v.	61-70.g.v.	71-80g.v.	>80.g.v.	nezinu
Tēvs									
Māte									
Tēva tēvs									
Tēva māte									
Mātes tēvs									
Mātes māte									
Brāļi									
Māsas									
Dēli									
Meitas									

**24. Vai Jūsu ģimenē ir bijuši saslimšanas gadījumi ar ļaundabīgiem audzējiem?**

Nē , Nezinu , Jā

Ja jā, tad lūdzu ierakstiet slimo tuvinieku skaitu un saslimšanas aptuveno vecumu atbilstošajā vietā!

Paskaidrojums: tantes ir tēva vai mātes māsas, onkuļi ir tēva vai mātes brāļi.

Onkoloģiskā slimība	Jums pašam	tēvam	mātei	Brāļiem, māsām	Tēva vecākiem	Mātes vecākiem	Tantiem, onkuļiem no tēva puses	Tantiem, onkuļiem no mātes puses
Krūts vēzis								
Plaušu vēzis								
Dzemes kakla								
Olnīcu vēzis								
Barības vada								
Kuņģa vēzis								
Zarnu vēzis								
Aizkuņģa								
Prostatas vēzis								
Melanoma								
Nieru/urīnpūšļa								
Asinsrades sistēmas								
Ir, bet nezina kāds audzējs								

Kāda cita onkoloģiska slimība? Lūdzu ierakstiet kāda un kam no ģimenes un asinsradniekiem

---



---



---



---

**25. Vai Jūsu ģimenē ir bijuši saslimšanas gadījumi ar sirds un asinsvadu sistēmas slimībām?**

Nē , Nezinu , Jā

Ja jā, tad lūdzu ierakstiet saslimšanas aptuveno vecumu, kā arī tuvinieku skaitu (ja vairāk par 1) atbilstošajā vietā!

Slimība	Jums pašam	tēvam	mātei	brālim	māsai	dēlam	meitai	kādam no vecvecākiem
Augsts asinsspiediens								
Stenokardija								
Miokarda infarkts								
Insults								
Paaugstināts holesterīns								
Sirds mazspēja								
Kāda cita, bet nezina precīzi kāda?								

Kāda cita sirds asinsvadu sistēmas slimība? Lūdzu ierakstiet kāda un kam no ģimenes un asinsradniekiem

---



---



---



---

**26. Vai Jūsu ģimenē ir bijuši saslimšanas gadījumi ar vielmaiņas un endokrīnām slimībām?**

Nē , Nezinu , Jā

Ja jā, tad lūdzu ierakstiet saslimšanas aptuveno vecumu, kā arī tuvinieku skaitu (ja vairāk par 1) atbilstošajā vietā!

Slimība	Jums pašam	tēvam	mātei	brālim	māsai	dēlam	meitai	kādam no vecvecākiem
1. tipa cukura diabēts								
2. tipa cukura diabēts								
Vairogdziedzera slimības								
Aptaukošanās								
Kāda cita, bet nezina precīzi kāda?								

Kāda cita vielmaiņas vai endokrīnā slimība? Lūdzu ierakstiet kāda un kam no ģimenes un asinsradniekiem

---



---



---



---

**27. Vai Jūs vai kāds no Jūsu tuviniekiem cieš no kādām citām hroniskām kaitēm?**

Nē , Nezinu , Jā

Ja jā, tad lūdzu ierakstiet kurš tuvinieks un aptuveni kādā vecumā

---



---



---



---



---



---

**28. Vai pēdējā gada laikā griezāties pēc palīdzības vai bijāt uz plānveida vizīti pie kāda no nosaukto specialitāšu ārstiem?**

Infektologs	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Asins vai asinsrades orgānu slimību speciālists (hematologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Uztura, vielmaiņas un endokrīno slimību speciālists (endokrinologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Nervu sistēmas slimību speciālists (neirologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Acu slimību speciālists (oftalmologs, okulists)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Ausu, kakla, deguna ārsts (LOR)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Plaušu slimību speciālists (pulmonologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Gremošanas slimību speciālists (gastroenterologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Ādas un zemādas slimību speciālists (dermatologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Skeleta, muskuļu, saistaudu slimību speciālists (reimatologs, traumatologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Uroģenitālās sistēmas slimību speciālists (urologs, nefrologs)	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>
Ginekologs	Jā <input type="checkbox"/> Nē <input type="checkbox"/>

**29. Vai Jums šobrīd ir kādas veselības problēmas izņemot to, kuras dēļ griezāties pie ārsta?**

Lūdzu minēt ārstu uzstādītas diagnozes, ja tās ir zināmas.

Nē , Nezinu , Jā

Ja jā, tad lūdzu ierakstiet kādas

---

---

---

---

---

---

---

---

**II daļa – MĒRĪJUMI**

1. Pētījuma dalībnieka augums \_\_\_\_\_ cm.    svars \_\_\_\_\_ kg.?
2. Pētījuma dalībnieka vēdera apkārtmērs \_\_\_\_\_ cm
3. Pētījuma dalībnieka arteriālais asinsspiediens pirms intervijas \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ mmHg
4. Pētījuma dalībnieka arteriālais asinsspiediens pēc intervijas \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ mmHg
5. Pētījuma dalībnieka pulsa frekvence \_\_\_\_\_

PALDIES PAR ATBILDĒM ©



#### 10. 4. 95% TI aprēķinu tabulas

**13. tabula (95%TI aprēķins 1.attēlam: US malignitātes riska pazīmju sastopamība (%) pacientiem ar vairogdziedzera vēzi un labdabīgiem vairogdziedzera mezgliem.)**

	N no 25	% no vēžiem	SE	95%TI apakšr.	95%TI augšr.	N no 74	% no benign.	SE	95%TI apakšr.	95%TI augšr.
mikrocalc.	9	36.0	9,6	17,2	54,8	13	17.6	4,4	8,9	26,2
hipoehog.	15	60.0	9,8	40,8	79,2	25	33.8	5,5	23,0	44,6
nereg. rob.	9	36.0	9,6	17,2	54,8	23	31.1	5,4	20,5	41,6
bez halo zonas	2	8.0	5,4	-2,6	18,6	0	0.0	0	0	0
centr vask	4	16.0	7,3	1,6	30,4	4	5.4	2,6	0,3	10,6

**14. tabula (95%TI aprēķins 2.attēlam: USG pazīmju īpatsvars (%) atkarībā no histoloģijas.)**

		benigni mezgli	SE	95%TI apakšrob.	95%TI augšrob.	vēzis	SE	95%TI apakšr.	95%TI augšr.
nav	skaits	44				7			
	%	59.50%	5,7	48,3	70,6	28.00%	9,0	10,4	45,6
mikrocalc	skaits	5				3			
	%	6.80%	2,9	1,0	12,5	12.00%	6,5	-0,7	24,7
hipoehog	skaits	17				9			
	%	23.00%	4,9	13,4	32,6	36.00%	9,6	17,2	54,8
abas	skaits	8				6			
	%	10.80%	3,6	3,7	17,9	24.00%	8,5	7,3	40,7
kopā	skaits	74				25			
	%	100.00%				100.00%			

**15. tabula (95%TI aprēķins 3. attēlam: US malignitātes riska pazīmju sastopamība analizētajās citoloģiskajās grupās.)**

US malignitātes riska pazīme	FNA citoloģiskā grupa	Pazīmes sastopamība (%) citoloģiskajā grupā	SE <sub>x1,96</sub>	95% TI(apakš. un augš. robeža)	P vērtības
Centrāla haotiska vaskularizācija	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligns</li> <li>• Susp.mal.</li> <li>• Atipisks</li> <li>• Benigns</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 41,4</li> <li>• 10,0</li> <li>• 33,3</li> <li>• 10,2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,176</li> <li>• 0,131</li> <li>• 0,307</li> <li>• 0,107</li> </ul>	23,4-58,6 -3,1-23,1 2,3-63,7 1,3-20,9	P<0,001
Nelīdzena virsma	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligns</li> <li>• Susp. mal.</li> <li>• Atipisks</li> <li>• Benigns</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 37,9</li> <li>• 15,0</li> <li>• 44,4</li> <li>• 12,0</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,175</li> <li>• 0,156</li> <li>• 0,324</li> <li>• 0,035</li> </ul>	19,5-54,5 -0,6-30,6 11,6-76,4 8,5-15,5	P<0,001
Neasa kontūra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligns</li> <li>• Susp. mal.</li> <li>• Atipisks</li> <li>• Benigns</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 37,9</li> <li>• 35,0</li> <li>• 22,2</li> <li>• 19,4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,175</li> <li>• 0,209</li> <li>• 0,270</li> <li>• 0,043</li> </ul>	19,5-54,5 14,1-55,9 -4,8-49,0 15,1-23,7	P=0,056
Hipoehogenitāte	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligns</li> <li>• Susp. mal.</li> <li>• Atipisks</li> <li>• Benigns</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 82,8</li> <li>• 75,0</li> <li>• 55,6</li> <li>• 47,2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,139</li> <li>• 0,189</li> <li>• 0,325</li> <li>• 0,054</li> </ul>	68,1-95,9 56,1-93,9 22,5-87,5 41,6-52,4	P<0,001
Mikrokalcināti	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligns</li> <li>• Susp. mal.</li> <li>• Atipisks</li> <li>• Benigns</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 58,6</li> <li>• 40,4</li> <li>• 22,2</li> <li>• 7,7</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,179</li> <li>• 0,214</li> <li>• 0,270</li> <li>• 0,029</li> </ul>	40,1-75,9 19,6-61,4 -4,8-49,0 4,8-10,6	P<0,001
Nehomogēna struktūra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligns</li> <li>• Susp. mal.</li> <li>• Atipisks</li> <li>• Benigns</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 62,1</li> <li>• 40,0</li> <li>• 66,7</li> <li>• 52,5</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,176</li> <li>• 0,214</li> <li>• 0,309</li> <li>• 0,054</li> </ul>	44,4-79,6 18,6-61,4 35,1-96,9 46,6-57,4	

**16. tabula (95%TI aprēķins 5. attēlam: US pazīmju: mikrokalcinātu un hipoehogenitātes kombinēšanās analizētajās citoloģiskajās grupās.)**

		ben	atipija	susp malign	malign
mikrocalc +hipo	skaits	16	1	6	14
	%	4.90%	11.10%	30.00%	48.30%
Kopā	skaits	324	9	20	29
	%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	SE	1,2	10,5	10,2	9,3
	95%TI apakšrob.	2,6	-9,4	9,9	30,1
	95%TI augšrob.	7,3	31,6	50,1	66,5

**17. tabula (95%TI aprēķins 6. attēlam: FNA biopsiju salīdzinājums ar histoloģisko atradni.**

		atipija	susp malign	malign
vēzis histol.	skaits	1	9	28
	%	11.10%	45.00%	87.50%
kopā	skaits	9	20	32
	%	100.00%	100.00%	100.00%
	SE	10,5	11,1	5,8
	95%TI apakšrob.	-9,4	23,2	76,0
	95%TI augsrob.	31,6	66,8	99,0

## 11. LITERATŪRAS ATSAUCES

1. Stewart BW, Kleihues P. World Cancer Report, Lyon: *IARC Press*; 2003
2. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2007. [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2005/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/).
3. Liebeskind A, Sikora AG, Komisar A, Slavitt D, Fried K. Rates of malignancy in incidentally discovered thyroid nodules evaluated with sonography and fine-needle aspiration. *J Ultrasound Med* 2005;24:629-634.
4. Knauf JA, Ma X, Smith EP, et al. Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancers that undergo dedifferentiation. *Cancer Res* 2005;65:4238-4245.
5. Baloch ZW, Li Volsi VA, Asa SL, et al. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol*. 2008;36: 425-437.
6. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55:74-108.
7. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgan AM, et al. A National Cancer Data Base Report on 53 856 cases of thyroid carcinoma treated in U.S.,1985-1995. *Cancer* 1998;83:2638-2648.
8. Burgess JR. Temporal trends for thyroid carcinoma in Australia: an increasing incidence of papillary thyroid carcinoma (1982-1997). *Thyroid* 2002;12:141-149.
9. Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *Jama* 2006;295:2164-2167.
10. Albores-Saavedra J, Henson DE, Glazer E, et al. Changing patterns in the incidence and survival of thyroid cancer with follicular phenotype: papillary, follicular and anaplastic: a morphological and epidemiological study. *Endocrin Pathol* 2007;18:1-7.
11. Leenhardt L, Grosclaude P, Cherie-Challine L. Increases incidence of thyroid carcinoma in France: a true epidemic or thyroid nodule management effects. *Thyroid* 2004;14:1056-1060.

12. Rojeski MT, Gharib H. Nodular thyroid disease. Evaluation and management. *N Engl J Med* 1985;313:428-436.
13. Burgess JR, Tucker P. Incidence trends for papillary thyroid carcinoma and their correlation with thyroid surgery and thyroid fine-needle aspirate cytology. *Thyroid* 2006;16:47-53.
14. Hemminki K, Eng C, Chen B. Familial risks for nonmedullary thyroid cancer. *J Endocrinol Metab* 2005;90:5747-5753.
15. Plail RO, Bussey HL, Glazer G et al. Adenomatous polyposis: an association with carcinoma of the thyroid. *Br J Surg.* 1987;74: 377-380.
16. Malchoff CD, Malchoff DM. Familial nonmedullary thyroid carcinoma. *Cancer Control* 2006;13:106-110.
17. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, et al. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine Organs. Lyon: *IARC Press*; 2004.
18. Tallini G, Hsueh A, Liu S, et al. Frequent chromosomal DNA unbalance in thyroid oncocyctic (Hurthle cell) neoplasms detected by comparative genomic hybridization. *Lab Invest* 1999;79: 547-555.
19. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43:55-68.
20. De Lange F. The disorders induced by iodine deficiency. *Thyroid* 1994; 4:107-128.
21. D'Avanzo B, La Vecchia C, Franceschi S, et al. History of thyroid diseases and subsequent thyroid cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4:139-199.
22. Franceschi S, Preston-Martin S, Dal Maso L, et al. A pooled analyses of case control studies of thyroid cancer. IV. Benign thyroid diseases. *Cancer causes Control* 1999;10: 583-595.
23. Vestergard P. Smoking and thyroid disorders – a meta analysis. *Eur J Endocrinol* 2002; 146:153-161.
24. Knudsen N, Bulow I, Lauberg P et al. High occurrence of thyroid multinodularity and low occurrence of subclinical hypothyroidism among tobacco smokers in large population study. *J Endocrinol* 2002; 175:571-576.

25. Cardis E, Kesminiene A, Ivanov V, et al. Risk of thyroid cancer after exposure of I131 in childhood. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:724-732.
26. Ron E, Lubin JH, Shore RE, et al. Thyroid Cancer after exposure to external radiation: a pooled analyses of seven studies. *Radiat Res* 1995;141:259-277.
27. Nikiforov YE. Radiation-induced thyroid cancer: what we have learned from Chernobyl. *Endocr Pathol* 2006;17:307-317.
28. Schneider AB, Ron E, Lubin J, et al. Dose-response relationships for radiation-induced thyroid cancer and thyroid nodules: evidence for the prolonged effects of radiation on the thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:362-369.
29. Kung TM, Gibson JB. Volcanoes and carcinoma of the thyroid: a possible association. *Arch Environ Health* 1981;36:265-275.
30. Arnbjornsson E, Arnbjornsson A, Olafsson A. Thyroid cancer incidence in relation to volcanic activity. *Arch Environ Health* 1986;41:36-40.
31. Goodman MT, Yoshizawa CN, Kolonel LN. Descriptive epidemiology of thyroid cancer in Hawaii. *Cancer* 1988; 61:1272-1281.
32. Rossing MA, Schwartz SM, Weiss NS. Thyroid cancer incidence in Asian migrants to the United States and their Descendants. *Cancer Causes Control* 1995; 6:439-444.
33. Clark JR, Eski SJ, Freeman JL. Risk of malignancy in Filipinos with thyroid nodules-a matched pair analysis. *Head Neck* 2006; 28: 427-431.
34. Spitz MR, Sider JG, Katz RL, Pollack ES, Newell GR. Ethnic patterns of thyroid cancer incidence in the United States 1973-1981. *Int J Cancer* 1988; 42: 549-553.
35. Hrafinkelsson J, Jonasson JG, Sigurdsson G, Sigvaldason H, Tulinius H. Thyroid cancer in Iceland 1955-1984. *Acta Endocrinol(Copenh)* 1989;118:566-572.
36. Chien PS, Mak OT, Huang HJ. Induction of COX-2 protein expression by vanadate in A549 human lung carcinoma cell line through EGF receptor and p38 MAPK-mediated pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 339: 562-568.
37. Longo BM. The Kilauea Volcano adult health study. *Nurs Res* 2009;58:23-31.
38. Wingren G, Hatschek T, Axelson O. Determinants of papillary cancer of the thyroid. *Am J Epidemiology* 1993;138: 482-491.
39. Jin J, Machekano R, Mc Henry CR. The utility of preoperative serum thyroid-stimulating hormone level predicting malignant thyroid disease. *Am J Surg* 2010;199:294-298

40. Boelaert K, Joracek J, Holder RL, Watkinson JC, Sheppard MC, Franklyn JA. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4295-4301.
41. Marqusee E, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Larsen PR, Cibas ES, Mandel SJ. Usefulness of ultrasonography in the management of nodular thyroid disease. *Ann Intern Med* 2000;133:696-700.
42. Harach HR, Williams GT, Williams ED. Familial adenomatous polyposis associated thyroid carcinoma: a distinct type of follicular cell neoplasm. *Histopathology* 1994;25:549-561.
43. Charkes ND. On the prevalence of familial nonmedullary thyroid cancer in multiply affected kindreds. *Thyroid* 2006; 16:181-186.
44. Hundahl SA, Cady B, Cunningham Mp, et al. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in US during 1996. *Cancer* 2002; 89: 202-217
45. Fagin JA. Minireview: branded from the start-distinct oncogenic initiating events may determine tumour fate in thyroid. *Mol Endocrinol* 2002;16: 903-911.
46. Negri E, Dal Maso L, Ron E, et al. A pooled analyses of case control studies of thyroid cancer.II. Menstrual and reproductive factors . *Cancer causes Control* 1999;10: 143-155.
47. Chen GG, Vlantis AC, Zeng Q, Van Hasselt CA. Regulation of cell growth by estrogen signaling and potential targets in thyroid cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8: 367-377.
48. Manole D, Schildknecht B, Gosnell B, Adams E, Derwahl M. Estrogens promotes growth of human thyroid tumor cells by different molecular mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1072-1077.
49. Michell JC, Parangi S. Angiogenesis in benign and malignant thyroid disease. *Thyroid* 2005;15: 494-510
50. De Bellis A, Bizzaro A.et al. Behavior of intercellular adhesion molecule-1 and endothelial leukocyte adhesion molecule-1 concentrations in patients with Graves disease with or without ophthalmopathy and in ptiens with toxic adenoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1995 Jul;80(7):2118-21

51. Niedzwiecki S, Stepień T et al. Serum levels of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) in thyroid cancer patients. *Langenbecks Arch Surg* 2008 May; 393 (3): 275-80.
52. Bunone G, Vigneri P, Mariani L et al. Expression of angiogenesis stimulators and inhibitors in human thyroid tumors and correlation with clinical pathological features. *Am Pathol*.1999;155:1967-1976
53. Poulaki V, Mitsiades CS, McMullan C et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression and insulin-like growth factor in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5392-5398
54. Klubo-Gwiedzinska J, Junik R et al. The comparison of serum vascular endothelial growth factor levels between patients with metastatic and non-metastatic thyroid cancer, and patients with nontoxic multinodular goiter. *Eur J Endocrinol* 2007 Oct; 157:521-7.
55. Ai Zheng. Expression and significance of VEGF, VEGF-C, and VEGF-D in papillary thyroid carcinoma. Abstraksts [www.pubmed.gov](http://www.pubmed.gov) 2005; 24:1136-1139.
56. Yu XM, Lo CY et al. Serum vascular endothelial growth factor C correlates with lymph node metastases and high-risk tumor profiles in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg* 2008 ; 247: 483-489.
57. Lin Sy et al.Preoperative plasma concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) are associated with stage progression in PTC. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;58:513-518.
58. Cavalheiro BG. et al.Expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of metalloproteinase 2(TIMP-2) in medullary thyroid carcinoma: prognostic implications. *Thyroid* 2008;18:865-871.
59. Pasięka Z.et al. Soluble intracellular adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) in peripheral blood of patients with thyroid cancer. *Neoplasma* 2004;51(1):34-7.
60. Volante M, Collini P, Nikiforov YE. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1256-1264.
61. Thomas GA, Williams ED. Evidence for and possible mechanisms of non-genotoxic carcinogenesis in the rodent thyroid. *Mutat Res* 1991;248: 357-370.
62. Roque L, Gomes P, Correia, et al. Thyroid nodular hyperplasia: chromosomal studies in 14 cases. *Cancer Genet Cytogen* 1993;69: 31-34.



63. Hegedus L, Bonnema SJ, Bennedbaek FN. Management of simple nodular goiter: current status and future perspectives. *Endocr Rev* 2003;24:102-132.
64. Hicks DG, LiVolsi VA, Neidich JA, et al. Clonal analyses of solitary follicular nodules in the thyroid. *Am J Pathol* 1990; 137: 553-562.
65. Namba H, Matsuo K, Fagin JA. Clonal composition of benign and malignant human thyroid tumours. *J Clin Invest* 1990, 86:120-125.
66. Shi YF, Zou MJ, Schmidt H, et al. High rates of ras codon 61 mutation in thyroid tumours in an iodine-deficient area. *Cancer Res* 1991;51: 2690-2693.
67. Scharck C, Fulton N, Jacoby RF, et al. N-ras 61 oncogene mutations in Hurthle cell tumours. *Surgery* 1990;108: 994-999.
68. Parma J, Duprez L, Van Sande J, et al. Diversity and prevalence of somatic mutations in the thyrotropin receptor and Gs alpha genes as a cause of toxic thyroid adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2695-2701.
69. Hou P, Liu D, Shan Y, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *J Clin Cancer Res* 2007;13: 1161-1170.
70. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, et al. RAS point mutations and PAX8/PPAR gamma rearrangement in thyroid tumours: evidence for distinct molecular pathways in thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2318-2326.
71. Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LDR. Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid. 2009, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, MA pp 94-102.
72. Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer . *Endocr Relat Cancer* 2005;12: 245-262.
73. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of BRAF. *Cell* 2004;116:855-867.
74. Knauf JA, MA X, Smith EP, Zhang L, Mitsutake N, Liao XN, Fagin JA, et al. Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancer that undergo dedifferentiation. *Cancer Res* 2005;65: 4238-4245.

75. Santoro M, Carlomagno F, Hay ID, Herrmann MA, Grieco M, Melilo R, et al. Ret oncogene activation in human thyroid neoplasms is restricted to the papillary cancer subtype. *J Clin Invest* 1992;89: 1517-1522.
76. Fenton CL, Lukes Y, Nicholson D, Dinauer CA, Francis GL, Tuttle RM. The RET/PTC mutations are common in sporadic papillary thyroid carcinoma of children and young adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1170-1175.
77. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Stewart DL, Fidler JP, Giordano TJ, Biddinger PW, Nikiforov YE. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2006;30: 216-222.
78. Suarez HG, du Villard JA, Severino M, Caillou B, Schlumberger M, et al. Presence of mutations in all three ras genes in human thyroid tumors. *Oncogene* 1990;5:565-570.
79. Basolo F, Pisaturo F, Pollina LE, Fontanini G, Elisei R, E Molinaro, et al. N-ras mutation in poorly differentiated thyroid carcinomas: correlation with bone metastases and inverse correlation to thyroglobulin expression. *Thyroid* 2000;10:19-23.
80. Motoi N, Sakamoto A, Yamochi T, Horiuchi H, et al. Role of ras mutation in progression of thyroid carcinoma of follicular epithelial origin. *Pathol Res Pract* 2000;196:1-7.
81. Dwight T, Thoppe SR, Foukakis T, Lui WO, Wallin G, et al. Involvement of PAX 8/PPAR gamma rearrangement in follicular thyroid tumours. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4440-4445.
82. Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, Chen CJ, Mueller E, et al. PAX8-PPAR gamma 1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma. *Science* 2000;289: 1357-1360.
83. French CA, Alexander EK, Cibas ES, Nose V, Laguette J, Faqiu W, Garber J, et al. Genetic and biological subgroups of low-stage follicular thyroid cancer. *Am J Pathol* 2003;162: 1053-1060.
84. Nikiforova MN, Chiosea SI, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocr Pathol* 2009;20:85-91.
85. Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, Diorio D, Nikiforov YE, MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biologic significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1600-1608.

86. He D, Jazdzewski K, Li W, Liyanarshchi S, Nagy R, Voilia S, et al. The role of micro RNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:19075-19080.
87. Pallante R, Visone R, Ferracin M, Ferraro A, Berlingieri MT, Troncone G, et al. MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:497-508.
88. Visone R, Russo L, Pallante P, de Martino I, Ferraro A, Leone V, et al. MicroRNAs (miR)-221 and miR-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27kip1 protein levels and cell cycle. *Endocr Relat Cancer* 2007;14:791-798.
89. Kim H, Piao Z, Park C, et al. Clinical significance of clonality in thyroid nodules. *Br J Surg* 1998;85: 1155-1128.
90. Robinson MJ, Cobb MH. Mitogen activated protein kinase pathways. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:180-186.
91. Finley DJ, Arora N, Zhu B et al. Molecular profiling distinguishes papillary carcinoma from benign thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3213-3223.
92. Hou P, Liu D, Xing M. Functional characterization of the T1999-1801 del and A1799-1861 ins BRAF mutations in papillary thyroid cancer. *Cell Cycle* 2007;6:377-379.
93. Huang Y, Prasad M, Lemon WJ et al. Gene expression in papillary thyroid carcinoma reveals highly consistent profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 15044-15049.
94. Ciampi R, Giordano TJ, Koenig RJ, Nikiforov YE, et al. HOOK3-RET: a novel type of RET/PTC rearrangement in papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 2007;14: 445-452.
95. Zhu Z, Ciampi R, Nikiforova MN, Ghandi M, Nikiforov YE. Prevalence of RET/PTC rearrangements in thyroid papillary carcinomas: effects of the detection methods and genetic heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3603-3610.
96. Bongarzone I, Vigneri P, Mariani L, Collini P, et al. RET/NTRK1 rearrangements in thyroid gland tumours of the papillary carcinoma family: correlation with clinicopathologic features. *Clin Cancer Res* 1998;4: 223-228.
97. Tallini G, Santoro M, Helie M, Carlomagno F, Salvatore G, et al. RET/PTC oncogene activation defines a subset of papillary thyroid carcinomas lacking

- evidence of progression to poorly differentiated or undifferentiated tumour phenotypes. *Clin Cancer Res* 1998; 4:287-294.
98. Fugazzola L, Pierotti MA, Vigano E, et al. Molecular and biochemical analyses of RET/PTC4, a novel oncogenic rearrangement between RET and ELE1 genes, in a post Chernobyl papillary thyroid cancer. *Oncogene* 1996;13:1093-1097.
  99. Greico 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.
  100. Santoro M, Dathan NA, Berlingieri MT et al. Molecular characterization of RET/PTC3; a novel rearranged version of the RET proto-oncogene in human thyroid papillary carcinoma. *Oncogene* 1994; 9: 509-516.
  101. Lemione NR, Mayall ES, Wyllie FS et al. Activated ras oncogenes in human thyroid cancers. *Cancer Res* 1988;48:4459-4463.
  102. Escapa CT, Johnson SJ, Kendall-Taylor P, et al. Prevalence of ras mutations in thyroid neoplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:529-535.
  103. Vasko V, Ferrand M, Di Cristofaro J, et al. Specific pattern of RAS oncogene mutations in follicular thyroid tumours. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2745-2752.
  104. Santelli G, de Franciscis V, Portella G, et al. Production of transgenic mice expressing the Ki-ras oncogene under the control of a thyroglobulin promoter. *Cancer Res* 1993;53: 5523-5527.
  105. Vitagliano D, Portella G, Troncone G, et al. Thyroid targeting of the N-ras oncogene in transgenic mice results in follicular tumours that progress to poorly differentiated carcinomas. *Oncogene* 2006; 25:5467-5474.
  106. Frattini M, Ferrario C, Bressan P, et al. Alternative mutations of BRAF, RET and NTRK1 are associated with similar but distinct gene expression patterns in papillary thyroid cancer. *Oncogene* 2004;23:7436-7440.
  107. Cully M, You H, Levine AJ, et al. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6: 184-192.
  108. Shinohara M, Chung YI, Sai M, et al. AKT in thyroid tumorigenesis and progression. *Endocrinology* 2007;148:942-947.

109. Gasparre G, Porcelli AM, Bonora E, et al. Disruptive mitochondrial DNA mutations in complex I subunits are markers of oncocytic phenotype in thyroid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:9001-9006.
110. Maximo V, Soares P, Lima J, et al. Mitochondrial DNA somatic mutations (point mutations and large deletions) and mitochondrial DNA variants in human thyroid pathology: a study with emphasis on Hurthle cell tumors. *Am J Pathol* 2002;160:1857-1865.
111. Hazard JB, The C cells of the thyroid gland and medullary thyroid carcinoma. A review. *Am J Pathol* 1977; 88:213-250.
112. Meyer JS, Abdel-Bari J. Granules and thyrocalcitonin like activity in medullary carcinoma of the thyroid gland. *N Engl J Med* 1968;278:523-529.
113. Sipple JH. The association of pheochromocytoma with carcinoma of the thyroid gland. *Am J Med* 1961;31:163-166.
114. Schimke RN, Hartmann WH. Familial amyloid producing medullary thyroid carcinoma and pheochromocytoma. A distinct genetic entity. *Ann Intern Med* 1965;63: 1027-1039.
115. Steiner AL, Goodman AD, Powers SR. Study of kindred with pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease: multiple endocrine neoplasia , type 2. *Medicine(Baltimore)* 1968;47:371-409.
116. Williams ED, Pollock DJ. Multiple mucosal neuromata with endocrine tumors: a syndrome allied to van Recklinghausen's disease. *J Pathol Bacteriol* 1966;91:71-80.
117. March DJ, Theodosopoulos G, Martin-Schulte K et al. Genome-wide copy number imbalances identified in familial and sporadic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1866-1872
118. Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, et al. High frequency of ras oncogene activation in all stages of human thyroid tumorigenesis. *Oncogene* 1989;4: 159-164.
119. Quiros RM, Ding HG, Gattuso P, et al. Evidence that one subset of anaplastic thyroid carcinomas are derived from papillary carcinomas due to BRAF and p53 mutations. *Cancer* 2005;103:2261-2268.

120. Nakamura T, Yana I, Kobayashi T, et al. P53 gene mutations are associated with anaplastic transformation of human thyroid carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1992;83: 1293-1298.
121. Fagin JA, Minireview: branded from the start-distinct oncogenic initiating events may determine tumor fate in the thyroid. *Mol Endocrinol* 2002;16:903-911.
122. Hou P, Lui D, Shan Y, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer. *Clin Canc Res* 2007;13:1161-1170.
123. 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.
124. Saavedra HI, Knauf JA, Shirokawa JM, et al. The ras oncogene induces genomic instability in the thyroid PCCL3 cells via the MAPK pathway. *Oncogene* 2000;19: 3948-3954.
125. Kraus C, Liehr T, Hulsken J, et al. Localization of the human beta-catenin gene (CTNNB1) to 3p21: a region implicated in thyroid development. *Genomics*, 1994;23:272-274.
126. Garsia-Rostan G, Camp RL, Herrero A, et al. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am J Pathol* 2001;158:987-996.
127. Devine DA, High AS, Owen PJ, Bonas WA. Trefoil factor expression in normal and diseased human salivatory glands. *Hum Pathol* 2000;31:509-515.
128. Takano T, Miyauchi A, Yoshida H, Kuma K, Amino N. High-throughput differential screening of mRNAs by serial analyses of gene expression: decreased expression level of trefoil factor 3 mRNA in thyroid follicular carcinomas. *Br J Cancer* 2004;90: 1600-1605.
129. Taupin D, Pedersen J, Familiari M, Cook G, Yeomans N, Giraud AS. Augmented intestinal trefoil factor (TFF3) and loss of pS2 (TFF1) expression precedes metastatic differentiation of gastric epithelium. *Lab Invest* 2001;81:397-408.
130. Takano T, Miyauchi A, Yoshida H, Kuma K, Amino N. Decreased relative expression level of trefoil factor 3 mRNA to galectin 3 mRNA distinguishes thyroid follicular carcinoma from adenoma. *Cancer Lett* 2005;219: 91-96.

131. Taniguchi K, Takano T, Miyauchi K, Koizumi K, Ito Y, et al. Differentiation of follicular thyroid adenoma from carcinoma by means of gene expression profiling with adapter-tagged competitive polymerase chain reaction. *Oncology* 2005;69:428-435.
132. Foukakis T, Gusanto A, Au AY, Hoog A, Lui WO, et al. A PCR-based expression signature of malignancy in follicular thyroid tumors. *Endocr Relat Cancer* 2007;14:381-391.
133. Krause E, Eszlinger M, Grimm O, Karger S, et al. TFF3 based candidate gene discrimination of benign and malignant thyroid tumours in a region with borderline iodine deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1390-1393.
134. Weber S, Shen L, Aldred MA, Morrison CD, Frilling A, Saji M, et al. Genetic classification of benign and malignant thyroid tumours based on three gene combination. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2512-2521.
135. Takano T, Yamada H. Terefoil Factor 3: A promising indicator for diagnosing thyroid follicular carcinoma. *Endocr Journal* 2009;56:9-16.
136. Chiu CG, Strugnell SS, Griffith OL, Jones SJ, Gown M, Walker B, Nabi IR, Wiseman SM. Diagnostic utility of galectin 3 in thyroid cancer. *Amer J Pathol* 2010; 176: 2067-2081.
137. XU XC, El-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin1 and galectin 3 in the thyroid tumors. *Amer J of Pathol* 1995; 147: 815-821.
138. Kawachi K, Matsushita Y, Yonezawa S et al. Galectin-3 expression in various thyroid neoplasms and its possible role in metastasis. *Hum Pathol* 2000; 31:428-433.
139. Wiseman SM, Griffith OL, Deen S et al. Identification of molecular markers altered during transformation of differentiated into anaplastic thyroid carcinoma. *Arch. Surg* 2007;142: 717-727.
140. Scarpino S, Stoppacciaro A, Colarossi C, Cancellario F, Marzullo A, Marchesi M, Biffoni M, Prat M, Comoglio PM, Ruco LP. Hepatocyte growth factor (HGF) stimulates tumour invasiveness in papillary carcinoma of the thyroid. *Amer J Pathol* 1999; 189:570-575.
141. Scarpino S, Stoppacciaro A, Ballerini F, Marchesi M, Prat M, Stella C, Sozzani S, Allavena P, Mantovani A and Ruco LP. Hepatocyte Growth Factor (HGF) stimulates tumor cells to release chemokines active in recruiting dendritic cells. *Amer J Pathol* 2000; 156: 831-37.

142. Mineo S, Constantino A, Frasca F, Sciacca S, Russo L, Vigneri R, Belfiore A . Activation of the hepatocyte Growth Factor (HGF)-Met System in Papillary Thyroid Cancer: Biologic Effects of HGF in Thyroid Cancer Cells Dependent on Met Expression levels. *Endocrinology* 2004; 145:4355-4365.
143. Antonaci A, Consorti f, Mardente S et al. Survivin and cyclin D1 are jointly expressed in thyroid papillary carcinoma and microcarcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20:63-67.
144. Prasad ML, Pellegata NS, Kloos RT et al. CITED 1 protein expression suggests papillary thyroid carcinoma in high throughput tissue microarray based study. *Thyroid* 2004; 14: 63-67.
145. Griffith OL, Melck A, Jones JM, Wiseman SM. Meta-analysis and meta-review of thyroid cancer gene expression profiling studies identifies important diagnostic biomarkers. *J Clin Oncol* 2006; 31:5043-5051.
146. Letsas KP, Andikoula M, Tsatsoulis A. Fine needle aspiration biopsy-RT-PCR molecular analysis of thyroid nodules: a useful preoperative diagnostic tool. *Minerva Endocrinologica* 2006; 31:179-182.
147. Mazzaferri EL. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med* 1993; 328:553-555.
148. Lansford DC, Teknos TN. Evaluation of the thyroid nodule. *Cancer control* 2006; 13: 89-98.
149. Kim JY, Lee CH, Kim SY, Jeon WK, Kang JH et al. Radiologic and pathologic findings of non palpable thyroid carcinomas detected by ultrasonography in a medical screening center. *J Ultrasound Med* 2008; 27:215-223.
150. Kim EK, Park CS, Chung WY, Oh KK et al. New sonographic criteria for recommending FNA biopsy of non palpable solid nodules of the thyroid. *AJR Am J Roentgenol* 2002;178:687-691.
151. Frates MC, Benson CB, Charboneau JW, et al. Management of thyroid nodules detected at US: Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference statement. *Radiology* 2005; 237: 794–800.
152. Moon WJ, Jung SL, Lee JH, Na DG, Baek JH et al. Benign and malignant thyroid nodules: US differentiation-multicenter retrospective study. *Radiology* 2008; 247:762-770.



153. Bonavita JA, Mayo J, Babb J, Bennett G, Yee J. Pattern recognition of benign nodules at ultrasound of the thyroid: which nodules can be left alone? *Am J Roentgenol* 2009; 193:207-13.
154. Peccin S, de Castsro JA, Furlanetto TW et al. Ultrasonography: is it useful in the diagnosis of cancer in thyroid nodule? *J Endocrinol Invest* 2002; 25: 39-43.
155. Gharib G, Papini E. Thyroid Nodules: clinical importance, assessment and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36:707-735.
156. Capelli C, Castellano M, Pirola I, Gandossi E et al. Thyroid nodule shape suggests malignancy. *Eur J Endocrinol* 2006; 155: 27-31.
157. Cappelli C, Pirola I, Cumetti D, Micheletti L, Tironi A, Gandosi E, Martino E et al. Is the anteroposterior and transverse diameter ratio on nonpalpable thyroid nodules sonographic criteria for recommending fine-needle aspiration cytology? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 63: 689-693.
158. Giammanco M, Di Gesu G, Massenti MF, Di Trapani B, Vetri G. Role of color flow Doppler sonography in preoperative diagnostics of thy thyroid pathology. *Minerva Endocrinol* 2002; 27:1-10.
159. Takashima S, Fukuda H, Numura N, Kishimoto H et al. Thyroid nodules: re-evaluation with ultrasound. *J Clin Ultrasound* 1995; 23:179-184.
160. Papini E, Guglielmi R, Bianchini A, et al. Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-Doppler features. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1941–1946.
161. Frates MC, Benson CB, Charboneau JW, et al. Management of thyroid nodules detected at US: Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference statement. *Radiology* 2005; 237: 794–800
162. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SI, Mandel SJ et al. Revised ATA management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2009; 19:1167-1214.
163. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H et al. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of follicular epithelium. *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 787-803.
164. Brauer VF, Eder P, Miehle K, Wiesner TD et al. Interobserver variation for ultrasound determination of thyroid nodule volumes. *Thyroid* 2005; 15:1169-1175.

165. Solbiati L, Osti V, Cova L, Tonolini M. Ultrasound of thyroid, parathyroid glands and neck lymph nodes. *Eur Radiol* 2001;11: 2411-2424.
166. Ahuja A, Ying M. Sonography of neck lymph nodes. Part II: abnormal lymph nodes. *Clin Radiol* 2003; 58: 359-366.
167. Stulak Jm, Grant SC, Farley DR, Thompson GB et al. Value of preoperative ultrasonography in the surgical management of initial and reoperative papillary thyroid cancer. *Arch. Surg* 2006;141: 489-494.
168. Ylagan LR, Farkas T, Dehner LP. Fine needle aspiration of the thyroid: A cytohistologic correlation and study of discrepant cases. *Thyroid* 2004; 14:35-41.
169. Tschammler A, Ott G, Schang T et al. Lymphadenopathy: differentiation of benign from malignant disease-color Doppler US assessment of intranodal angioarchitecture. *Radiology* 1998;208:117-123.
170. Leboulleux S, Girard e, rose M, Travagli JP et al. Ultrasound criteria for malignancy for cervical lymph nodes in patients followed up for differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3290-3594.
171. Kouvaraki Ma, Shapiro SE, Fornage BD, Sheriman SI et al. Role of preoperative ultrasonography in the surgical management of patients with thyroid cancer. *Surgery* 2003;134:946-954.
172. Takashima S, Sons S, Nomura M, Nakamura H. Non palpable lymph nodes of the neck: assessment with US and US-guided fine-needle aspiration biopsy. *J Clin Ultrasound* 1997;25:283-292.
173. Ahuja AT, Ying M, Ho SS, Metreweli C. Distribution of intranodal vesels in differentiating benign from metastatic neck nodes. *Clin Radiol* 2001;6: 197-201.
174. Machens A, Hinze R, Thomusch O, Dralle H. Pattern of nodal metastasis for primary and reoperative thyroid cancer. *World J Surg* 2002; 26:22-28.
175. Pacini E, Molinaro E, Castagna MG, Agate I, Elisei R, Pinchera A. Recombinant human thyrotropin-stimulated serum thyroglobulin combined with neck ultrasonography has the highest sensivity in monitoring differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:3668-3673.
176. Park JS, Son KR, Na DG, Kim E, Kim BM. Performance of preoperative sonographic staging of papillary thyroid carcinoma based on sixth edition of the AJCC/UICC TNM classification system. *AJR AM J Roentgenol* 2009;192:66-72.
177. Kwak JY, Kim EK. Sonographic findings of Zenker diverticula. *J Ultrasound Med* 2006; 25: 639-642.

178. Yabuuchi H, Kuroiwa T, Tomita K et al. Traumatic neuroma and recurrent lymphadenopathy after neck dissection: comparison of radiologic features. *Radiology* 2004; 233:523-529.
179. Hoang JK, Lee WK, Lee M, Farell S. US features of thyroid malignancy: Pearls and Pitfalls. *Radiographics* 2007; 27:847-860.
180. The American Association Guidelines Task Force. Management Guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid* 2006;16:1-33.
181. McCoy KL, Jabbour N, Ogilvie JB, Ohori NP et al. The incidence of cancer and rate of false negative cytology in thyroid nodules greater than or equal to 4 cm in size. *Surgery* 2007;142:837-844.
182. Poller DN, Ibrahim AK, Cummings MH, Mikel JJ, et al. Fine – needle aspiration of the thyroid. *Cancer* 2000;90:239-244.
183. Yassa L, Cibas ES, Benson CB, et al. Long-term assesement of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. *Cancer* 2007;111:508-516.
184. Danese D, Sciacchitano S, Farsetti A, Andreoli M, Pontercorvi A. Diagnostic accuracy of conventional versus sonography- guided fine-needle aspiration biopsy for thyroid nodules. *Thyroid* 1998; 8:15-21.
185. Layfield JL, Cibas ES, Gharib H, Mandel SJ. Thyroid Aspiration Cytology: Current Status. *Cancer J Clin* 2009;59:99-110.
186. Iannuccilli JD, Cronan JJ, Monchik JM. Risk for malignancy of thyroid nodules as assessed by sonographic criteria. *J Ultrasound Med* 2004;23 1455-1464.
187. Dupuy DE, Monchik Jm, Decrea C, Pisharodi L. Radiofrequency ablation of regional recurrence from well-differentiated thyroid malignancy. *Surgery* 2001;130: 971-977.
188. Rago T, Santini F, Scutari M, Pinchera A, Vitti P. Elastography: new developments in ultrasound for predicting malignancy in thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2917-2922.
189. Asteria C, Giovanardi A et al. US elastography in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. *Thyroid* 2008; 18:523-531.

190. Yang J, Schanadig V, Logrono R, Wasserman PG. Fine-needle aspiration of thyroid nodules : A study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. *Cancer* 2007;11:306-315.
191. Soh EY, Eigelberger MS, Kim KJ et al. Neutralizing vascular endothelial growth factor activity inhibits thyroid cancer growth in vivo. *Surgery* 2000; 128:1059-1065
192. Bauer JA, Terrell R, Doniparthi NK, Patel A et al. Vascular endothelial growth factor monoclonal antibody inhibits growth of anaplastic thyroid cancer xenografts in nude mice. *Thyroid* 2002; 12: 953-961.
193. Xu G, Pan J, Martin C, Yeung SC. Angiogenesis inhibition in vivo antineoplastic effect of manumycin and paclitaxel against anaplastic thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1769-1777
194. Schoenberger J, Grimm D, Kossmehl P et al. Effects of PTK 787/ ZK 222584, a tyrosine kinase inhibitor on the growth of poorly differentiated thyroid carcinoma: an animal study. *Endocrinology* 2004; 145: 1031-1038
195. Cooney MM, Radivoyevitch T, Dowlati A et al. Cardiovascular safety profile of combrestatin a4 phosphate in a single-dose phase I study in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:96-100
196. Trovisco V, Viera del Castro I, Soares P et al. BRAF mutations are associated with some histological types of papillary thyroid carcinoma. *J Pathol* 2004;202:247-251
197. Saggiorato E, De Pompa R, Volante M, et al. Characterization of thyroid follicular neoplasms in fine-needle aspiration cytological specimens using a panel of immunohistochemical markers : a proposal for clinical application. *Endocr Relat Cancer* 2005;12:305-317.
198. Raz A, Zhu DD, Hogam V et al. Evidence for the roll of 34-kDA galactose binding lectin in transformation and metastasis. *Int J Cancer* 1990; 46:871-877.
199. Htwe TT, Karim N, Wong J, Jahanfar S, Masur MA. Differential expression of galectin-3 in advancing thyroid cancer cells: a clue toward understanding tumour progression and metastasis. *Singapore Med J* 2010;51: 856-859.
200. Takano T, Matsuzuka F, Sumizaki H, Kuma K, Amino N. Rapid detection of specific messenger RNAs in thyroid carcinomas by reverse transcription –PCR with degenerate primers: specific expression of oncofetal fibronectin messenger RNA in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1997; 57: 3792-3797.

201. Takano T, Miyauchi A, Yokozawa T, Matsuzuka F, Maeda I, Kuma K, Amino N. Preoperative diagnosis of thyroid papillary and anaplastic carcinomas by real time quantitative reverse transcription PCR of oncofetal fibronectin messenger RNA. *Cancer Res* 1999;59:4542-4545.
202. John R, El-Rouby NM, Tomassetto C, Rio MC, Karam SM. Expression of TFF3 during multistep colon carcinogenesis. *Histol Histopathol* 2007; 22:743-751.
203. Faith DA, Isaacs WB, Morgan JD, Fedor HL, Hicks JL, Mangold LA et al. Trefoil factor 3 overexpression in prostatic carcinoma: prognostic importance using tissue microarrays. *Prostate* 2004; 61: 215-227.
204. Yamachika T, Werther JL, Bodian C et al. Intestinal trefoil factor: a marker of poor prognosis in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002;8: 1092-1099
205. Koch A, Poirier F, Jacob R, Delacour D. Galectin-3, a novel centrosome-associated protein, required for epithelial morphogenesis. *Mol Biol Cell* 2010;21:219-231.
206. LeSimple P, Buisine MP, Copin MC, Hinz M, Hoffmann W et al. Trefoil factor family 3 peptide promotes human airway epithelial ciliated cell differentiation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36:296-303.
207. Takano T, Matsuzuka F, Sumizaki H, Kuma K, Amino N. Rapid detection of specific messenger RNAs in thyroid carcinomas by reverse transcription –PCR with degenerate primers: specific expression of oncofetal fibronectin messenger RNA in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1997; 57: 3792-3797.
208. Takano T, Miyauchi A, Yokozawa T, Matsuzuka F, Maeda I, Kuma K, Amino N. Preoperative diagnosis of thyroid papillary and anaplastic carcinomas by real time quantitative reverse transcription PCR of oncofetal fibronectin messenger RNA. *Cancer Res* 1999;59:4542-4545.
209. Du ZX, Zhang HY, Gao DX, Wang HQ et al. Antisurvivin oligonucleotides inhibit growth and induce apoptosis in human medullary thyroid carcinoma cells. *Exper Mol Med* 2006; 3:230-240.
210. Ito Y, Yoshida H, Uruno T, Nakano K et al. Survivin expression is significantly linked to the dedifferentiation of thyroid carcinoma. *Oncol Rep* 2003;10:1337-1340.
211. Kawabata W, Suzuki T, Moriya T, Fujimori K, Naganuma H, Inoue S et al. Estrogen receptor (alpha and beta) and 17 beta dehydrogenase type 1 and type 2 in

- thyroid disease: possible in situ estrogen synthesis and actions. *Mod Pathol* 2003; 16:437-444.
212. Weinberger PM, Adam BL, Gourin CG, Bollang RJ, Wang BY et al. Association of nuclear, cytoplasmic expression of galectin -3 with  $\beta$  catenin/Wnt pathway activation in thyroid carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 133:503-510.
213. Califice S, Castronovo V, Bracke M et al. Dual activities of galectin-3 in human prostate cancer: tumour suppression of nuclear galectin -3 vs tumour promotion of cytoplasmic galectin-3. *Oncogene* 2004; 23:7527-7536.
214. Katoh R, Harach HR, Williams ED. Solitary, multiple and familial oxyphil tumours of the thyroid gland. *J Pathol* 1998; 186:292-299.
215. Lopez-Penabad L, Chiu AC, Hoff AO et al. Prognostic factors in patients with Hurthle cell neoplasms of the thyroid. *Cancer* 2003; 97:1186-1194.
216. Yeager N, Klein-Szanto A, Kimura S, et al. Pten loss in the mouse thyroid causes goiter and follicular adenomas: insights in thyroid function and Cowden disease pathogenesis. *Cancer Res* 2007; 67:959-966.
217. Kirschner LS, Carney Ja, Pack SD et al. Mutations of the gene encoding the protein kinase A type I-alpha regulatory subunit in patients with Carney complex. *Nat Genet* 2000; 26:89-92.
218. Roque L, Rodrigues R, Pinto A et al. Chromosome imbalances in thyroid follicular neoplasms: a comparison between follicular adenomas and carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 36: 292-302.
219. Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:1454-1457.
220. Wiseman SM, Melck A, Masoudi H, Ghadi F, Goldstein L, Gown A, Jones SJ, Griffith OL. Molecular phenotyping of thyroid tumors identifies a marker panel for differentiated thyroid cancer diagnosis. *Ann Surg Oncol*. 2008; 15:2811-2826.

## 12. Publikācijas par pētījuma tēmu

1. Validity of multiplex biomarker model of 6 genes for the differential diagnosis of thyroid nodules. **K.Ducena**, A. Ābols, J. Vilmanis, Z. Narbutis, J. Tars, D.Andrejeva, A.Line, V.Pīrāgs. *Thyroid Research* 2001; 4:11
2. Cirkulējošo seruma citokīnu, augšanas faktoru un adhēzijas molekulu loma vairogdziedzera mezglu un audzēju attīstībā. **K.Ducena**, P.Tretjakovs, A. Jurka, I.Bormane, V.Pīrāgs. *LU rakstu krājums* 2010;755:21-30
3. US malignitātes kritēriju analīze pēc FNA biopsiju datiem. **K.Ducena**, I. Strēle, P.Priedītis, A. Bērziņa, V. Pīrāgs, pieņemta publikācija *LU rakstu krājumam*.
4. K.Silina, L.Ivanova, P.Zayakin, Z. Kalnina, I. Meistere, A. Stengrevics, **K.Ducena**, A.Ābols, A.Line. Potential of sperm associated antigens for cancer immunotherapy: expression pattern and humoral immune response in cancer patients. *Journal of Immunotherapy* 2011;34:28-44 (asins serumos testēta vairogdziedzera audzēju humorāla atbildes reakcija).

### 13. Konferenču tēzes un ziņojumi kongresos par pētījuma tēmu

- Tēzes un posterprezentācija : **K.Ducena**, P.Tretjakovs, A. Jurka, I.Bormane, V.Pīrāgs. Role of circulating serum cytokines, growth factors and adhesion molecules in the development of thyroid nodules and cancer. 9. Eiropas endokrinoloģijas kongresā (ECE 2007) Budapeštā, Ungārijā, 28.04 – 02.05.2007, abstract book pp 37.
- Tēzes un posterprezentācija: **K.Ducena**, A. Ābols, J.Vilmanis, Z. Narbutis, V.Brunis, A.Line, V.Pīrāgs. Identification of new molecular markers for thyroid malignancy. 14. Starptautiskajā Endokrinoloģijas kongresā (ICE 2010) Kioto, Japānā, 25 - 30.03.2010, abstract book pp S462.
- Tēzes un mutiskais ziņojums : **K.Ducena**, A. Ābols, J.Vilmanis, Z. Narbutis, A.Ozoliņš, A.Line, V.Pīrāgs. Search for new biomarkers of malignancy risk in patients with thyroid nodules. 9. Eiropas Endokrinologu Asociācijas (ESE) Pēcdiploma kursos klīniskajā endokrinoloģijā Tartu, Igaunijā, 25-27.05.2010, abstract book pp 69.
- Tēzes un mutiskais ziņojums: **K.Ducena**, P.Tretjakovs, A. Jurka, I.Bormane, A. Ābols, J.Vilmanis, Z.Narbutis, A.Ozoliņš, A.Line, V.Pīrāgs. Jaunu molekulāro biomarkieru identifikācija vairogdziedzera mezglu un audzēju gadījumos. 68. LU zinātniskajā konferencē, Rīga, 05.02.2010, tēžu grāmatā 61. lpp.
- Tēzes un mutiskais ziņojums: **K.Ducena**, I. Strēle, P.Priedītis, A.Bērziņa, V.Pīrāgs. Vairogdziedzera mezglu ultrasonoskopisko malignitātes kritēriju analīze pēc tievās adatas punkciju biopsiju datiem. 69. LU zinātniskajā konferencē, Rīga, 03.02.2011, tēžu grāmatā 31 lpp.
- Tēzes un posterprezentācija: **K.Ducena**, A. Ābols, J. Vilmanis, Z. Narbutis, J. Tars, D.Andrejeva, A.Line, V.Pīrāgs. Validity of multiplex biomarker model of 6 genes for the differential diagnosis of thyroid nodules. ASV 81. vairogdziedzera kongresā, 26-30.10.2011, Indianvelsā, abstract Nr. 210, tēžu grāmatā 238 lpp.
- Tēzes 3. Pasaules latviešu zinātnieku kongresā: **K.Ducena**, I. Strēle, P.Priedītis, A.Bērziņa, V.Pīrāgs.Vairogdziedzera mezglu US malignitātes kritēriju analīze pēc FNA datiem. Rīga, 24-27.10.2011, tēžu grāmatā 25 lpp.



- Tēzes un posterprezentācija 3. Pasaules latviešu zinātnieku kongresā: A.Ābols, **K.Ducena**, A.Line, J.Tārs, J.Vilmanis, Z.Narbutis, V.Pīrāgs. Jaunu molekulāro marķieru identifikācija vairogdziedzera mezglu un audzēju gadījumos. Rīga, 24-27. 10.2011, tēžu grāmatā 12. lpp.
- Tēzes un mutiskais ziņojums: Ābols A, **Ducena K**, Andrējeva D, Kalniņa Z, Tārs J, Vilmanis J, Line A, Pīrāgs V. Identification of biomarkers for the differential diagnosis of thyroid nodules. Piektajā Baltijas onkologu kongresā, Rīga, Latvija, 14. – 15.05. 2010
- Tēzes un mutiskais ziņojums:A. Ābols, **K.Ducena**, Z. Kalniņa, J. Vilmanis, J. Tārs, A. Line, V. Pīrāgs. Vairogdziedzera audzeeju attīstības molekulāro mehānismu izpēte un potenciālo biomarķieru identifikācija. LU 68. zinātniskajā konferencē, molekulārās bioloģijas sekcijā, Rīga, Latvija, 9. februārī, 2010
- Tēzes un posterprezentācija: A. Ābols, **K.Ducena**, D. Andrējeva, Z. Kalniņa, J. Tārs, J. Vilmanis, A. Linē, V. Pīrāgs. MicroRNAs as potential serological biomarkers for differential diagnosis of thyroid nodules. The Non-coding genome, Heidelberg, Vācija, 13-16.10.2010

## 14. Pateicības

Autore pateicas promocijas darba vadītājam profesoram Valdim Pīrāgam par izcilo intelektuālo paraugu, atbalstu un neizsīkstošo radošo garu!

Paldies zinātniskajiem konsultantiem Bioloģijas zinātņu doktorei Aijai Linē un LU BMC doktorantam Artūram Ābolam par vērtīgajiem padomiem molekulārās bioloģijas līkločos un nenovērtējamu palīdzību publikāciju tapšanā .

Liels paldies docentei Ievai Strēlei par operatīvāti un palīdzību statistikas datu aprēķinos.

Sirsnīgs paldies profesorei Astrīdai Krūmiņai par sirsnīgo uzņemšanu un padomiem darba tapšanā.

Paldies Mārītei Cirsei par palīdzību fenotipisko datu apstrādē un 3. ķirurģijas nodaļas māsiņām par asinu paraugu vākšanu.

Paldies Pēterim Tretjakovam un Antrai Jurkai par palīdzību adhēzijas molekulu noteikšanā.

Milzīgs paldies P.Stradiņa KUS 9. nodaļas kolektīvam par atbalstu un pozitīvo karmu visos darba tapšanas etapos.

Paldies manam Itālijas skolotājam profesoram Massimo Tonnachera par ideju un ticību darba realizācijai.

Paldies manai ģimenei par mīlestību, sapratni un pacietību.