



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ “ΦΥΣΙΟΛΟΓΕΙΟΝ”**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Κος ΜΙΧΑΗΛ ΚΟΥΤΣΙΛΙΕΡΗΣ**

**ΤΙΤΛΟΣ: Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΜΙΜΗΤΙΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ**

**ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ**

**ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗΣ Κ. ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ**

**ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΟΣ - ΔΙΑΒΗΤΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ, ΑΘΗΝΑ 2021**

*Στους γονείς μου*






*Στη γυναίκα μου*

*Να μάθεις να πετάς.....*

*Αύριο ίσως μας πάρουν και τους δρόμους !*

*Ναζίμ Χικμέτ*

ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,  
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ  
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ  
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ  
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΑΣΘ  
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ  
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ  
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ  
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ  
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,  
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ  
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ  
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ  
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ  
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ  
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ  
ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ  
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ  
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ.  ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ  
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ  
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ  
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ.  ΑΓΝΩΣ Δ  
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ  
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ.  ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ  
ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ  
ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ.  ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,  
ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ  
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ  
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ  
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ  
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.  Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,  
Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β  
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ  
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ  
ΙΑΥΤΑ.  ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ  
Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ  
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π  
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ' ΠΑΡΑΒΑΙ  
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

**Ημερομηνία υποβολής αίτησης για ορισμό συμβουλευτικής επιτροπής και εκπόνηση διδακτορικής διατριβής:** 17-01-2014

**Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:** 18-03-2014

**Μέλη τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:**

*Μαυραγάνη Κλειώ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας (Επιβλέπουσα)*

*Τσελένη-Μπαλαφούτα Σοφία, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής*

*Κουτσιλιέρης Μιχαήλ, Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας*

**Ημερομηνία ορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής:** 16-04-2014

**Ημερομηνία υποβολής πρώτης εργασίας (προόδου):** 01-07-2015

**Ημερομηνία υποβολής δεύτερης εργασίας (προόδου):** 06-03-2017

**Ημερομηνία υποβολής τρίτης εργασίας (προόδου):** 07-09-2020

**Ημερομηνία αίτησης για ορισμό επταμελούς εξεταστικής επιτροπής:** 07-09-2020

**Ημερομηνία ορισμού επταμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:** 28-09-2020

**Μέλη επταμελούς εξεταστικής επιτροπής:**

*Μαυραγάνη Κλειώ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας (Επιβλέπουσα)*

*Τσελένη-Μπαλαφούτα Σοφία, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής*

*Κουτσιλιέρης Μιχαήλ, Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας*

*Κοτσιφάκη Ελένη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας*

*Φιλίππου Αναστάσιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας*

*Αρμακόλας Αθανάσιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας*

*Χατζηγεωργίου Αντώνιος Επίκουρος Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας*

**Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής:** Καθηγητής Μελέτιος-Αθανάσιος Δημόπουλος

<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b>	<b>σελ.</b>
Δημοσιεύσεις Διατριβής.....	11
Βιογραφικό σημείωμα.....	12-26
Ευχαριστίες .....	27-28
Περίληψη.....	29-30
Abstract.....	31-32

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εμβρυολογία και Ανατομία Θυρεοειδούς Αδένα**

1.1 Εμβρυολογία.....	34-35
1.1.1 Γονίδια.....	35-36
1.2 Ανατομία.....	36-39

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Διαχείριση του Ιωδίου και Βιοσύνθεση των Θυρεοειδικών Ορμονών**

2.1 Πρόσληψη και απέκκριση Ιωδίου.....	40-41
2.2 Σύνθεση και Έκκριση Θυρεοειδικών Ορμονών.....	41

2.2.1 Πρόσληψη και συγκέντρωση Ιωδίου.....	42-43
2.2.2 Ιωδίωση – Οργανοποίηση Ιωδίου – Σύνθεση Θυροειδικών Ορμονών...	43-44
2.2.3 Έκκριση των Θυροειδικών Ορμονών.....	45
2.2.4 Θυρεοσφαιρίνη (Tg).....	45-46
2.2.5 Αποϊωδίωση Ορμονών.....	46
2.2.6 Υποδοχείς Θυροειδικών Ορμονών.....	46-47

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Καρκίνος του Θυροειδούς**

3.1 Γενικά στοιχεία - Επιδημιολογία.....	48-49
3.2 Ιστολογική Ταξινόμηση Καρκίνου Θυροειδούς.....	50-51
3.3 Αιτιοπαθογένεια Θυροειδικού Καρκίνου.....	52-59
3.4 Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυροειδούς.....	60
3.4.1 Θηλώδες Καρκίνωμα .....	60-61
3.4.2 Θυλακιώδες Καρκίνωμα .....	62-63
3.5 Μυελοειδές Καρκίνωμα του Θυροειδούς και Πρωτοογκογονίδιο RET... 64-66	

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Σταδιοποίηση κατά TNM**

4.1 TNM Διαφοροποιημένου Καρκινώματος Θυρεοειδούς (7 <sup>η</sup> έκδοση AJCC).....	67
4.2 TNM Μυελοειδούς Καρκινώματος (7 <sup>η</sup> έκδοση AJCC).....	68
4.3 TNM Διαφοροποιημένου Καρκινώματος (8 <sup>η</sup> έκδοση AJCC).....	69-70
4.4 TNM Μυελοειδούς Καρκινώματος (8 <sup>η</sup> έκδοση AJCC).....	71
4.5 Σταδιοποίηση Καρκίνου Θυρεοειδούς (7 <sup>η</sup> έκδοση AJCC).....	72-73
4.6 Σταδιοποίηση Καρκίνου Θυρεοειδούς (8 <sup>η</sup> έκδοση AJCC).....	74-75
4.7 Διαφορές μεταξύ 7 <sup>ης</sup> και 8 <sup>ης</sup> σταδιοποίησης κατά AJCC.....	75-76

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Διάγνωση του Καρκίνου του Θυρεοειδούς**

5.1 Γενικά.....	77
5.2 Ο ρόλος του εργαστηριακού ελέγχου.....	77-78
5.3 Ο ρόλος των υπερήχων.....	78-81
5.4 Ο ρόλος της παρακέντησης ( FNA ).....	81-86
5.5 Ο ρόλος του σπινθηρογραφήματος.....	87-88

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. Αντιμετώπιση του Καρκίνου του Θυρεοειδούς**

6.1 Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς.....	89-90
6.1.1 Ομάδες κινδύνου των ασθενών με Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς.....	90-92
6.1.2 Άλλες Θεραπείες.....	93
6.1.3 Μετεγχειρητική Παρακολούθηση.....	94-96
6.1.4 Μεταστατική νόσος στο Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα.....	97-98
6.2 Μυελοειδές Καρκίνωμα Θυρεοειδούς .....	99-100
6.2.1 Επιπλοκές Μυελοειδούς Καρκινώματος.....	100

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. Εισαγωγή**

7.1 Ινσουλινομιμητικός Αυξητικός Παράγοντας – Γενικά στοιχεία.....	102-105
7.2 Σκοπός της Μελέτης.....	106



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. Εργαλεία και Μέθοδοι**

8.1 Ηθική Έγκριση.....	107
8.2 Ασθενείς.....	107
8.3 Κριτήρια Επιθετικότητας ενός Θηλώδους Καρκινώματος.....	108-109
8.4 Ανοσοϊστοχημική Ανάλυση.....	109-110
8.5 Εξαγωγή RNA .....	111-115
8.6 Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο με Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (RT-PCR).....	116-118
8.7 Στατιστική Ανάλυση.....	119

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9. Αποτελέσματα**

9.1 Γενικά.....	120-121
9.2 Η έκφραση του IGF-1Ec παρατηρήθηκε σε Διαφοροποιημένο και Μυελοειδές Καρκίνωμα Θυρεοειδούς.....	122
9.3 Ο IGF-1Ec εκφράζεται περισσότερο σε Διαφοροποιημένο Θηλώδες Καρκίνωμα του Θυρεοειδούς και όσο πιο αυξημένος είναι ο κίνδυνος υποτροπής.....	123

9.4 Η έκφραση του IGF-1Ec mRNA είναι μεγαλύτερη σε επιθετικό σε σύγκριση με μη επιθετικό Θηλώδες Καρκίνωμα του Θυρεοειδούς.....	124-125
9.5 Η έκφραση του IGF-1Ec σε Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα σχετίζεται θετικά με την παρουσία διήθησης της κάψας του όγκου και των γειτονικών μυών.....	126-127
9.6 Η έκφραση του IGF-1Ec στο Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς δε συσχετίζεται με την παρουσία διήθησης των αγγείων και των γειτονικών τραχηλικών λεμφαδένων.....	127-128
9.7 Η ηλικία του ασθενούς κατά τη διάγνωση και το μέγεθος του όγκου δεν ήταν προγνωστικοί παράγοντες της έκφρασης του IGF-1Ec.....	129-130
9.8 Ο IGF-1Ec εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων με Καρκίνο Θυρεοειδούς.....	131
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10. Συζήτηση.....</b>	<b>132-137</b>
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>138-144</b>

## Δημοσιεύσεις Διατριβής

1) IGF-1Ec Expression Is Associated With Advanced Differentiated Thyroid Cancer.

**Karagiannis AK**, Philippou A, Tseleni-Balafouta S, Zevolis E, Nakouti

T, Tsopanomichalou-Gklotsou M, Psarras V, Koutsilieris M

**Anticancer Res. 2019 Jun.**

2) IGF Bioregulation System in Benign and Malignant Thyroid Nodular Disease: A

Systematic Review. **Karagiannis A.** , Kassi E. , Chatzigeorgiou A. , Koutsilieris M.

**In vivo 2020.**

# **Βιογραφικό Σημείωμα**

*Ημερομηνία προετοιμασίας : 18/04/2021*

*Ονοματεπώνυμο: Απόστολος Καραγιάννης του Κωνσταντίνου*

## **ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ**

2004 : Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων ( Βαθμός: «Λίαν Καλώς»)

## **ΑΔΕΙΑ ΑΣΚΗΣΕΩΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ**

2004 : Έτος λήψης άδειας ασκήσεως επαγγέλματος

## **ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ**

Αγγλικά : Επίπεδο άριστο

## **ΓΝΩΣΕΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ**

Κάτοχος πτυχίου ECDL ( έτος κτήσης: 2005 ) - ( Γνώσεις Word, Excel, Power Point )

Γνώσεις στατιστικής ( Statview, spss )

Άριστη γνώση στη διενέργεια μετααναλύσεων ( Χρήση προγράμματος Review Manager)

## **ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

Δεκέμβριος 2005 – Φεβρουάριος 2006 : **Τρίμηνη υποχρεωτική εκπαίδευση** στην Παθολογία , Χειρουργική και Καρδιολογία στο Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Καρδίτσας

Μάρτιος 2006 – Απρίλιος 2007: Εκτέλεση Υπηρεσίας Υπαίθρου ( **Αγροτικό Ιατρός** ) στο Περιφερειακό Ιατρείο Κουμπουριανών, Κέντρο Υγείας Μουζακίου, Νομός Καρδίτσας

Μάιος 2007 – Μάιος 2008 : **Ιατρός Παθολογικού Τομέα** ,496 Στρατιωτικού Νοσοκομείου Διδυμοτείχου

Ιούνιος 2008 - Ιούνιος 2010 : **Ειδικευόμενος Παθολογίας** στο Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Καρδίτσας

Δεκέμβριος 2011 - Δεκέμβριος του 2014 : **Ειδικευόμενος στο τμήμα Ενδοκρινολογίας, Διαβήτη και Μεταβολισμού** του Νοσοκομείου Ελληνικός Ερυθρός Σταυρός (Κοργιαλένιο-Μπενάκειο)

Απρίλιος 2015 : **Απόκτηση Τίτλου Ειδίκευσης** στην Ενδοκρινολογία, το Διαβήτη και το Μεταβολισμό

Μάιος 2015 - Φεβρουάριος 2016 : **Εκπαίδευση στην Ανδρολογία και στην Ανδρική Υπογονιμότητα** σε θέση Ειδικευμένου Ενδοκρινολόγου στο ιατρείο Ανδρολογίας του Ενδοκρινολογικού Τμήματος του Νοσοκομείου « Έλενα Βενιζέλου »

Μάιος 2015 – Μάιος 2016 : **Εκπαίδευση στην Παιδιατρική Ενδοκρινολογία** ως Επιστημονικός Συνεργάτης του Ενδοκρινολογικού Τμήματος της Α΄ Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής του Νοσοκομείου « Η Αγία Σοφία »

Δεκέμβριος 2015 – Μάιος 2016 : **Εκπαίδευση στη Διενέργεια Υπερήχων Θυρεοειδούς και Τραχήλου και Βιοψιών διά Λεπτής Βελόνης** στο Νοσοκομείο Μεταξά, Πειραιάς

**Πιστοποίηση στη Διενέργεια Υπερήχων Θυρεοειδούς και Τραχήλου και Βιοψιών διά Λεπτής Βελόνης** από την Ελληνική Εταιρεία Υπερήχων

Δεκέμβριος 2018- Ιούνιος 2019: **Εκπαίδευση στη Διενέργεια Υπερήχων Θυρεοειδούς και Τραχήλου και Βιοψιών διά Λεπτής Βελόνης** στο Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης Ιπποκράτειο

## **ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

Νοέμβριος 2010 – Δεκέμβριος 2011 : Εργαζόμενος στο Νοσοκομείο Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard της Βοστώνης των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής σε θέση **Post Doc Fellow**

2012 - 2015: **Συμμετοχή σε κλινικό ερευνητικό πρωτόκολλο** σχετιζόμενο με τη δράση και τη καρδιαγγειακή ασφάλεια των SGLT-2 αναστολέων ( Μελέτη Φάσης IV, εταιρεία Boehringer-Ingelheim )

2016 - 2017 : **Κάτοχος Διακρατικού Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης** με τίτλο «Υπερηχογραφική Λειτουργική Απεικόνιση για την Πρόληψη και τη Διάγνωση των Αγγειακών Παθήσεων» του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας & του Πανεπιστημίου της Γένοβας με βαθμό «Άριστα»

Μάρτιος 2014 – σήμερα : **Υποψήφιος Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Αθηνών** ( στο Τμήμα Πειραματικής Φυσιολογίας )

## **ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

2004 : Μαθήματα πρώτων βοηθειών στα Ιδιωτικά Εκπαιδευτήρια Καρδίτσας

2009 : Μαθήματα Ανατομίας σε παράρτημα του Ελληνικού Ερυθρού Σταυρού Καρδίτσας

## ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΕΣ

2004-2010 : Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Καρδίτσας

2010-2011 : Μέλος της Endocrine Society

2011 έως σήμερα : Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών

2013 έως σήμερα : Μέλος της Ευρωπαϊκής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας

2012 έως σήμερα : Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Αγγλίας

2015 έως σήμερα : Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Αναπαραγωγικής Ιατρικής

2015 έως σήμερα : Μέλος του Ελληνικού Ιδρύματος Γαστρεντερολογίας και Διατροφής

### *Περίληψεις εργασιών που έγιναν δεκτές σε Ελληνικά Συνέδρια*

1. Ντελής Ι. , **Καραγιάννης Α.** , Ανδρούτσου Σ. , Παλιούρα Ε. , Ανυφαντής Σ. , Καννελάκη Ε. , Παρδάλης Γ. , Μπριάνας Λ. ( 2010 ): Δήγματα Όφρων. 2<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος , σελ.17 .

2. Νακούτη Θ. , Μπουντούρης Γ. , **Καραγιάννης Α.** , Θεοδώρου Α. , Δημοπούλου Δ. , Τσουλφαΐδου Μ. , Μανδαλά Ε. , Ηλονίδης Γ. ( 2011 ): Άτυπο ουραιμικό αιμολυτικό



σύνδρομο – Γυναίκα με πολλαπλή σκλήρυνση υπό θεραπεία με ιντερφερόνη, οιστρογόνα και νιμεσουλίδη. 25<sup>ο</sup> Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο , σελ.49.

3. Νακούτη Θ. , Χολόγκιτας Ε. , **Καραγιάννης Α.** , Θεοδώρου Α. , Μπίρτσου Χ. , Παυλού Δ. , Γουλής Ι. , Ηλονίδης Γ. ( 2011 ): Σύνδρομο Alstrom – 33 ετών γυναίκα με τύφλωση, βαρηκοΐα και κίρρωση. 26<sup>ο</sup> Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο , σελ. 34.

4. Νακούτη Θ. , **Καραγιάννης Α.** , Θεοδώρου Α. , Στεφανίδης Χ. , Χολόγκιτας Ε. , Ηλονίδης Γ. ( 2011 ): Ισχαιμική Ηπατίτιδα - 58 ετών άνδρας με βαριά καρδιακή ανεπάρκεια και ίκτερο. 26<sup>ο</sup> Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο , σελ. 34.

5. Νακούτη Θ. , Χολόγκιτας Ε. , **Καραγιάννης Α.** , Μπίρτσου Χ. , Παυλού Δ. , Χαλέβας Π. , Μπουντούρης Γ. , Γουλής Ι. , Ακριβιάδης Ε. , Ηλονίδης Γ. (2012): Φυματιώδης περιτονίτιδα μετά από αντιική θεραπεία για Ηπατίτιδα C. 27ο Βορειοελλαδικό Ιατρικό Συνέδριο , σελ. 36.

6. Λόη Β. , Πάσχου Σ. , Μιζαμτσιδή Μ. , **Καραγιάννης Α.** , Τερζή Θ. , Καραγιάννη Ο. , Κωνσταντινίδου Μ. , Τρυφωνόπουλος Β. , Καραβάς Α. , Βρυωνίδου Α. (2012): Ο ρόλος της φρουκτοζαμίνης στην αξιολόγηση της ανοχής γλυκόζης σε ασθενείς με βήτα θαλασσαιμία. 10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, σελ. 61. , 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο για το Διαβήτη , σελ. 15.

7. Κώστογλου-Αθανασίου Ιφ. , **Καραγιάννης Α.** , Πάσχου Σ. (2013): Πρωτοπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός σε ασθενή με ατελή οστεογένεση. 39<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, σελ. 95.

8. Κώστογλου-Αθανασίου Ιφ. , Πάσχου Σ. , **Καραγιάννης Α.** (2013): Πρωτοπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός και θυλακιώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς σε ασθενή με έκτοπο θύμο αδένα. 39<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, σελ. 95.

**9.** Πάσχου ΣΑ, **Καραγιάννης ΑΚ**, Τζιώρας Κ., Βρυωνίδου Α. (2014): Οξεία επινεφριδιακή ανεπάρκεια λόγω επινεφριδιακών μεταστάσεων από νεφρογενές σάρκωμα. 41<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, σελ. 27.

**10. Καραγιάννης ΑΚ**, Πάσχου ΣΑ, Τζιώρας Κ., Βρυωνίδου Α. (2014): Ταυτόχρονη υπερέκκριση κορτιζόλης και αλδοστερόνης σε ασθενή με άμφω μακροοζώδη υπερπλασία επινεφριδίων. 41<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, σελ. 27.

**11.** Δημητροπούλου Φ., **Καραγιάννης ΑΚ.**, Δερμεντζόγλου Α., Καλογεράς Ν., Τζιώρας Κ., Βρυωνίδου Α. (2016): Παρουσίαση περιστατικού ασθενούς με Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο και Αυτοάνοσο Πολυαδενικό Συνδρόμο Τύπου 2. , 43<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ενδοκρινολογικό Συνέδριο.

**12. Καραγιάννης Α** , Γκούγκουρα Σ., Γυφτάκη Ρ. , Λόη Β. , Κουκούλης Γ., Βρυωνίδου Α. (2017): Διερεύνηση δεικτών οξειδωτικού stress σε γυναίκες με Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών χωρίς αντίσταση στην Ινσουλίνη, 44<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ενδοκρινολογικό Συνέδριο, (**Βραβείο Α. Φαρμακιώτη, Καλύτερης Αναρτημένης Ανακοίνωσης**).

## *Περίληψεις εργασιών που έγιναν δεκτές σε Διεθνή Συνέδρια*

1. Brenda M. Geiger , Jutta M. Nagel , **Apostolos K. Karagiannis** , Beatriz Gras-Miralles , Robert M. Najarian , Xinhua Chen , Efi Kokkotou.

Deficiency in Melanin Concentrating Hormone ( MCH ) is associated with decreased tumorigenesis in APCmin mice. Digestive Disease Week (DDW) 2012, Gastroenterology Journal, Vol. 142, Issue 5, Supplement 1, Pages S-119-S-120.

2. **Apostolos K. Karagiannis** , Brenda M. Geiger , Dimitrios C. Ziogas , Robert M. Najarian , Beatriz Gras-Miralles , Estela Trebicka , Bobby J. Cherayil , Efi Kokkotou . Melanin-Concentrating Hormone (MCH)-dependent innate immune responses to an intestinal pathogen. Digestive Disease Week ( DDW ) 2012, Gastroenterology Journal, Vol. 142, Issue 5, Supplement 1, Pages S-140-S-141.

3. **Apostolos Karagiannis**, Dimitrios Boufas, Konstantinos Tzioras, Andreas Seretis, Andromachi Vryonidou.

Pituitary apoplexy in clinically nonfunctioning pituitary adenomas: experience of a single center. European Congress of Endocrinology (ECE) 2013.

4. V. Varsos, G.F. Hadjigeorgiou, G. Markogiannakis, A.K. Zisakis, A. Panteli, T. Petrosyan, **A. Karagiannis**, A.Vryonidou

Non-Functioning Pituitary Macroadenomas : A 5-year metaanalysis of our clinic. European Association of Neurosurgical Societies Tel Aviv, Israel, 2013, page 92.

5. Theodora Nakouti, George D. Maropoulos, Antonios Markogiannakis, **Apostolos K. Karagiannis**, Maria N. Gamaletsou, Nikolaos V. Sipsas

Factors associated with therapeutic trough serum levels of vancomycin in a tertiary care hospital, 26<sup>th</sup> ECCMID ,9-12 April 2016, Amsterdam, The Netherlands.

6. Marianthi Gkini, Anna Gika, Alexandra Iliadi, Dimitris Platis, Vasiliki Giogli, Kasandra Tataropoulou, Giorgos Paltoglou, Christina Kogia, **Apostolos Karagiannis**, George Chrousos, Christina Kanaka-Gantenbein, Antonis Voutetakis  
Congenital Malformations, Dysmorphic Syndromes and Neurodevelopmental Problems in Children with Congenital Hypothyroidism,( TBA / ESPE 2016 ).

## ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

*(Έχω συμμετάσχει σε πλήθος σεμιναρίων στα πλαίσια της εξειδίκευσης μου στην Ενδοκρινολογία , το Διαβήτη και το Μεταβολισμό. Επιπλέον στα πλαίσια της συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης έχω συμμετάσχει σε πολλά συνέδρια σε ελληνικό και διεθνές επίπεδο έχοντας συλλέξει πάνω από 700 επιδοτούμενα μόρια ). Τα σημαντικότερα αναφέρονται παρακάτω :*

**1. BLS** ( Σεμινάρια Βασικής Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης ), έτος απόκτησης τίτλου 2008, Φεβρουάριος , Αθήνα

**2. Παναμερικανικό Συνέδριο Ενδοκρινολογίας Διαβήτη και Μεταβολισμού** 4-7 Ιουνίου 2011 ,Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ

**3α. Σεμινάριο αρχαρίων στους Υπερήχους Θυρεοειδούς** 6 Ιουνίου 2011 , Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ

**3β. Σεμινάριο προχωρημένων στους Υπερήχους Θυρεοειδούς** 6 Ιουνίου 2011 , Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ

- 4. Σεμινάρια στατιστικής 2011 , Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ**
- 5. Μεταπτυχιακά Σεμινάρια Ανοσολογίας 2011 - 2012 , Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ**
- 6. Εβδομαδιαίες ερευνητικές συναντήσεις, βιβλιογραφικές ενημερώσεις ενδοκρινολογίας και ενδοκρινολογίας γαστρεντερικού συστήματος, Grand Rounds, παρουσιάσεις ενδιαφερόντων περιστατικών, 2011 - 2012 , Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ**
- 7. Ημέρες Κλινικής Ενδοκρινολογίας 2011 υπό τη διοργάνωση του Γενικού Νοσοκομείου Μασαχουσέτης ( Mass General Hospital ) 9-13 Μαρτίου 2011, Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ**
- 8. Πολλαπλά σεμινάρια σε τεχνικές εργαστηριακής έρευνας (απομόνωση κυττάρων, εξαγωγή RNA, σύνθεση cDNA, real-time PCR, κυτταρικές καλλιέργειες, ELISA, ανοσοϊστοχημεία, ανοσοφθορισμό, κυταρομετρία ροής), 2011- 2012 , Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ**
- 9. Πανευρωπαϊκό Συνέδριο για το Διαβήτη (EASD), 1 – 5 Οκτωβρίου 2012, Βερολίνο, Γερμανία**
- 10. Σεμινάριο σχετικά με τη λειτουργία , οργάνωση και διαχείριση κλινικών πρωτόκολλων 9 – 10 Μαΐου 2012, Παρίσι, Γαλλία**
- 11. Σεμινάριο στην κλινική Νευροενδοκρινολογία υπό τη διοργάνωση του Erasmus MC 23 – 25 Σεπτεμβρίου 2013 Ρότερνταμ, Ολλανδία**
- 12. EASD Postgraduate Course 31/10 - 02/11/2013 Κωνσταντινούπολη, Τουρκία**

- 13. Ετήσια Σεμινάρια Ανδρολογίας 2013 – 2014** , Νοσοκομείο Έλενα Βενιζέλου, Αθήνα
- 14. Ετήσια Σεμινάρια Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας 2013 – 2014** Νοσοκομείο Αγλαΐα Κυριακού, Αθήνα
- 15. Workshop στον Υπέρηχο Θυρεοειδούς 15-17 Μάιου 2014**, Πόρτο Χέλι, Ελλάδα
- 16. Ετήσια Σεμινάρια Ανδρολογίας 2015 – 2016** , Νοσοκομείο Έλενα Βενιζέλου, Αθήνα
- 17. Εβδομαδιαίο Πρόγραμμα Εντατικών Μαθημάτων στην Ενδοκρινολογία, Διαβήτη και Μεταβολισμό**, υπό την αιγίδα της Ελληνική Ενδοκρινολογικής Εταιρείας, Ιανουάριος 2015, Αθήνα
- 18. 16<sup>ο</sup> Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης στην Ενδοκρινολογία, Διαβήτη και Μεταβολισμό** υπό την αιγίδα της Ευρωπαϊκής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας , 12-15 Φεβρουαρίου 2015, Αθήνα
- 19. 57<sup>ο</sup> Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας**, 27-28 Σεπτεμβρίου 2018, Αθήνα

## **ΟΜΙΛΙΕΣ**

*1.* Παρουσίαση κλινικού περιστατικού γυναίκας με υποφυσιακό απόστημα. Ελληνική Ενδοκρινολογική Εταιρεία, <http://webtv.endo.gr/video/24525> , 26-05-2013

2. Η συχνότητα της υποφυσιακής αποπληξίας μεταξύ των μη λειτουργικών υποφυσιακών αδενωμάτων. 40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, 17 – 20 Απριλίου 2013, Αθήνα
3. Ποιο είναι το φυσιολογικό Σπερμοδιάγραμμα? Ποια είναι τα κύρια σημεία ενός Παθολογικού? Κοινά εκπαιδευτικά μαθήματα Νοσοκομείου Ερυθρού Σταυρού και Σωτηρίας 2014-2015, Αθήνα
4. Περίπτωση γυναίκας 34 ετών με σπάνια μάζα της υπόφυσης, Νοσοκομείο « Η Αγία Σοφία », 09-10-2015, Αθήνα
5. Υπογοναδισμός και Σπερμοδιάγραμμα : Η προσέγγιση από την πλευρά του Κλινικού, Νοσοκομείο Έλενα Βενιζέλου 16-01-2016
6. Σακχαρώδης Διαβήτης και Άσκηση, Ημερίδα του Πανελληνίου Συλλόγου Φυσιοθεραπευτών, 11-11-2017
7. Πολλαπλές ενημερωτικές πρωτοβουλίες στα πλαίσια μαζικών προγραμμάτων ενημέρωσης του κοινού, υπό την αιγίδα του τοπικού Ιατρικού Συλλόγου

## **PEER REVIEWER ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ**

1. Plos One Journal
2. Current Vascular Pharmacology

## Άρθρα σε Ελληνικά Περιοδικά ευρείας εμβέλειας

### 1. Οστεοπόρωση και πως θα την προλάβουμε

**Καραγιάννης ΑΚ.** Περιοδικό Αρμονία και Ζωή, Ιούνιος 2015  
( Το Επίσημο Ελληνικό Περιοδικό της Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας )

### 2. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 και Διατροφή

**Καραγιάννης ΑΚ.** Περιοδικό Ευεξία και Διατροφή, Δεκέμβριος 2015  
(Το Επίσημο Ελληνικό Περιοδικό της Ελληνικής Εταιρείας Γαστρεντερολογίας και Διατροφής)

### 3. Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1 και Διατροφικές Διαταραχές στους Εφήβους

Κανακά – Gantenbein Χριστίνα και **Καραγιάννης ΑΚ.** Περιοδικό Αρμονία και Ζωή, Φεβρουάριος 2016  
( Το Επίσημο Ελληνικό Περιοδικό της Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας )

## Πρωτότυπες δημοσιεύσεις σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά μετά από κρίση:

1. Reduced Intestinal Tumorigenesis in APC<sup>min</sup> Mice Lacking Melanin-Concentrating Hormone. Nagel JM, Geiger BM, **Karagiannis AK**, Gras-Miralles B, Horst D, Najarian RM, Ziogas DC, Chen X, Kokkotou E., PLoS One 2012 Jul 27

2. Increased susceptibility of melanin-concentrating hormone-deficient mice to Salmonella infection. **Karagiannis AK**, Ziogas DC, Gras-Miralles B, Geiger BM, Nagel J, Trebicka E, Najarian R, Cherayil BJ, Kokkotou E., Infect Immun. 2012 Oct 31



3. Intestinal Upregulation of Melanin-Concentrating Hormone in TNBS-Induced Enterocolitis in Adult Zebrafish. Geiger BM, Gras-Miralles B, Ziogas DC, **Karagiannis AK**, Zhen A, Fraenkel P, Kokkotou E., PLoS One. 2013 Dec
4. Inflammation-induced functional connectivity of melanin-concentrating hormone and IL-10. Ziogas DC, **Karagiannis AK**, Geiger BM, Gras-Miralles B, Najarian R, Reizes O, Fitzpatrick LR, Kokkotou E., Peptides. 2014 Feb
5. Compliance with once-daily versus twice or thrice-daily administration of antibiotic regimens: a meta-analysis of randomized controlled trials. Mathew E. Falagas, **Apostolos K. A. Karagiannis**, Theodora Nakouti, Giannoula S. Tansarli, PLoS One 2015 Jan
6. Incretin-Based Antidiabetic Agents for the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Nakouti T, **Karagiannis AK**, Tziomalos K, Cholongitas E., Curr Vasc Pharmacol. 2015
7. Adrenal insufficiency in patients with decompensated cirrhosis. **Karagiannis AK**, Nakouti T, Pipili C, Cholongitas E. , *World J Hepatol.* 2015 May
8. Pituitary abscess: A case report and review of the literature. **Karagiannis AK.** , Dimitropoulou F., Papatheodorou A., Lyra S., Seretis A. , Vryonidou A. ,EDM case reports 2016
9. Procalcitonin: A New Biomarker for Medullary Thyroid Cancer? A Systematic Review **Karagiannis AK**, Girio-Fragkoulakis C, Nakouti T., Anticancer Res. 2016 .
10. Relative Adrenal Insufficiency is Associated with the Clinical Outcome in Patients with Stable Decompensated Cirrhosis. Cholongitas E, Goulis I, Pagkalidou E, Haidich AB, **Karagiannis AKA**, Nakouti T, Pipili C, Oikonomou T, Gerou S, Akriviadis E., Ann Hepatol. 2017
11. IGF-1Ec Expression Is Associated With Advanced Differentiated Thyroid Cancer. **Karagiannis AK**, Philippou A, Tseleni-Balafouta S, Zevolis E, Nakouti T, Tsopanomichalou-Gklotsou M, Psarras V, Koutsilieris M, Anticancer Res. Jun 2019.
12. The Role of Carotid Intima Media Thickness in Subclinical Hypothyroidism. A Systematic Review. **Karagiannis AKA** and Nakouti T., Austin Journal of Obesity & Metabolic Syndrome, July 2020

**13.** IGF Bioregulation System in Benign and Malignant Thyroid Nodular Disease: A Systematic Review. **Karagiannis A.** , Kassi E. , Chatzigeorgiou A. , Koutsilieris M., In vivo 2020.

## Ευχαριστίες

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Καθηγητή και επικεφαλής του Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας Κο Κουτσιλιέρη που με εμπιστεύτηκε, καθοδήγησε και μου έδωσε την ευκαιρία να συνεργαστώ μαζί του άψογα και δημιουργικά. Απέραντη ευγνωμοσύνη και πολλά ευχαριστώ για τη πραγματικά εξαιρετική του βοήθεια.

Στη διάρκεια των ετών αυτών ιδιαιτέρως πολύτιμη ήταν η συνεισφορά της Καθηγήτριας Παθολογικής Ανατομίας Κας Τσελένη - Μπαλαφούτα που κυριολεκτικά έπαιξε ρόλο καταλύτη στη διεξαγωγή του ερευνητικού μου έργου. Την ευχαριστώ εκ βαθέων και νιώθω τυχερός που μοιράστηκε μαζί μου την ανεξάντλητη εμπειρία της στον τομέα του καρκίνου του θυρεοειδούς.

Επίσης, θερμές ευχαριστίες στον Αναπληρωτή Καθηγητή Κο Αναστάσιο Φιλίππου για την εξαιρετική συνεργασία μας, την απλόχερη στήριξη και τις πολύτιμες συμβουλές του, που έλυναν κάθε απορία μου και επιτάχυναν έτσι την ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ρευματολογίας Κα Κλειώ Μαυραγάνη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να συνεργαστώ μαζί της.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τη γραμματεία του Καθηγητή Κου Κουτσιλιέρη και του Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας για τη βοήθεια της.

Αυτή η διατριβή θα ήταν αδύνατο να εκπονηθεί χωρίς τη συμπαράσταση και προτροπή των αγαπημένων μου γονιών. Τους ευχαριστώ εκ βάθέων και νιώθω πολύ τυχερός γι' αυτούς. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στη γυναίκα μου Δώρα για την πολύτιμη βοήθεια της.

## Περίληψη

**Γνωστικό Υπόβαθρο:** Το γονίδιο του ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα-1 (IGF-1) αποτελείται από 6 εξόνια και μπορεί να παράγει πολλαπλά ετερογενή αντίγραφα μέσω εναλλακτικών ματισμάτων κατά τη μεταγραφή του καταλήγοντας σε 3 διαφορετικά IGF-1 αντίγραφα, τα IGF-1Ea, IGF-1Eb, και IGF-1Ec, που κωδικοποιούν τις αντίστοιχες IGF-1 πρωτεϊνικές ισομορφές. Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία αναδεικνύουν μία διαφορετική έκφραση του IGF-1 στους καρκινικούς ιστούς. Πιο συγκεκριμένα αυξάνονται τα δεδομένα που δείχνουν ότι οι ισομορφές Ea , Eb , αλλά κυρίως η Ec παίζουν έναν διακριτό βιολογικό ρόλο σε διάφορους τύπους καρκίνου. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει το αν η έκφραση της ισομορφής Ec σχετίζεται με τον καρκίνο του θυρεοειδούς .

**Υλικά και Μέθοδος:** Δείγματα ιστών παραφίνης σταθεροποιημένα σε φορμαλίνη από διαφορετικούς τύπους καρκίνων του θυρεοειδούς 92 ασθενών, εξετάστηκαν για την έκφραση του IGF-1Ec με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας. Επιπλέον, βιοψίες θυρεοειδικού ιστού διαφόρων σταδίων κατά TNM ελέγχθηκαν για την mRNA έκφραση του IGF-1Ec με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (rt-PCR).

**Αποτελέσματα:** Τα συνολικά 92 δείγματα που συλλέχθηκαν αντιστοιχούσαν σε 2 αδιαφοροποίητα καρκινώματα, 10 μυελοειδή, 4 με υπερπλασία c κυττάρων, 11 θυλακιώδη, 5 με αδένωμα των κυττάρων hurtle, 2 πτωχά διαφοροποιημένα, 5 με οζώδη υπερπλασία, 1 με λέμφωμα και 52 αφορούσαν σε θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς.

Η ηλικία των ασθενών τη στιγμή της διάγνωσης του όγκου ή το μέγεθος του όγκου, δεν επηρέαζαν στατιστικώς σημαντικά την έκφραση του IGF-1Ec. Μεταξύ αυτών των τύπων του καρκίνου, ο IGF-1Ec παρουσίαζε μεγαλύτερη έκφραση στο διαφοροποιημένο θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς. Η έκφραση του ήταν κυρίως κυτταροπλασματική και σχετιζόταν θετικά με το στάδιο κατά TNM και την παρουσία διήθησης των μυών ή της κάψας του ιστού ( $p < 0.05$ ), ενώ δε βρέθηκε στατιστική συσχέτιση με τη διήθηση των περιοχικών λεμφαδένων και των γειτονικών αγγείων. Σε ότι αφορά στην mRNA έκφραση του IGF-1Ec, αυτή ήταν μεγαλύτερη όταν ο όγκος παρουσίαζε μεγαλύτερο κίνδυνο υποτροπής και ήταν πιο προχωρημένου σταδίου.

**Συμπεράσματα:** Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι η έκφραση της ισομορφής IGF-1Ec στον καρκίνο του θυρεοειδούς παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το πιο προχωρημένο στάδιο του θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς.

## **Abstract**

**Background:** Recent knowledge implicates a differential expression of the insulin-like growth factor-1 (IGF-1) mRNA splice variants (i.e., IGF-1Ea, IGF-1Eb and IGF-1Ec) in cancerous tissues, implying possible specific roles of the encoded IGF-1 protein isoforms in cancer biology. In particular, there is growing evidence that IGF-1Ec isoform may play a distinct biological role in various types of cancer. The aim of the present study was to investigate whether IGF-1Ec isoform expression is associated with a particular type of thyroid cancer.

**Materials and Methods:** Formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens of different types of thyroid cancer from 92 patients were assessed for IGF-1Ec expression profile by immunohistochemistry. In addition, thyroid cancer biopsies of different TNM staging histological types were evaluated for mRNA expression of the IGF-1Ec transcript by real-time polymerase chain reaction (rt-PCR).

**Results:** From the total number of 92 samples, 2 were undifferentiated carcinomas, 10 medullary carcinomas, 4 hyperplasia of C-cell, 11 follicular carcinomas, 5 Hurthle cell adenomas, 2 poorly differentiated, 5 nodular hyperplasia, 1 lymphoma and 52 were papillary thyroid carcinomas. The age of the patients at the time of diagnosis or the tumor size did not affect significantly the IGF-1Ec expression. Among all types of cancer, IGF-1Ec was expressed in papillary differentiated thyroid carcinoma. Its expression/localization was mainly cytoplasmic and significantly positively associated with TNM staging and the presence of muscular and capsule cancerous invasion

( $p < 0.05$ ), while no differences were found regarding vascular or regional lymph node infiltration. Similarly, a differential profile was revealed regarding the mRNA expression of the IGF-1Ec transcript, which exhibited a higher expression in advanced papillary thyroid carcinoma.

**Conclusion:** The present data demonstrate that the expression of IGF-1Ec isoform in thyroid cancer is positively-associated with more advanced stages of papillary thyroid carcinoma.

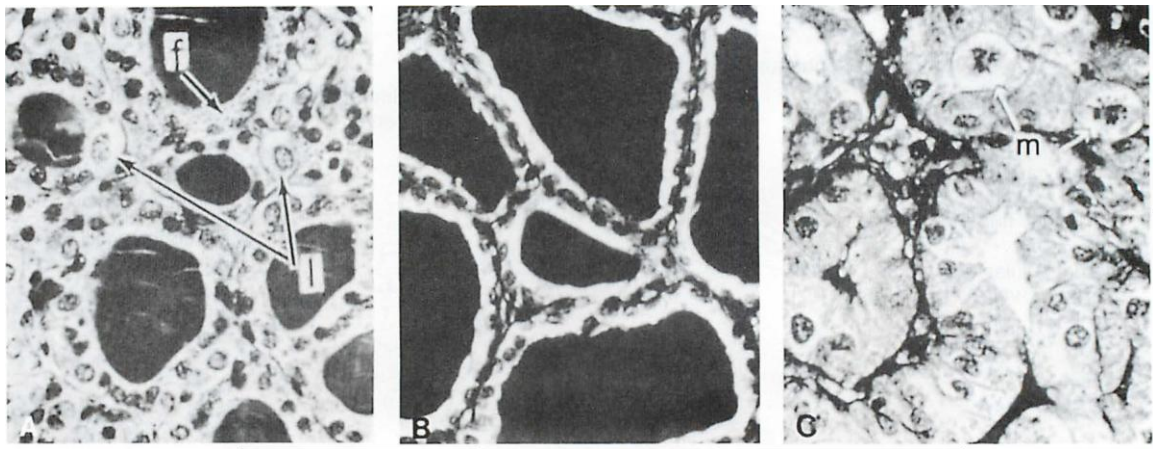


## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εμβρυολογία και Ανατομία Θυρεοειδούς Αδένα

### 1.1. Εμβρυολογία

Ο θυρεοειδής αδένας αποτελείται από τα θυλακιώδη κύτταρα, που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών, και τα παραθυλακιώδη κύτταρα C που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή καλσιτονίνης (CT). Τα θυλακιώδη προέρχονται από το ενδοδερμικό επιθήλιο του προ-εντέρου, ενώ τα πρόδρομα παραθυλακιώδη προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία του 4<sup>ου</sup> φαρυγγικού θυλάκου, (Εικ. 1) <sup>(1)</sup>.



**Εικ. 1** Εμβρυολογία του Θυρεοειδούς (πηγή: *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, 9<sup>η</sup> έκδοση)

Η πρώτη ορατή εκδήλωση του θυρεοειδούς αδένος είναι το θυρεοειδικό εντύπωμα το οποίο εμφανίζεται σαν μία πάχυνση του ενδοδερμικού επιθηλίου στη μεσότητα του πρωτογενούς φάρυγγα κατά την 20<sup>η</sup> ημέρα κύησης. Ο πολλαπλασιασμός των θυλακιωδών κυττάρων μεταναστεύει ουραία από το έδαφος του φάρυγγα, αφήνοντας σαν

κατάλοιπο της καθόδου του τον θυρεογλωσσικό πόρο. Καθώς αναπτύσσεται ο θυρεοειδής κατά την πορεία του προς την τραχεία περνάει πολύ κοντά από το υοειδές οστό και η μετανάστευση του ολοκληρώνεται έως την 7<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες ο θυρεογλωσσικός πόρος θα εξαφανιστεί <sup>(1)</sup>.

Παράλληλα με τη μετανάστευση του θυρεοειδούς μεταναστεύουν και οι πρόδρομες μορφές των κυττάρων C από τη νευρική ακρολοφία στον 4<sup>ο</sup> φαρυγγικό θύλακο και έπειτα από τις δύο πλευρές του τραχήλου προς τη μέση γραμμή. Μέχρι τη 10-11<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης έχουν συγχωνευθεί με τα θυλακιώδη κύτταρα μπροστά από τον κρικοειδή χόνδρο της τραχείας, απαρτίζοντας τελικά τον ώριμο θυρεοειδή αδένα. Ο αδένας αρχίζει πλέον να αυξάνει σε μέγεθος, ενώ παράλληλα τα θυλακιώδη κύτταρα οργανώνονται σε θυλάκια και τα παραθυλακιώδη κύτταρα C διαχέονται μεταξύ των θυλακίων.

### **1.1.1 Γονίδια**

Τα καθοριστικά γονίδια για την οργανογένεση του θυρεοειδούς και τη λειτουργική διαφοροποίηση των θυλακιωδών κυττάρων είναι τα *Titf1/Nkx2-1*, *Fox1*, *Pax8* και *Hhex*. Η ταυτόχρονη παρουσία τους είναι το βασικό χαρακτηριστικό του διαφοροποιημένου θυρεοειδικού κυττάρου. Τα παραπάνω γονίδια είναι απαραίτητα στα αρχικά στάδια της εμβρυικής ανάπτυξης, ενώ μετά συνεχίζουν να κατευθύνουν την ανάπτυξη του θυρεοειδούς μέχρι να ολοκληρωθεί η μετανάστευσή του και να αρχίσει να αυξάνεται.

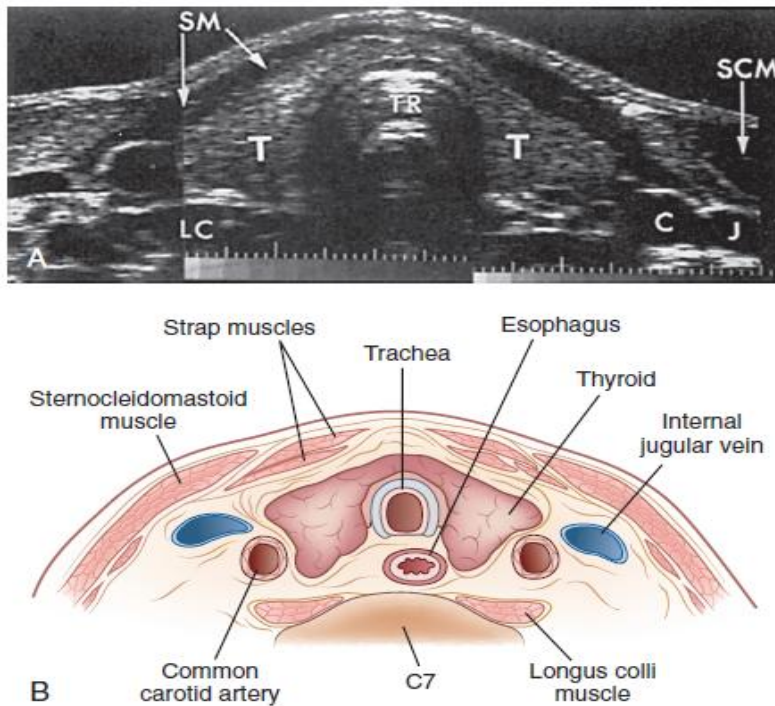
Στη συνέχεια στο τέλος του 1<sup>ου</sup> τριμήνου της κύησης αναλαμβάνουν άλλα γονίδια, όπως είναι το FGFR2 και γονίδια που προάγουν την παραγωγή της θυρεοσφαιρίνης (Tg), της θυροξειδικής υπεροξειδάσης (TPO), του συµµεταφορέα ιωδίου-νατρίου (NIS) και του υποδοχέα της εκλυτικής ορμόνης του θυροξειδούς (TSHr), που είναι απαραίτητα και έχουν καταλυτική σηµασία και ρόλο στην παραγωγή των θυροξειδικών ορµονών <sup>(2)</sup>.

## 1.2 Ανατομία

Ο θυροξειδής είναι ένας αγγειοβριθής αδένας που βρίσκεται στην πρόσθια-κάτω τραχηλική χώρα. Αποτελείται από δύο επιμήκεις λοβούς που ενώνονται µε τον ισθµό στο ύψος του 2<sup>ου</sup>-4<sup>ου</sup> τραχειακού δακτυλίου. Το βάρος του θυροξειδούς αδένα στον ενήλικα είναι περίπου 15-20gr. Στις γυναίκες είναι ελάχιστα βαρύτερος και διογκώνεται κατά την κύηση, τη γαλουχία και την εφηβεία. Σε ένα µικρότερο ποσοστό του πληθυσµού, περίπου 5-10% υπάρχει και ένας άλλος λοβός, ο πυραμοειδής λοβός. Αυτός έχει σχήµα κωνικό και συνδέεται στο ύψος του υοειδούς οστού µε µία ινοµυώδη ταινία, τον ανεκκτήρα µυ του θυροξειδούς <sup>(1)</sup>.

Ο αδένας περιβάλλεται από κάψα µέσω της οποίας προσφύεται στο λάρυγγα και στην τραχεία. Επεκτάσεις της κάψας µέσα στο θυροξειδή σχηµατίζουν διαφραγµάτια, µέσω των οποίων διαχωρίζεται σε λοβούς και λοβίδια. Ολόκληρος ο αδένας βρίσκεται κάτω από το επιπολής πέταλο της τραχηλικής περιτονίας και κάτω από µια λεπτή πρόσθια λωρίδα µυών (στερνοθυροξειδής, στερνοϋοειδής, ωµοϋοειδής), ενώ σε προσθιοπλάγια

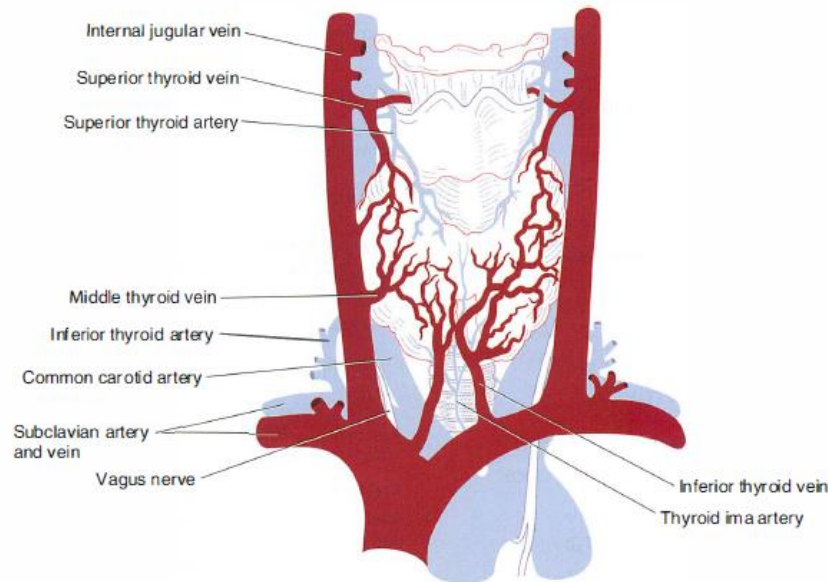
θέση βρίσκεται ο στερνοκλειδομαστοειδής μυς. Οπισθοπλαγίως κάθε λοβού βρίσκεται το αγγειονευρώδες δεμάτιο που περιλαμβάνει από έσω προς τα έξω την κοινή καρωτίδα, τη σφαγίτιδα φλέβα, το πνευμονογαστρικό νεύρο και την εν τω βάθει ομάδα των τραχηλικών λεμφαδένων. Οπισθίως των δύο λοβών και μεταξύ της κάψας του αδένα και της προτραχειακής περιτονίας, βρίσκονται οι παραθυροειδείς αδένες. Στην ίδια περιοχή πίσω από τους 2 λοβούς βρίσκονται επίσης ο επιμήκης τραχηλικός μυς και το μικρό αγγειονευρώδες δεμάτιο που περιέχει τα κάτω θυρεοειδικά αγγεία και το παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο, <sup>(3)</sup> (Εικ. 2 ).



**Εικ. 2** Αδρή ανατομία του Θυρεοειδούς , όπως αυτή φαίνεται στον υπέρηχο (A) και σε εγκάρσια τομή (B) (πηγή: *Williams Textbook of Endocrinology 12<sup>η</sup> έκδοση*)

Η αιμάτωση του θυρεοειδούς γίνεται από την άνω θυρεοειδική αρτηρία (κλάδος της έξω καρωτίδας), την κάτω θυρεοειδική αρτηρία (κλάδος του θυρεοαυχενικού στελέχους) και τη μέση θυρεοειδική αρτηρία, η οποία όταν υπάρχει, εκφύεται από την ανώνυμη αρτηρία ή το αορτικό τόξο. Οι αρτηρίες εμφανίζουν εκτεταμένες αναστομώσεις στην επιφάνεια του αδένα.

Το φλεβικό δίκτυο στο θυρεοειδή αποτελείται από την άνω και μέση θυρεοειδική φλέβα όπου και οι δύο αυτές εκβάλλουν στην έσω σφαγίτιδα και την κάτω θυρεοειδική φλέβα που δέχεται συμβάλλουσες φλέβες από τον ισθμό και τους κάτω πόλους του αδένα. Οι δύο κάτω θυρεοειδικές φλέβες αναστομώνονται μεταξύ τους κατά τη μέση γραμμή, στο ύψος της τραχείας και εκβάλλουν στην αριστερή ανώνυμη φλέβα <sup>(1)</sup>, **(Εικ. 3)**.



**Εικ. 3 Η αιμάτωση του θυρεοειδούς αδένα** (πηγή: *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, 9<sup>η</sup> έκδοση)

Η λεμφική παροχέτευση γίνεται άμεσα προς τους λεμφαδένες γύρω από το θυροειδή, στους προ-λαρυγγικούς (Delphian), στους προ-τραχειακούς και παρα-τραχειακούς λεμφαδένες κατά μήκος του παλίνδρομου λαρυγγικού νεύρου και ακολούθως προς τους λεμφαδένες του μεσοθωρακίου.

Η νεύρωση του θυροειδούς προέρχεται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα και πιο συγκεκριμένα από τις παρασυμπαθητικές νευρικές ίνες, που προέρχονται από τα πνευμονογαστρικά νεύρα και από τις συμπαθητικές ίνες, που προέρχονται από τα άνω, μέσα και κάτω αυχενικά γάγγλια του συμπαθητικού. Τα μικρά αυτά νεύρα εισέρχονται στο θυροειδή αδένα μαζί με τα αγγεία.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Διαχείριση του Ιωδίου και Βιοσύνθεση των Θυρεοειδικών Ορμονών**

### **2.1. Πρόσληψη και απέκκριση Ιωδίου**

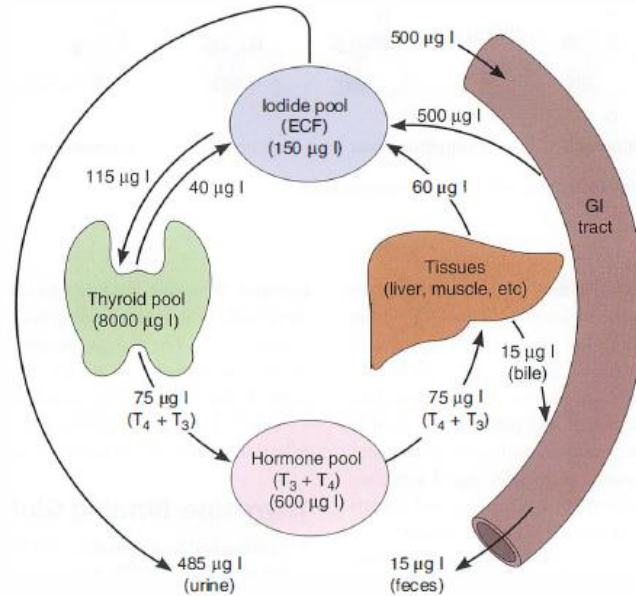
Η μέση ημερήσια πρόσληψη ιωδίου στα πλαίσια της φυσιολογικής ορμονοσύνθεσης είναι περίπου 150 μg/ημ για τους εφήβους και τους ενήλικες, 200 μg/ημ για την κύηση και 250 μg/ημ για το θηλασμό. Επιπλέον κατά την κύηση αυξάνεται η σπειραματική διήθηση στους νεφρούς και άρα και η αποβολή ιωδίου από τα ούρα, γεγονός που συνδέεται με την ανάπτυξη βρογχοκήλης.

Το ιώδιο απορροφάται από το στομάχι και το έντερο και ταχύτατα από το θυρεοειδή. Αποβάλλεται κατά κύριο λόγο από τους νεφρούς γι' αυτό και η συγκέντρωσή του στο εξωκυττάριο υγρό είναι γενικά χαμηλή. Ένα ποσοστό του ιωδίου κατανέμεται επίσης στο σίελο, στις γαστρικές εκκρίσεις και στον ιδρώτα.

Η ενδοθυρεοειδική δεξαμενή του οργανοποιημένου ιωδίου είναι περίπου 8 mg. Ο θυρεοειδής λειτουργεί έτσι ως αποθήκη θυρεοειδικών ορμονών και ιωδιωμένων τυροσινών, προστατεύοντας τον οργανισμό από καταστάσεις ένδειας ιωδίου. Υπάρχει επίσης μία εξωθυρεοειδική δεξαμενή θυρεοειδικών ορμονών της τριϊωδοθυρονίνης (T3) και της τετραϊωδοθυρονίνης/θυροξίνης (T4) στο πλάσμα, στην οποία ανευρίσκονται περί τα 600μg ιωδίου υπό μορφή οργανικού ιωδίου, το οποίο είναι κυρίως συνδεδεμένο με δεσμευτικές πρωτεΐνες. Καθημερινά, σχεδόν 75μg ιωδίου απελευθερώνονται από την ενδοθυρεοειδική δεξαμενή προς την κυκλοφορία ως ορμόνες, τα οποία προσλαμβάνονται και μεταβολίζονται στους ιστούς (ήπαρ και μύες). Από αυτά, τα 60μg επιστρέφουν στη



δεξαμενή του εξωκυττάριου ιωδίου ως ανόργανο ιώδιο, ενώ τα 15μg αποβάλλονται με τα κόπρανα <sup>(4)</sup>, (Εικ. 4).



**Εικ. 4 Διαχείριση και απέκκριση του Ιωδίου στην κυκλοφορία** (πηγή: *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, 9<sup>η</sup> έκδοση)

## 2.2. Σύνθεση και Έκκριση Θυρεοειδικών Ορμονών

Η διαδικασία ξεκινά με την είσοδο του ιωδίου στα θυρεοειδικά θυλάκια ενεργητικά μέσω του NIS. Ακολουθεί η ιωδίωση των ριζών τυροσίνης της θυρεοσφαιρίνης (Tg) και στη συνέχεια η σύζευξη των ιωδοτυροσινών MIT (Μονοϊωδοτυροσίνη) και DIT (Διϊωδοτυροσίνη) για το σχηματισμό της T3 τριϊωδοτυροσίνης (MIT+DIT) και της τετραϊωδοτυροσίνης T4 (DIT+DIT). Κατόπιν, ακολουθεί η πρωτεόλυση της θυρεοσφαιρίνης που με τη σειρά της οδηγεί σε απελευθέρωση προς την κυκλοφορία των ορμονών T3, T4, καθώς και των πρόδρομων πεπτιδίων MIT και DIT.

### 2.2.1 Πρόσληψη και συγκέντρωση Ιωδίου

Η πρόσληψη στο θυρεοειδή γίνεται ενεργητικά, από την πλαγιοβασική μεμβράνη του θυρεοειδικού κυττάρου, μέσω του NIS με συμμεταφορά 1 μορίου ιωδίου και 2 Na. Στη ρύθμιση της έκφρασης του NIS εμπλέκονται το ίδιο το ιώδιο, το ρετινοϊκό οξύ, ο TGFβ, ο TNFα και η IL-1α. Η απαιτούμενη ενέργεια προσφέρεται από την Na-K-ATPάση. Η μεταφορά του ιωδίου από την κορυφή του θυρεοειδικού κυττάρου προς την κοίτη του θυλακίου γίνεται μέσω μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, της πεντρίνης με συμμεταφορά χλωρίου (Cl). Η πεντρίνη είναι απαραίτητη και για την ενσωμάτωση και οργανοποίηση του ιωδίου στη θυρεοσφαιρίνη <sup>(1,3)</sup>.

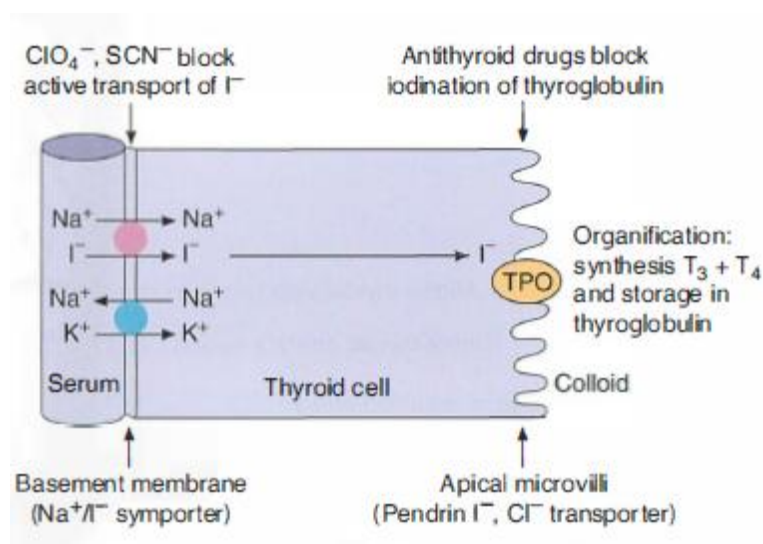
Η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη TSH διεγείρει την έκφραση του γονιδίου του NIS. Επίσης, η ενεργητική πρόσληψη ιωδίου μέσω NIS διεγείρεται από την TSH, ανταγωνίζεται από θειοκυανικά (SCN<sup>-</sup>) και άλλα ανιόντα (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SeCN<sup>-</sup>) και αναστέλλεται από τα υπερχλωρικά ανιόντα (ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>).

Το μεγαλύτερο μέρος του ιωδίου μέσα στο θυρεοειδή βρίσκεται ενσωματωμένο στη θυρεοσφαιρίνη υπό τη μορφή του οργανικού ιωδίου, το οποίο βρίσκεται σε συνάρτηση με την πρόσληψη ιωδίου. Δύο άλλες μορφές ιωδίου στο θυρεοειδή αποτελούν το *ανόργανο ιώδιο*, το οποίο προέρχεται από την εξωθυρεοειδική δεξαμενή και μεταφέρεται με τον ορό του αίματος και το *ενδογενές ιώδιο* το οποίο προέρχεται από την αποϊωδίωση των ιωδιωμένων ουσιών του θυρεοειδούς και βρίσκεται σε γενικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Τέλος, ένα μικρό μέρος του ιωδίου βρίσκεται υπό τη μορφή άλλων

ενώσεων και τέλος ένα ακόμη μικρότερο ποσοστό βρίσκεται ως ελεύθερα ιωδιωμένα αμινοξέα και ιωδιωμένα πεπτίδια (MIT, DIT) <sup>(1,3)</sup>.

### **2.2.2 Ιωδίωση - Οργανοποίηση Ιωδίου - Σύνθεση Θυρεοειδικών Ορμονών**

Η οξείδωση και οργανοποίηση του ιωδίου επιτελείται στην κορυφαία πλευρά του θυλακίου, όπου βρίσκονται η θυρεοειδική υπεροξειδάση (TPO), καθώς και το ένζυμο αναγωγή NADPH του κυτοχρώματος C του θυρεοειδούς. Για να επιτευχθεί η ιωδίωση είναι απαραίτητη η συνεργασία ιωδίου-Tg-TPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Πιο αναλυτικά, το ανόργανο ιώδιο που εισέρχεται στο θυρεοειδή, πρέπει καταρχήν να οξειδωθεί μέσω του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και του οξυγόνου. Η θυρεοειδική υπεροξειδάση είναι μια μεμβρανική αιμοπρωτεΐνη στο κορυφαίο τμήμα του θυρεοειδικού κυττάρου και καταλύει την ιωδίωση των τυροσινικών ριζών όπως και τη σύζευξή τους στη θυρεοσφαιρίνη για το σχηματισμό T<sub>3</sub> και T<sub>4</sub>. Η MIT σχηματίζεται με την προσθήκη ενός ατόμου Ι στην ελεύθερη ρίζα της τυροσίνης ενώ η DIT με την προσθήκη ενός ατόμου Ι στη MIT <sup>(2)</sup>, ( **Εικ. 5**).



**Εικ. 5 Σχηματική αναπαράσταση της οργανοποίησης του Ιωδίου** (πηγή: *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, 9<sup>η</sup> έκδοση)

Σε ξαφνική αύξηση του προσφερόμενου ιωδίου μέσα στον αδένα μειώνεται η δράση της TPO και αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μη οργανοποίηση περαιτέρω ιωδίου. Έτσι παρατηρείται ελάττωση του προσλαμβανόμενου ιωδίου μέσω μείωσης της σύνθεσης του NIS, έξοδος από τον αδένα του ιωδίου που δεν έχει οργανοποιηθεί και τελικά ελάττωση του ενδοθυρεοειδικού ανόργανου ιωδίου. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό και ως Wolff-Chaikoff φαινόμενο και παρουσιάζεται για λίγες ημέρες. Στη συνέχεια μετά από περίπου 10 ημέρες υπάρχει μηχανισμός διαφυγής όπου και αρχίζει να συντίθεται εκ νέου ο NIS και να επιτρέπει την απαραίτητη είσοδο ιωδίου, παρά το γεγονός ότι ο θυρεοειδής συνεχίζει να εκτίθεται σε μεγάλες δόσεις ιωδίου <sup>(2)</sup>.

### 2.2.3 Έκκριση των Θυρεοειδικών Ορμονών

Η έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών γίνεται μέσω επαναρρόφησης της θυρεοσφαιρίνης στο κυτταρόπλασμα του θυρεοειδικού κυττάρου στην κορυφαία μεμβράνη, μια διαδικασία που ονομάζεται ενδοκύττωση. Ακολουθεί αποδόμηση αυτής από τα λυσοσωμικά ένζυμα. Ως συνέπεια, το 85% της T4 υπόκειται αποϊωδίωση προς T3 και ανάστροφη τριϊωδοθυρονίνη (rT3) αντίστοιχα στους περιφερικούς ιστούς, με τη βοήθεια των αποϊωδινασών. Η rT3 είναι ανενεργή ορμόνη στην περιφέρεια. Η ενδοθυρεοειδική παραγωγή της T3 είναι μικρή, αλλά καθίσταται ιδιαίτερα σημαντική σε συνθήκες ιωδοπενίας, όπου σχηματίζονται περισσότερες MIT και περισσότερη T3 από ότι T4. Η ενδοθυρεοειδική μετατροπή της T4 σε T3 καθώς και η δραστηριότητα των αποϊωδινασών, βρίσκονται υπό τον έλεγχο της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης <sup>(5)</sup>.

### 2.2.4 Θυρεοσφαιρίνη (Tg)

Η Tg αποτελεί το 75% των πρωτεϊνών του θυρεοειδούς και συντίθεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο των θυλακιωδών κυττάρων, μετά από διέγερση από την TSH. Πρόκειται για μια μεγάλη γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 2 υποομάδες που συνδέονται ασθενώς μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η θυρεοσφαιρίνη είναι το υπόστρωμα για τη σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών και επιπλέον λειτουργεί ως αποθήκη ιωδίου κυρίως με τη μορφή των MIT και DIT. Η Tg εισέρχεται σε ελάχιστα ποσά στην κυκλοφορία μέσω της λεμφικής οδού και αποτελεί σημαντικό δείκτη της

παρακολούθησης του διαφοροποιημένου καρκίνου του θυρεοειδούς σε ασθενείς που υφίστανται ολική θυρεοειδεκτομή και ablation με χορήγηση ραδιενεργού ιωδίου <sup>(3)</sup>.

### **2.2.5 Αποϊωδίωση Ορμονών**

Η T4 υπόκειται σε μεταβολικές τροποποιήσεις στους περιφερικούς ιστούς, που άλλοτε καταλήγουν σε παράγωγα με αυξημένη συγγένεια προς τους υποδοχείς και συνεπώς αυξημένη βιολογική δραστηριότητα (5'-αποϊωδίωση T4 σε T3, ή αποκαρβοξυλίωση και απαμίνωση της T3 προς Triac) και άλλοτε σε αδρανή παράγωγα (5-αποϊωδίωση T4 σε rT3 ή αντικατάσταση της υδροξυλομάδας του φαινολικού δακτυλίου με θειομάδες ή γλυκουρονίδια).

Το 80% της T4 μεταβολίζεται καθημερινά με αποϊωδίωση στις θέσεις 5 και 5' από τις αποϊωδινάσες. Αυτές είναι ειδικές σεληνοπρωτεΐνες και η δράση τους ρυθμίζεται από ορμόνες, αυξητικούς, περιβαλλοντικούς, διατροφικούς και φαρμακευτικούς παράγοντες <sup>(5)</sup>.

### **2.2.6 Υποδοχείς Θυρεοειδικών Ορμονών**

Οι υποδοχείς των θυρεοειδικών ορμονών (TRs) αποτελούν μέλη της υπερικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων. Λειτουργούν σα μεταγραφικοί παράγοντες που επάγονται

μετά τη σύνδεσή τους με T3. Διακρίνονται σε TRα και TRβ και κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα.

Το γονίδιο του TRβ βρίσκεται στο χρωμόσωμα *XP.3* και κωδικοποιεί 3 ισομορφές: τη β1, β2 και β3. Το γονίδιο του TRα βρίσκεται στο χρωμόσωμα *XP.17* και κωδικοποιεί επίσης 3 ισομορφές: την α1, α2 και α3. Οι α2 και α3 ισομορφές δεν ενεργοποιούνται μετά από σύνδεσή τους με την T3 <sup>(6)</sup>.

Ο TRα1 εκφράζεται σε όλα τα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης, ενώ ο TRβ στα τελικά στάδια. Επιπλέον, σε κάθε όργανο επικρατεί και διαφορετική ισομορφή με ανάλογη βιολογική δράση. Έτσι στον εγκέφαλο (πλην της υπόφυσης και του υποθαλάμου), στην καρδιά, στους μύες και στα οστά κυριαρχεί ο TRα, στο θυρεοειδή ο TRβ, στο νεφρό και στο ήπαρ ο TRβ1, ενώ στην υπόφυση και στον υποθάλαμο ο TRβ2 <sup>(6)</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Καρκίνος του Θυρεοειδούς

### 3.1 Γενικά στοιχεία - Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς είναι η πιο συχνή ενδοκρινική κακοήθεια, καθώς αποτελεί το 90% των κακοηθειών του ενδοκρινικού συστήματος. Εκπροσωπεί λιγότερο από το 1% του συνόλου των νεοπλασιών στον άνθρωπο. Στα παιδιά όμως ανέρχεται στο 3% των καρκίνων. Τις τελευταίες δεκαετίες η συχνότητα εμφάνισης της νόσου έχει τουλάχιστον διπλασιαστεί, γεγονός που πιθανόν οφείλεται στην ευρεία χρήση των υπερήχων. Εντούτοις, η θνητότητα παρέμεινε σταθερή, γεγονός ενδεικτικό της πρωιμότερης και ευρύτερης διάγνωσης, αλλά και της καλύτερης αντιμετώπισης. Η επίπτωση στις ΗΠΑ είναι περίπου 40.000 άτομα/έτος και η εμφάνιση του συμβαίνει συνηθέστερα μεταξύ της 3<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> δεκαετίας της ζωής. Οι γυναίκες φαίνεται να έχουν τη μεγαλύτερη επιβάρυνση με μια αναλογία στα δύο φύλα: Γυναίκες / Άνδρες = 3 / 1, ενώ πιο συχνός φαίνεται να είναι σε άτομα που ανήκουν στη λευκή φυλή <sup>(1,3)</sup>.

Ο καρκίνος του θυρεοειδούς εμφανίζει στην πλειοψηφία του καλή πρόγνωση, η οποία είναι ακόμη καλύτερη για τα μικροκαρκινώματα (που έχουν μέγιστη διάμετρο κάτω των 10 χιλιοστών). Το μυελοειδές καρκίνωμα (MTC) αντιπροσωπεύει μόλις το 5%, αλλά ευθύνεται για το 15% των θανάτων από καρκίνο του θυρεοειδούς <sup>(3)</sup>. Πιο επιθετικοί όγκοι είναι οι πτωχά διαφοροποιημένοι και οι αδιαφοροποίητοι με μεγάλο ποσοστό θνησιμότητας.



Σε ότι αφορά στην προέλευση τους, από τα ενδοδερμικής προέλευσης επιθηλιακά κύτταρα των θυλακίων του αδένου αναπτύσσονται τα θηλώδη, τα θυλακιώδη, τα πτωχά διαφοροποιημένα και τα αναπλαστικά καρκινώματα. Από τα νευροενδοκρινούς προέλευσης καλσιτονινο-παραγωγά παραθυλακιώδη κύτταρα-C αναπτύσσεται το μυελοειδές καρκίνωμα. Από τον ενδοθυρεοειδικό λεμφικό ιστό αναπτύσσεται το θυρεοειδικό λέμφωμα, ενώ από το συνδετικό ιστό του θυρεοειδούς αδένου αναπτύσσεται το σάρκωμα <sup>(1,3)</sup>. Τέλος, στη περιοχή του θυρεοειδούς αναπτύσσονται σπανιότερα δευτεροπαθείς όγκοι από άλλες πρωτοπαθείς εστίες.

### 3.2 Ιστολογική Ταξινόμηση Καρκίνου Θυρεοειδούς

Παρακάτω παρατίθεται η ιστολογική ταξινόμηση των όγκων του Θυρεοειδούς αδένου σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας το 2017 <sup>(7)</sup>.

• Όγκοι του Θυρεοειδούς Αδένα	ICD 0 codes
○ <b>Θυλακιώδες Αδένωμα</b>	8330/0
○ <b>Δοκιδωτός Όγκος με υαλινοποίηση</b>	8336/1
○ <b>Άλλοι εγκαψωμένοι θυρεοειδικοί όγκοι με θυλακιώδες πρότυπο</b>	
▪ Θυλακιώδεις όγκοι με αβέβαιο κακόηθες δυναμικό	8335/1
▪ Καλά διαφοροποιημένοι όγκοι με αβέβαιο κακόηθες δυναμικό	8348/1
▪ Μη διηθητικό Θυλακιώδες νεόπλασμα με πυρηνικούς χαρακτήρες θηλώδους	8349/1
○ <b>Θηλώδες Θυρεοειδικό Καρκίνωμα</b>	
▪ Θηλώδες Μικροκαρκίνωμα	8341/3
▪ Θηλώδες καρκίνωμα	8260/3
▪ Θυλακιώδης Ποικιλία του Θηλώδους	8340/3
▪ Εκ Υψηλών κυττάρων	
▪ Συμπαγές/δοκιδωτό	
▪ Εκ διαυγών κυττάρων	
▪ Εκ των άτρακτων κυττάρων ποικιλία	
▪ Warthin like ποικιλία	
▪ Hobnail ποικιλία ( <u>νέος υπότυπος</u> )	
▪ Cribiform-morular ποικιλία	
▪ Θηλώδες Καρκίνωμα με ινομάτωση/FLS	8343/3
▪ Εγκαψωμένη ποικιλία του Θηλώδους	8344/3
▪ Εκ κυλινδρικών κυττάρων	
▪ Διάχυτα σκληρυντικό	
▪ Ογκοκυτταρική Ποικιλία του Θηλώδους	8342/3
○ <b>Θυλακιώδες Θυρεοειδικό Καρκίνωμα</b>	8330/3
▪ Ελάχιστα Διηθητικό	8335/3
▪ Εγκαψωμένο με διήθηση αγγείων	8339/3
▪ Ευρέως Διηθητικό	8330/3
○ <b>Hürthle (ογκοκυτταρικό) cell όγκος</b>	
▪ Hürthle cell αδένωμα	8290/0
▪ Hürthle cell καρκίνωμα	8290/3
○ <b>Πτωχά διαφοροποιημένο Θυρεοειδικό Καρκίνωμα</b>	8337/3
○ <b>Αναπλαστικό Θυρεοειδικό Καρκίνωμα</b>	8020/3
○ <b>Πλακώδες Καρκίνωμα</b>	8070/3
○ <b>Μυελοειδές Καρκίνωμα</b>	8345/3
○ <b>Μικτό Μυελοειδές και Θυλακιώδες Καρκίνωμα</b>	8346/3
○ <b>Βλεννοεπιδερμοειδές Καρκίνωμα</b>	8430/3
○ <b>Σκληρυντικό Βλεννοεπιδερμοειδές Καρκίνωμα με ηωσινοφιλία</b>	8430/3
○ <b>Βλενώδες καρκίνωμα</b>	8480/3
○ <b>Έκτοπο Θύμωμα</b>	8580/3
○ <b>Επιθηλιακοί όγκοι των άτρακτων κυττάρων με θυμική διαφοροποίηση</b>	8588/3

○ <b>Ενδοθυροειδικό Θυμικό Καρκίνωμα</b>	8589/3
○ <b>Παραγαγγλίωμα και Μεσεγχυματικοί Όγκοι του Στρώματος</b>	
▪ Παραγαγγλίωμα	8693/3
▪ Όγκοι εκ του περιφερικού νευρικού ελύτρου (PNSTs)	
▪ Σβάννωμα	9560/0
▪ Κακόηθες PNST	9540/3
▪ Καλοήθεις αγγειακοί όγκοι	
▪ Αιμαγγείωμα	9120/0
▪ Σηραγγώδες Αιμαγγείωμα	9121/0
▪ Λεμφαγγείωμα	9170/0
▪ Αγγειοσάρκωμα	9120/3
▪ Όγκοι εκ των λείων μυϊκών ινών	
▪ Λειομύωμα	8890/0
▪ Λειομυοσάρκωμα	8890/3
▪ Μεμονωμένος Ινώδης/Συνδετικός Όγκος	8815/1
○ <b>Αιματολεμφοειδείς Όγκοι</b>	
▪ Ιστιοκυττάρωση του Langerhans	9751/3
▪ Rosai-Dorfman νόσος	
▪ Σάρκωμα φολιδωτών/δενδριτικών κυττάρων	9758/3
▪ Πρωτοπαθές Θυροειδικό Λέμφωμα	
○ <b>Όγκοι εκ των Γεννητικών Κυττάρων</b>	
▪ Καλόηθες Τεράτωμα	9080/0
▪ Ανώριμο Τεράτωμα	9080/1
▪ Κακόηθες Τεράτωμα	9080/3
○ <b>Δευτεροπαθείς Όγκοι</b>	

*Στη στήλη με το ICD τα πρώτα 4 ψηφία υποδεικνύουν ένα ειδικό ιστολογικό ICD κωδικό, ενώ το 5<sup>ο</sup> ψηφίο υποδεικνύει τη βιολογική συμπεριφορά του όγκου συμπεριλαμβάνοντας το 0 για τους καλοήθεις το 1 για τους οριακής ή αβέβαιης κακοήθειας, το 2 για τα in situ καρκινώματα και την grade III ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία και το 3 για τους κακοήθεις όγκους.*

Στη νέα ταξινόμηση της ΠΟΥ παρουσιάζονται αρκετές διαφορές, όπως η είσοδος μιας νέας ιστολογικής ποικιλίας για το θηλωδες καρκίνωμα (της hobnail variant), η εισαγωγή μιας ομάδας οριακών όγκων με αβέβαιο κακόηθες δυναμικό, η υποδιαίρεση του θυλακιώδους καρκινώματος σε 3 ομάδες (ελάχιστα διηθητικό-ευρέως διηθητικό και εγκαψωμένο με διήθηση αγγείων), ο σαφής διαχωρισμός του Hürthle cell αδενώματος/καρκινώματος από το θυλακιώδες αδένωμα/καρκίνωμα και η υιοθέτηση των κριτηρίων του Turin για την ιστολογική διάγνωση του πτωχά διαφοροποιημένου καρκινώματος<sup>(7)</sup>.

### 3.3 Αιτιοπαθογένεια Θυρεοειδικού Καρκίνου

#### A. Μεταλλάξεις:

(-) Στους γαμέτες

Περίπου το 5% των θυρεοειδικών καρκινωμάτων είναι οικογενή. Χαρακτηριστική κληρονομούμενη μορφή καρκίνου του θυρεοειδούς είναι το οικογενές μυελοειδές καρκίνωμα. Αυτό αντιπροσωπεύει το 25% των μυελοειδών καρκινωμάτων και εκδηλώνεται στα πλαίσια του MEN-2 ή μεμονωμένα ως οικογενές μυελοειδές. Οφείλεται σε ενεργοποιητική μετάλλαξη του ογκογονιδίου RET.

Άλλα καρκινώματα του θυρεοειδούς εκδηλώνονται στα πλαίσια οικογενών συνδρόμων πολλαπλών νεοπλασιών, όπως είναι:

- 1) η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση
- 2) θηλώδες καρκίνωμα και πολλαπλοί αδενωματώδεις πολύποδες παχέος εντέρου
- 3) το σύνδρομο Gardner (παρουσία θηλώδους καρκινώματος)
- 4) η νεφρική θηλώδης νεοπλασία (παρουσία θηλώδους καρκινώματος)
- 5) η νόσος Cowden (παρουσία θυλακιδώδους καρκινώματος)
- 6) το Carney complex τύπου-I (παρουσία θηλώδους ή θυλακιδώδους καρκινώματος)
- 7) το Σύνδρομο Werner (παρουσία θηλώδους ή θυλακιδώδους ή σπανιότερα αδιαφοροποίητου καρκινώματος του θυρεοειδούς).

Τέλος, μεμονωμένα στο θυρεοειδή μπορεί να εμφανιστεί η παρουσία καλά διαφοροποιημένου θυλακιοκυτταρικού καρκίνου θυρεοειδούς (θηλώδες, θυλακιώδες ή Hurthle-cell καρκίνωμα) σε 2 ή περισσότερους πρώτου βαθμού συγγενείς, με ταυτόχρονη απουσία άλλων προδιαθεσικών παραγόντων, κληρονομούμενων ή περιβαλλοντικών. Κληρονομείται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα τύπο, αλλά με ατελή διείσδυση <sup>(3)</sup>.

#### (-) Σωματικές μεταλλάξεις - Ανασυνδυασμοί

Η υπερδιέγερση του μονοπατιού των MEK/MAPK κινασών φαίνεται πως μπορεί να προκαλέσει καρκινογένεση. Φυσιολογικά, η ενεργοποίηση της οδού γίνεται από πλήθος αυξητικών παραγόντων και κυττοκινών, μέσω μεμβρανικών υποδοχέων. Σημαντικά συστατικά της οδού αποτελούν οι RAF-κινάσες (A, B και C-RAF) και ο ERK που ενεργοποιούμενος τροποποιεί τη γονιδιακή έκφραση. Πολλές μεταλλάξεις και ανασυνδυασμοί που αφορούν στην οδό MEK/MAPK κινασών είναι ειδικές για την ανάπτυξη του θηλώδους καρκινώματος και ανιχνεύονται σε μεγάλο ποσοστό. Αντίστοιχα, τα θυλακιώδη καρκινώματα φέρουν συνήθως μεταλλάξεις στο RAS ογκογονίδιο (H, K, N- RAS ) και ανασυνδυασμό στο PAX8/PPAR $\gamma$  <sup>(8)</sup>. Η συσχέτιση της αναδιάταξης PAX8/PPAR $\gamma$  έχει συσχετιστεί με αρνητικά προγνωστικά χαρακτηριστικά όπως είναι για παράδειγμα η πολυεστιακότητα και η αγγειακή διήθηση.

### **(α) Ενεργοποιητική μετάλλαξη BRAF:**

Είναι η συνηθέστερη μετάλλαξη που αφορά στο θηλώδες καρκίνωμα και είναι πάντοτε επίκτητη. Είναι συνηθέστερη στους πιο επιθετικούς υποτύπους του θηλώδους καρκινώματος και φαίνεται γενικότερα να συσχετίζεται συχνότερα με δυσμενή χαρακτηριστικά και αρνητικούς προγνωστικούς παράγοντες, όπως η εξωθυροειδική επέκταση, οι λεμφαδενικές μεταστάσεις, το μεγάλο μέγεθος όγκου, το άρρεν φύλο και η μεγάλη ηλικία.

Η μετάλλαξη BRAF Val600Glu αντιπροσωπεύει τη συνηθέστερη όλων των γνωστών BRAF μεταλλάξεων <sup>(9)</sup>. Πέραν του καρκίνου του θυροειδούς έχει συσχετιστεί και με άλλες κακοήθειες όπως αυτή του παχέος εντέρου αλλά και με το μελάνωμα <sup>(10)</sup>. Η αλλαγή που επισυμβαίνει πραγματοποιείται στο V600 αμινοξύ. Πιο συγκεκριμένα, στη θέση 1799 το νουκλεοτίδιο με βάση τη θυμίνη (T) αντικαθίσταται από το νουκλεοτίδιο με βάση την αδενίνη (A). Σαν αποτέλεσμα, το αμινοξύ βαλίνη (Val) αντικαθίσταται από το γλουταμινικό οξύ (Glu) στη θέση 600 της αλληλουχίας των αμινοξέων <sup>(9,11,12)</sup>.

Η μετάλλαξη BRAF V600E ευοδώνει τη διηθητικότητα και τις μεταστάσεις, ενώ ευνοεί και την αποδιαφοροποίηση του όγκου προσδίδοντας έναν ενδεχομένως δυσμενή κλινικό φαινότυπο <sup>(13)</sup>.

### **(β) Ανασυνδυασμός RET/PTC:**

Παρατηρείται επίσης στα θηλώδη καρκινώματα. Προκύπτει από συγκόλληση του 3'-τιμήματος του γονιδίου που κωδικοποιεί την τυροσινική κινάση του υποδοχέα RET και

του 5'-τμήματος διαφόρων άλλων γονιδίων. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη RET/PTC διατηρεί την ικανότητα ενεργοποίησης του μονοπατιού MAPK κινασών και προκαλεί ογκογένεση. Στον ίδιο τον όγκο ο ανασυνδυασμός μπορεί να εντοπίζεται σε όλα τα καρκινικά κύτταρα ή σε ένα μέρος αυτών, **(Εικ. 6)**.

Η βλάβη αυτή διαπιστώνεται περίπου σε ένα ποσοστό 20-30% των περιστατικών σποραδικού θηλώδους καρκινώματος και παρουσιάζει μεγαλύτερη επίπτωση σε ασθενείς που έχουν ακτινοβοληθεί, καθώς και σε νεαρές ηλικίες.

Ο RET/PTC ανασυνδυασμός έχει επίσης εντοπισθεί σε έδαφος θυρεοειδίτιδας Hashimoto, και σπανιότερα σε καλοήγη αδενώματα. Στις περιπτώσεις αυτές το σύνηθες είναι η παρουσία τους να μην αφορά στην πλειοψηφία των κυττάρων αλλά σε ένα μέρος μόνο αυτών. <sup>(13)</sup>

Συνοπτικά στον κάτωθι πίνακα φαίνεται η συμμετοχή της κάθε μετάλλαξης στο θυρεοειδικό καρκίνο, **(Πιν.1)**.

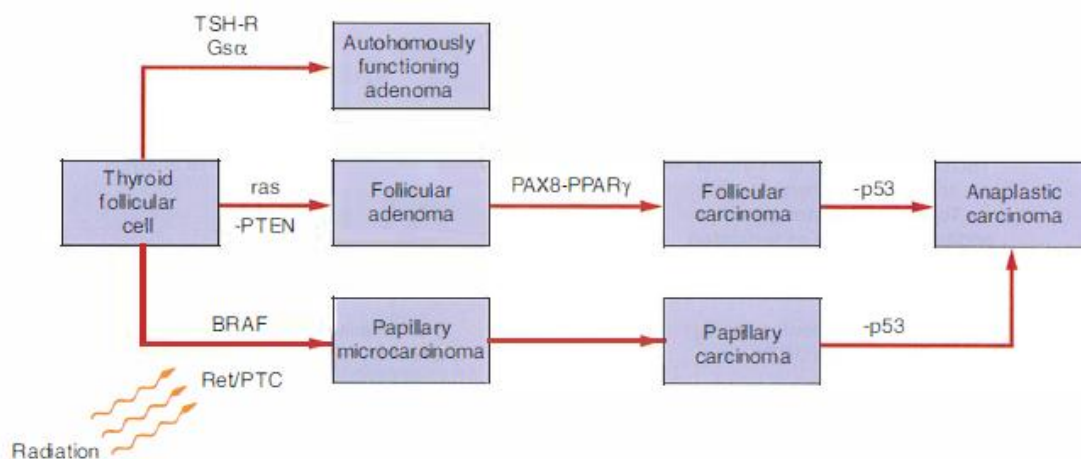
## **B. MicroRNAs**

Τα microRNAs (miRs) είναι μικρά (19-25 νουκλεοτίδια) μη κωδικοποιητικά RNA που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση μέσω πρόσδεσης σε μια μη κωδικοποιούσα περιοχή των mRNA στόχων που ονομάζεται 3'-UTRαμετάφραστη περιοχή <sup>(14)</sup>. Τα miRs ρυθμίζουν μεγάλο ποσοστό του ανθρώπινου γονιδιώματος και δρουν είτε ως ογκοκατασταλτικά είτε ως ογκογονίδια <sup>(15)</sup>. Ένας πολυμορφισμός σε ένα miR (miR-146a) που μπορεί να εμπλέκεται σε μεγάλα μεταγωγικά μονοπάτια μπορεί να συνεισφέρει

σημαντικά στην καρκινογένεση των διαφοροποιημένων καρκινωμάτων του θυρεοειδούς (16).

### Πίνακας 1. Συμμετοχή της κάθε μετάλλαξης στο θυρεοειδικό καρκίνο

<b>PTC (Θηλώδης)</b>	Κυρίως μεταλλάξεις στις BRAF κινάσες και αναδιατάξεις του RET/PTC
<b>FTC (Θυλακιδώδης)</b>	Κυρίως μεταλλάξεις στο RAS ογκογονίδιο και λιγότερο αναδιατάξεις του PAX8/PPARγ
<b>PDC (Χαμηλής Διαφοροποίησης)</b>	Κυρίως μεταλλάξεις στο RAS ογκογονίδιο και BRAF κινάσες και σίγαση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53
<b>ATC(Αναπλαστικό)</b>	Κυρίως μεταλλάξεις στο RAS ογκογονίδιο και BRAF κινάσες και β-catenin και σίγαση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53
<b>MTC (Μυελοειδής)</b>	Μετάλλαξη στο ογκογονίδιο RET (Κυρίως στο οικογενές και λιγότερο στο σποραδικό)



**Εικ. 6** Γονιδιακές διαταραχές και καρκίνος του θυρεοειδούς (πηγή: Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology, 9<sup>η</sup> έκδοση)



### **Γ. Αυτοανοσία:**

Η αυτοάνοση θυροειδίτιδα (θυροειδίτιδα Hashimoto) έχει κατά καιρούς συσχετισθεί με πιθανή προδιάθεση ανάπτυξης θηλώδους καρκινώματος, ωστόσο τα δεδομένα από τη βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενα. Γενικότερα η συνύπαρξη αυτοάνοσης θυροειδίτιδας και διαφοροποιημένου καρκινώματος θυροειδούς κυμαίνεται ανάλογα τη μελέτη από 0.5% έως και 30%. Επίσης, η θυροειδίτιδα Hashimoto έχει συνδεθεί σπάνια με ανάπτυξη Hurthle-cell καρκινωμάτων αλλά επίσης και με λέμφωμα θυροειδούς.

Έχει επίσης αναφερθεί ότι η πρόγνωση των ασθενών με θηλώδες καρκίνωμα σε έδαφος θυροειδίτιδας Hashimoto είναι καλύτερη. Ιστολογικά η αυτοάνοση θυροειδίτιδα διακρίνεται από τη λεμφοκυτταρική διήθηση και την ίνωση του αδένου που πιθανόν να συνεισφέρουν στον καλύτερο περιορισμό των καρκινικών βλαβών και έτσι να οδηγούν σε μικρότερα ποσοστά υποτροπής και μεταστάσεων.<sup>(3)</sup>

### **Δ. Ιωδοπενία**

Το διαφοροποιημένο (θηλώδες και θυλακιώδες) καρκίνωμα εμφανίζει μεγαλύτερη συσχέτιση με τη διαιτητική ένδεια ιωδίου. Ο μηχανισμός έχει να κάνει πιθανόν με το γεγονός ότι λόγω ιωδοπενίας αυξάνει η έκκριση της TSH που ασκεί με τη σειρά της τροφικές δράσεις στο θυροειδή, όπου με το πέρασ των ετών διευκολύνεται ίσως η εξαλλαγή ενός αδενώματος σε καρκίνωμα<sup>(1-3)</sup>.

## **E. Ακτινοβολία**

Αρνητικά επιδρούν κυρίως οι ακτίνες β και γ. Ο θυρεοειδής έχει τη δυνατότητα να συγκεντρώνει ιώδιο και η έκθεση του αδένου σε  $I^{131}$  είναι 1.000 φορές μεγαλύτερη σε σύγκριση με το υπόλοιπο σώμα και ακόμη μεγαλύτερη σε περιπτώσεις ιωδοπενίας. Η ακτινοβολία προκαλεί βλάβες στο DNA, οι οποίες μετά το πέρας ετών οδηγούν σε καρκινογόνες μεταλλάξεις <sup>(17)</sup>.

Η συνάρτηση δόσης ακτινοβολίας και καρκίνου θυρεοειδούς στα παιδιά κάτω των 15 ετών είναι γραμμική. Στις μεγαλύτερες δόσεις η αυξημένη επίπτωση καρκίνου κάμπτεται, λόγω της κυτταροτοξικής επίδρασης της υψηλής ακτινοβολίας και στο θυρεοειδή πέραν των υπολοίπων οργάνων. Χαρακτηριστικό είναι επίσης ότι η επίπτωση του καρκίνου μειώνεται σημαντικά όταν ο ασθενής εκτίθεται στην ακτινοβολία σε μεγαλύτερες ηλικίες. Η λανθάνουσα περίοδος, δηλαδή η περίοδος μεταξύ της έκθεσης στην ακτινοβολία και στην εμφάνιση καρκίνου του θυρεοειδούς κυμαίνεται περίπου στα 20 χρόνια. Στις περιπτώσεις αυτές κατά κύριο λόγο αναπτύσσεται θηλώδες καρκίνωμα, ενώ η συνηθέστερη μοριακή βλάβη που ανιχνεύεται είναι ο ανασυνδυασμός RET/PTC <sup>(17,18)</sup>.

### **ΣΤ. Λοιποί περιβαλλοντικοί παράγοντες:**

Η δυσορμονογένεση, το κάπνισμα και διάφορα χημικά περιβαλλοντικά (όπως για παράδειγμα οι ενδοκρινικοί διαταρράκτες) από διάφορες μελέτες φαίνεται πως επίσης έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση καρκίνου του θυρεοειδούς <sup>(3)</sup>.

## 3.4 Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς

### 3.4.1 Θηλώδες Καρκίνωμα

Το θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς αποτελεί το 80-90% όλων των καρκίνων του θυρεοειδούς. Εμφανίζεται κατά κύριο λόγο μεταξύ της 3<sup>ης</sup> και της 4<sup>ης</sup> δεκαετίας της ζωής με αναλογία στα 2 φύλα 3/1 σε γυναίκες και άντρες αντίστοιχα. Είναι συχνότερος στη λευκή φυλή και αποτελεί τη συνηθέστερη μορφή θυρεοειδικού καρκίνου στα παιδιά.

Κατά τη στιγμή της διάγνωσης η παρουσία διηθημένων λεμφαδένων κυμαίνεται ανάλογα με τη μελέτη από 30 έως 70 % ενώ η παρουσία μεταστάσεων παρατηρείται σε ποσοστό κάτω του 5% <sup>(1)</sup>. Το θηλώδες καρκίνωμα είναι κάποιες φορές πολυεστιακό και συχνά τότε αφορά και στους 2 λοβούς του θυρεοειδούς. Σε ότι αφορά στην πιθανότητα υποτροπής, αυτή είναι συνήθως μικρή και όταν συμβαίνει σχετίζεται με τον ιστολογικό υπότυπο και την παρουσία διηθημένων λεμφαδένων. Ανάλογα με το μέγεθος του αν είναι δηλαδή κάτω του 1 cm αναφέρεται σαν μικροκαρκίνωμα.

Σε ότι αφορά στα ιστολογικά ευρήματα πρόκειται συνήθως για μια ανώμαλη συμπαγή μάζα με σχετικά ασαφή όρια και σπανιότερα με περιγεγραμμένα όρια και παρουσία κάψας. Μικροσκοπικά αναγνωρίζεται θηλώδης, θυλακιώδης ή μικτή θηλώδης-θυλακιώδης αρχιτεκτονική με παρουσία δοκίδων συνδετικού ιστού και συμπαγών κυτταρικών αθροίσεων. Η αναλογία θηλών προς θυλάκια ποικίλλει, συνήθως όμως κυριαρχούν οι θηλές. Τα κύτταρα μπορεί να είναι κυβοειδή, πολυγωνικά ή και

κυλινδρικά. Το κυτταρόπλασμα συνήθως είναι ηωσινόφιλο με πυρήνες συνωστισμένους. Πολλοί πυρήνες έχουν χαρακτηριστική εντομή και ενίοτε διακρίνεται ο εγκολεασμός του κυτταροπλάσματος μέσα στον πυρήνα, τα λεγόμενα ενδοπυρηνικά ψευδοέγκλειστα. Σε ότι αφορά στον τύπο των κυττάρων, αυτά είναι κυρίως πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα καθώς επίσης παρατηρούνται και διηθήσεις από λεμφοκύτταρα. Τα ψαμμώδη σωματίδια που είναι ασβεστοποιημένοι πολυστρωματικοί σχηματισμοί είναι σχεδόν παθολογικά για το θηλώδες καρκίνωμα και απαντώνται συχνά. Διήθηση στα αιμοφόρα αγγεία παρατηρείται σε ποσοστό < 10% στα θηλώδη καρκινώματα ενώ μεγαλύτερη διαγνωστική βαρύτητα έχει αυτό το εύρημα στα θυλακιώδη καρκινώματα. Ανοσοϊστοχημικά αναγνωρίζεται ενίοτε θετική χρώση για galectin-1 , HBME-1 και πρωτεΐνη S100 <sup>(1,3,19)</sup>.

### 3.4.2 Θυλακιώδες Καρκίνωμα

Αποτελεί το 10-15% όλων των τύπων θυρεοειδικού καρκίνου. Εντοπίζεται συνήθως στη λευκή φυλή και συχνότερα στις γυναίκες με αναλογία γυναίκες/άνδρες 3:1. Συνηθέστερα εμφανίζεται στην 5<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής ενώ υπάρχει συσχέτιση με ακτινοβόληση της κεφαλής ή του τραχήλου στην παιδική ηλικία. Η διήθηση των λεμφαδένων κατά τη διάγνωση κυμαίνεται από 15 έως 25%, ενώ η υποτροπή της νόσου είναι σπάνια <sup>(3)</sup>.

Παθολογοανατομικά κυριαρχεί η θυλακιώδης αρχιτεκτονική. Μικροσκοπικά τα καρκινικά κύτταρα είναι πολυγωνικά με στρογγυλούς ή ωοειδείς νορμοχρωματικούς πυρήνες. Διατάσσονται σε διάταξη συμπαγή, δοκιδώδη ή μικροθυλακιώδη, ενώ σπάνια είναι η εμφάνιση σε νορμοθυλακιώδη ή μακροθυλακιώδη μορφή που θυμίζει φυσιολογικό θυρεοειδή ή υπερπλαστικό όζο. Τα κύτταρα αυτά σε αντίθεση με το θηλώδες καρκίνωμα έχουν αρκετές μιτώσεις και διαφορετικού βαθμού κυτταρική ατυπία <sup>(3)</sup>.

Ιστολογικά διακρίνουμε 3 βασικούς τύπους του θυλακιώδους καρκινώματος: το ελάχιστα διηθητικό (με μικρή διήθηση κάψας), το ευρέως διηθητικό θυλακιώδες καρκίνωμα με απουσία κάψας και το εγκαψωμένο με αγγειακή διήθηση <sup>(7)</sup>.

Σύμφωνα με τη νέα ταξινόμηση της ΠΟΥ το 2017 <sup>(7)</sup> μια ξεχωριστή μορφή από το θυλακιώδες καρκίνωμα είναι ο *ογκοκυτταρικός όγκος ή όγκος Hurthle-cell*, όπου το

πλείστον των κυττάρων του είναι οξύφιλα. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται και κύτταρα Hurthle. Είναι μεγάλα, πολυγωνικά κύτταρα, με άφθονο, οξύφιλο κυτταρόπλασμα. Συχνά τα κύτταρα αυτά απαντούν και σε άλλες νόσους του θυρεοειδούς, όπως στη θυρεοειδίτιδα Hashimoto, στη νόσο Graves, και στα Hurthle-cell αδενώματα, από τα οποία διαφοροποιούνται λόγω κυρίως της παρουσίας μιτώσεων, ατυπίας και διήθησης της κάψας, των αγγείων ή και των δύο. Ανοσοϊστοχημικά αναγνωρίζονται θετικοί οι ίδιοι δείκτες με το θηλώδες καρκίνωμα <sup>(1,3,19)</sup>.

### 3.5 Μυελοειδές καρκίνωμα του Θυρεοειδούς και Πρωτοογκογονίδιο RET

Το μυελοειδές καρκίνωμα αποτελεί το 4-10% των θανάτων από καρκίνο του θυρεοειδούς.

Το γονίδιο RET κωδικοποιεί ένα μεμβρανικό υποδοχέα τυροσινικής κινάσης και παίζει γενικότερα ρόλο στην ανάπτυξη, στη διαφοροποίηση και στην επιβίωση των κυττάρων. Στον ενήλικα εκφράζεται σε μια ποικιλία νευρικών κυττάρων, μεταξύ των οποίων και στα παραθυλακιδώδη κύτταρα C του θυρεοειδούς.

Μικροσκοπικά είναι συμπαγείς όγκοι και τυπικά παρουσιάζουν λοβιακή, δοκιδώδη ή διάχυτη ανάπτυξη των νεοπλασματικών κυττάρων. Τα κύτταρα είναι συνήθως πολυγωνικά ή ατρακτόμορφα. Οι πυρήνες είναι υποστρόγγυλοι ή επιμήκεις, ενώ περιστασιακά παρατηρούνται κυτταροπλασματικά ψευδοέγκλειστα όπως και στα θηλώδη καρκινώματα. Εστίες νέκρωσης και αιμορραγίας δεν παρατηρούνται στους μικρούς όγκους, ενώ εναποθέσεις αμυλοειδούς στο στρώμα έχουμε σε ποσοστό περίπου 80%.

Το ανθρώπινο ογκογονίδιο RET βρίσκεται στο χρωμόσωμα 10q11. Ο συνδέτης του πέρα από το βασικό υποδοχέα συνδέεται και με 4 συν-υποδοχείς και μετά την πρόσδεση αυτή ακολουθεί διμερισμός του υποδοχέα, ο οποίος οδηγεί στην ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος που τελικά επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Μεταλλάξεις του RET μπορούν να οδηγήσουν σε νεοπλασία, συνδέοντας το ογκογονίδιο με τους τρεις



υποτύπους του κληρονομήσιμου MTC, αλλά και το 50% του σποραδικού MTC. Η νεοπλασματική δράση ασκείται ενδοκυττάρια μέσω των μονοπατιών RAS και PI3-K <sup>(20)</sup>.

Ο γενετικός έλεγχος έχει πολύ υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα στην αναγνώριση των ατόμων με τις συγκεκριμένες μεταλλάξεις του RET. Οι μεταλλάξεις αυτές μπορούν να ανιχνευθούν σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού αλλά κυρίως στα λευκά αιμοσφαίρια του περιφερικού αίματος στις κληρονομικές μορφές του MTC και μόνο στα κύτταρα-C στις σποραδικές μορφές της νόσου. Έτσι ο γενετικός έλεγχος για το RET ενδείκνυται: α) σε κάθε ασθενή με ιστορικό MTC (κληρονομικό ή σποραδικό), β) σε κάθε ασθενή με ιστορικό MEN-2, γ) σε κάθε ασθενή με υπερπλασία C-κυττάρων, δ) σε ασθενείς με νόσο Hirschprung και τέλος ε) σε άτομα με λειχηνοειδή βλάβη στη ράχη.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται το επίπεδο κινδύνου ανάλογα με το κωδικόνιο του RET που θα βρεθεί η μετάλλαξη (διαχωρισμός σε A, B, C, D σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Θυρεοειδούς ) , το χρόνο που πρέπει να γίνει ο γενετικός έλεγχος , ο 1<sup>ος</sup> υπέρηχος , η 1<sup>η</sup> καλσιτονίνη και τέλος το ενδεχόμενο προφυλακτικό χειρουργείο, **(Πιν.2)** <sup>(20)</sup>.

**Πίνακας 2. Επίπεδο Κινδύνου, διαγνωστικοί και θεραπευτικοί χειρισμοί ανάλογα με το κωδικόνιο RET**

Επίπεδο κινδύνου (A,B,C,D)	Μέτρηση RET	1 <sup>ος</sup> υπέρηχος Θυρεοειδούς	1 <sup>η</sup> μέτρηση καλσιτονίνης στον ορό	Προφυλακτική Θυρεοειδεκτομή
<b>A</b> (μετάλλαξη στο κωδικόνιο 768, 790, 791, 891, 804)	<3.5 έτη	>3.5 έτη	>3.5 έτη	> 5 ετών με λεμφαδενεκτομή σε παρουσία λεμφαδένων
<b>B</b> (μετάλλαξη στο κωδικόνιο 609, 611, 620, 630)	<3.5 έτη	>3.5 έτη	>3.5 έτη	> 5 ετών με λεμφαδενεκτομή σε παρουσία λεμφαδένων.
<b>C</b> (μετάλλαξη στο κωδικόνιο 634)	<3.5 έτη	>3.5 έτη	>3.5 έτη	> 1 έτους με λεμφαδενεκτομή σε παρουσία λεμφαδένων
<b>D</b> (MEN-2B) (μετάλλαξη στο κωδικόνιο 883, 918, 922)	<1έτος	<1έτος	6μηνών	> 1 έτους με λεμφαδενεκτομή σε παρουσία λεμφαδένων

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Σταδιοποίηση κατά TNM**

### **4.1 TNM Διαφοροποιημένου Καρκινώματος Θυρεοειδούς <sup>(19,21)</sup>**

Η παρακάτω σταδιοποίηση στο διαφοροποιημένο καρκίνωμα του θυρεοειδούς (θηλώδη και θυλακιώδη) είναι με το σύστημα TNM (2010 – 7<sup>η</sup> έκδοση AJCC), με βάση το οποίο πραγματοποιήθηκε και η παρούσα μελέτη. Παρατίθεται ωστόσο και το ανανεωμένο TNM που αφορά στην 8<sup>η</sup> έκδοση AJCC (2017).

### **7<sup>η</sup> έκδοση AJCC**

#### **TNM Θηλώδους Καρκινώματος**

##### **ΟΓΚΟΣ (T):**

Tx: Όγκος αγνώστου μεγέθους, αλλά ενδοθυρεοειδικός.

T0: Δεν υπάρχει ένδειξη πρωτοπαθούς όγκου

T1: Όγκος μεγίστης d<2cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

- T1a: Όγκος μεγίστης d<1cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή
- T1b: Όγκος μεγίστης d >1cm και <2cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

T2: Όγκος μεγίστης d>2cm και <4cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

T3: α) Όγκος μεγίστης d>4cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

β) Όγκος κάθε διαμέτρου με μικρή εξωθυρεοειδική επέκταση

T4a: Όγκος κάθε διαμέτρου, με διήθηση της θυρεοειδικής κάψας και επέκταση στους μαλακούς ιστούς, στο λάρυγγα, στην τραχεία, στον οισοφάγο ή στο παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο

T4b: Όγκος κάθε διαμέτρου που διηθεί την προσπονδυλική περιτονία, την καρωτίδα ή τα αγγεία του μεσοθωρακίου

##### **ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ (N):**

Nx: Αδυναμία εκτίμησης περιοχικών λεμφαδένων

N0: Απουσία μεταστάσεων σε περιοχικούς λεμφαδένες

N1: Μεταστάσεις σε περιοχικούς λεμφαδένες

- N1a: Λεμφαδενικές μεταστάσεις στο επίπεδο VI: (προτραχειακοί, παρατραχειακοί, προλαρυγγικοί, Delphian)

- N1b: Λεμφαδενικές μεταστάσεις στα επίπεδα I,II,III,IV,V,VII: (πρακτικά οι αμφοτερόπλευρες και μεσοθωρακικές μεταστάσεις)

##### **ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ (M):**

M0: Απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

M1: Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

## 4.2 TNM Μυελοειδούς Καρκινώματος <sup>(20)</sup>

### 7<sup>η</sup> έκδοση AJCC

#### ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΕΣΤΙΑ (T):

T1: Ενδοθυρεοειδικός όγκος <2cm

T2: Ενδοθυρεοειδικός όγκος >2cm και <4cm

T3: Ενδοθυρεοειδικός όγκος >4cm ή ελάχιστη εξωθυρεοειδική επέκταση

T4a: Όγκος κάθε διαμέτρου που επεκτείνεται ευρέως στον τράχηλο (μαλακοί ιστοί, λάρυγγας, τραχεία, οισοφάγος, παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο)

T4b: Όγκος που διηθεί μεγάλα αγγεία (αγγεία μεσοθωρακίου, καρωτίδα κλπ.)

#### ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ (N):

N1a: Προτραχειακοί, παρατραχειακοί, προλαρυγγικοί / Delphian λεμφαδένες

N1b: Αμφοτερόπλευροι ή αντίπλευροι της βλάβης τραχηλικοί λεμφαδένες ή λεμφαδένες του άνω μεσοθωρακίου

#### ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ (M):

M0: Απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

M1: Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων

## 4.3 TNM Διαφοροποιημένου Καρκινώματος <sup>(21)</sup>

### 8<sup>η</sup> έκδοση AJCC

#### **ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΕΣΤΙΑ (T)**

Tx: Η πρωτοπαθής εστία δεν μπορεί να εκτιμηθεί

T0: Δεν υπάρχει ένδειξη πρωτοπαθούς όγκου

T1: Όγκος μεγίστης διαμέτρου < 2cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

T1a: Όγκος μεγίστης διαμέτρου < 1cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

T1b: Όγκος μεγίστης διαμέτρου >1cm και < 2cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

T2: Όγκος μεγίστης διαμέτρου > 2cm και < 4cm, περιορισμένος στο θυρεοειδή

T3 Όγκος > 4 cm που περιορίζεται στο θυρεοειδή ή με εξωθυρεοειδική επέκταση που περιλαμβάνει μόνο τον στερνοϋοειδή, στερνοθυρεοειδή, ωμοϋοειδή και θυρεοϋοειδή μυ

T3a Όγκος > 4 cm που περιορίζεται στο θυρεοειδή

T3b Οποιοσδήποτε όγκος με εξωθυρεοειδική επέκταση που περιλαμβάνει μόνο τον στερνοϋοειδή, στερνοθυρεοειδή, θυρεοϋοειδή ή ωμοϋοειδή μυ

T4 Εξωθυρεοειδική επέκταση του όγκου σε μεγάλες δομές του τραχήλου

T4a Όγκος ανεξαρτήτου μεγέθους με εξωθυρεοειδική επέκταση που περιλαμβάνει το υποδόριο λίπος ή διηθεί το λάρυγγα, την τραχεία, τον οισοφάγο ή το παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο

T4b Όγκος ανεξαρτήτου μεγέθους που διηθεί την προσπονδυλική περιτονία ή περικλείει την καρωτίδα ή τα αγγεία του μεσοθωρακίου

## **ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ (N)**

Nx Η ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων δεν μπορεί να εκτιμηθεί

N0 Δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις

N0a Ένας ή παραπάνω κυτταρολογικά ή ιστολογικά επιβεβαιωμένοι καλοήθεις λεμφαδένες

N0b Όχι ακτινολογική ή κλινική ένδειξη τοπικής λεμφαδενικής μετάστασης

N1 Μετάσταση στους τοπικούς λεμφαδένες

N1a Μετάσταση στο επίπεδο VI ή VII (προ-παρατραχειακοί, προλαρυγγικοί ή του άνω μεσοθωρακίου) λεμφαδένες, ετερόπλευρα ή αμφοτερόπλευρα

N1b Μετάσταση ετερόπλευρα, αμφοτερόπλευρα ή του αντίπλευρου πλάγιου διαμερίσματος (επίπεδα I,II,III,IV ή V) ή οπισθοφαρυγγικοί λεμφαδένες

## **ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ (M)**

M0 Μη ανεύρεση απομακρυσμένων μεταστάσεων

M1 Ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων

## 4.4 TNM Μυελοειδούς Καρκινώματος <sup>(21)</sup>

### 8<sup>η</sup> έκδοση AJCC

#### **ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΕΣΤΙΑ (T)**

T<sub>x</sub> – T<sub>3</sub> όπως παραπάνω

T<sub>4</sub> Προχωρημένη Νόσος

T<sub>4a</sub> Μετρίως προχωρημένη νόσος. Όγκος ανεξαρτήτου μεγέθους, με εξωθυροειδική επέκταση στον τράχηλο, που περιλαμβάνει τον υποδόριο ιστό, το λάρυγγα, την τραχεία, τον οισοφάγο ή το παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο

T<sub>4b</sub> Πολύ προχωρημένη νόσος. Ο όγκος ανεξάρτητα μεγέθους επεκτείνεται στην προσπονδυλική περιτονία έρχεται σε επαφή με τα μεγάλα αγγεία, περικλείει την καρωτίδα ή τα αγγεία του μεσοθωρακίου

#### **ΛΕΜΦΑΔΕΝΕΣ (N)**

N<sub>x</sub> Η ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων δεν μπορεί να εκτιμηθεί

N<sub>0</sub> Δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις

N<sub>0a</sub> Ένας ή παραπάνω κυτταρολογικά ή ιστολογικά επιβεβαιωμένοι καλοήθεις λεμφαδένες

N<sub>0b</sub> Όχι ακτινολογική ή κλινική ένδειξη τοπικής λεμφαδενικής μετάστασης

N<sub>1</sub> Μετάσταση στους τοπικούς λεμφαδένες

N<sub>1a</sub> Μετάσταση στο επίπεδο VI ή VII (προ-παρατραχειακοί, προλαρυγγικοί ή του άνω μεσοθωρακίου) λεμφαδένες, ετερόπλευρα ή αμφοτερόπλευρα

N<sub>1b</sub> Μετάσταση ετερόπλευρα, αμφοτερόπλευρα ή στο αντίπλευρο πλάγιο τραχηλικό διαμέρισμα (επίπεδα I,II,III,IV ή V) ή οπισθοφαρυγγικοί λεμφαδένες

#### **ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ (M)**

M<sub>0</sub> Μη ανεύρεση απομακρυσμένων μεταστάσεων

M<sub>1</sub> Ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων

#### 4.5 Σταδιοποίηση Καρκίνου Θυρεοειδούς (7<sup>η</sup> έκδοση)

Στον παρακάτω πίνακα (Πιν.3) φαίνεται η σταδιοποίηση του καρκίνου του θυρεοειδούς με βάση την 7η έκδοση κατά AJCC.

Πίνακας 3. Στάδια καρκίνου θυρεοειδούς αδένος 7<sup>η</sup> έκδοση AJCC

<b>ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ</b>			
<b>ΘΗΛΩΔΕΣ ή ΘΥΛΑΚΙΩΔΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ</b>			
<b>Ηλικίες κάτω των 45 ετών</b>			
<b>ΣΤΑΔΙΟ</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>I</b>	<b>Κάθε T</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M 0</b>
<b>II</b>	<b>Κάθε T</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M 1</b>
<b>Ηλικίες άνω των 45 ετών</b>			
<b>I</b>	<b>T 1</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>II</b>	<b>T 2</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>III</b>	<b>T 3</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>IVA</b>	<b>T 1-3</b>	<b>N1a</b>	<b>M0</b>
	<b>T 4a</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
<b>IVB</b>	<b>T 4b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>IVC</b>	<b>Κάθε T</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>
<b>ΜΥΕΛΟΕΙΔΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ</b>			
<b>Όλες οι ηλικίες</b>			
<b>ΣΤΑΔΙΟ</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>I</b>	<b>T 1</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>II</b>	<b>T2,T3</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>III</b>	<b>T1-3</b>	<b>N1a</b>	<b>M0</b>
	<b>T4a</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
	<b>T4a</b>	<b>N1a</b>	<b>M0</b>
	<b>T1</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
<b>IVa</b>	<b>T2</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
	<b>T3</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
	<b>T4a</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
	<b>T4a</b>	<b>N0,N1b</b>	<b>M0</b>
	<b>T1-T4a</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
<b>IVb</b>	<b>T4b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>IVc</b>	<b>Κάθε T</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>



Το αδιαφοροποίητο (αναπλαστικό) καρκίνωμα του θυροειδούς αδένος λόγω της επιθετικότητας που παρουσιάζει, χαρακτηρίζεται σαν στάδιο IV άπαξ της διάγνωσης του <sup>(22)</sup>. Έτσι η σταδιοποίηση του καθορίζεται όπως περιγράφεται παρακάτω στον Πίνακα 4.

**Πίνακας 4. Στάδια αδιαφοροποίητου (αναπλαστικού) καρκινώματος θυροειδούς αδένος**

<b>ΑΝΑΠΛΑΣΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ</b>			
<b>Όλες οι ηλικίες</b>			
<b>ΣΤΑΔΙΟ</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>Iva</b>	<b>T4a</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>IVb</b>	<b>T4b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>IVc</b>	<b>Κάθε T</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>

#### 4.6 Σταδιοποίηση Καρκίνου Θυρεοειδούς (8<sup>η</sup> έκδοση)

Στους παρακάτω πίνακες (Πιν.5,6,7) φαίνεται η σταδιοποίηση του καρκίνου του

θυρεοειδούς με βάση την 8η έκδοση κατά AJCC.

**Πίνακας 5. Στάδια διαφοροποιημένου καρκινώματος θυρεοειδούς αδένου (8<sup>η</sup> έκδοση AJCC)**

<b>ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ (ΘΗΛΩΔΗΣ ΚΑΙ ΘΥΛΑΚΙΩΔΗΣ)</b>			
<b>Ηλικία κατά τη διάγνωση κάτω των 55 ετών</b>			
<b>Στάδιο I</b>	<b>Κάθε T<sub>a</sub></b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο II</b>	<b>Κάθε T<sub>a</sub></b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>
<b>Ηλικία κατά τη διάγνωση μεγαλύτερη ή ίση των 55 ετών</b>			
<b>Στάδιο I</b>	<b>T1</b>	<b>N0/N<sub>x</sub></b>	<b>M0</b>
	<b>T2</b>	<b>N0/N<sub>x</sub></b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο II</b>	<b>T1</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
	<b>T2</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
	<b>T3a/T3b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο III</b>	<b>T4a</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVa</b>	<b>T4b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVb</b>	<b>Κάθε T<sub>a</sub></b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>

**Πίνακας 6. Στάδια μυελοειδούς καρκινώματος θυρεοειδούς αδένου (8<sup>η</sup> έκδοση AJCC)**

<b>ΣΤΑΔΙΑ ΜΥΕΛΟΕΙΔΟΥΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ</b>			
<b>Στάδιο I</b>	<b>T1</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο II</b>	<b>T2</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
	<b>T3</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο III</b>	<b>T1-3</b>	<b>N1a</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVa</b>	<b>T4a</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
	<b>T1-3</b>	<b>N1b</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVb</b>	<b>T4b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVc</b>	<b>Κάθε T<sub>a</sub></b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>

**Πίνακας 7. Στάδια αδιαφοροποίητου (αναπλαστικού) καρκινώματος θυρεοειδούς αδένος (8<sup>η</sup> έκδοση AJCC)**

<b>ΣΤΑΔΙΑ ΑΝΑΠΛΑΣΤΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ</b>			
<b>Στάδιο Iva</b>	<b>T1-T3a</b>	<b>N0/Nx</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVb</b>	<b>T1-T3a</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>
	<b>T3b</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
	<b>T4</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M0</b>
<b>Στάδιο IVc</b>	<b>Κάθε T</b>	<b>Κάθε N</b>	<b>M1</b>

#### **4.7 Διαφορές μεταξύ 7<sup>ης</sup> και 8<sup>ης</sup> σταδιοποίησης κατά AJCC**

Συγκρίνοντας τις 2 σταδιοποιήσεις (2010 και 2017) διαπιστώνουμε τις εξής διαφορές :

- 1) Στη νέα ταξινόμηση η ηλικία του ασθενούς κατά τη διάγνωση αυξήθηκε από τα 45 (7<sup>η</sup> έκδοση) στα 55 έτη (8<sup>η</sup> έκδοση)
- 2) Εάν ο ασθενής είναι κάτω από τα 55 έτη κατά τη διάγνωση, το N1 κατατάσσεται στο στάδιο I. Εάν είναι μεγαλύτερος ή ίσος με τα 55 έτη, το N1 κατατάσσεται στο στάδιο II
- 3) Το T3a είναι μία νέα κατηγορία για θυρεοειδικούς όγκους με διάμετρο πάνω από 4 εκατοστά.
- 4) Το T3b είναι μία νέα κατηγορία για όγκους ανεξαρτήτου μεγέθους, που επεκτείνονται στους 4 τραχηλικούς μύες (στερνοϋοειδή, στερνοθυρεοειδή, θυρεοϋοειδή και ωμοϋοειδή)

5) Στο διαφοροποιημένο καρκίνωμα του θυρεοειδούς η ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων, κατατάσσεται στο στάδιο IVB και όχι στο IVC, ενώ στο αδιαφοροποίητο εξακολουθεί να κατατάσσεται στο στάδιο IVC

6) Οι λεμφαδένες του επιπέδου VII που παλαιότερα κατατάσσονταν ως λεμφαδένες του πλάγιου τραχηλικού διαμερίσματος (N1b), τώρα κατατάσσονται σαν λεμφαδένες του κεντρικού τραχηλικού διαμερίσματος (N1a).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Διάγνωση του Καρκίνου του Θυρεοειδούς**

### **5.1 Γενικά**

Για τη διάγνωση του καρκίνου του θυρεοειδούς ξεκινάμε πάντα από το ιστορικό όπου καταγράφουμε την ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του θυρεοειδούς, την πιθανότητα προηγηθείσας ακτινοβολίας ή κλινικά συμπτώματα όπως π.χ το βράγχος φωνής.

Από την κλινική εξέταση, στοιχεία όπως ο πόνος κατά τη ψηλάφηση, το μέγεθος του όζου και η σκληρότητα του στην ψηλάφηση, ο ρυθμός αύξησής του και η πιθανή παρουσία τραχηλικών λεμφαδένων πρέπει να αξιολογούνται.

### **5.2 Ο ρόλος του εργαστηριακού ελέγχου**

Στα πλαίσια της διερεύνησης ενός όζου πάντα πρέπει να μετριέται η TSH και συνήθως επί διαταραχών αυτής και το ελεύθερο κλάσμα της T4. Τα αντισώματα (anti-Tg και anti-TPO) θα πρέπει επίσης να μετρώνται για την εκτίμηση πιθανής αυτοανοσίας. Σε περίπτωση υπερθυρεοειδισμού (χαμηλών επιπέδων της TSH), θα πρέπει να μετρούνται επιπλέον η T3 και τα TRab ή TSI αντισώματα (ενδεικτικά πιθανότητας νόσου Graves).

Εφόσον η TSH είναι εντός φυσιολογικών ορίων δεν απαιτείται άλλος έλεγχος. Η θυρεοσφαιρίνη αποτελεί πλέον ανακριβή δείκτη εκτίμησης της θυρεοειδικής λειτουργίας στην καθημερινή κλινική πράξη και ο ρόλος της περιορίζεται στην παρακολούθηση του

διαφοροποιημένου καρκίνου, όπου πέραν του χειρουργείου ο ασθενής έχει δεχθεί και συμπληρωματική θεραπεία με  $I^{131}$ .

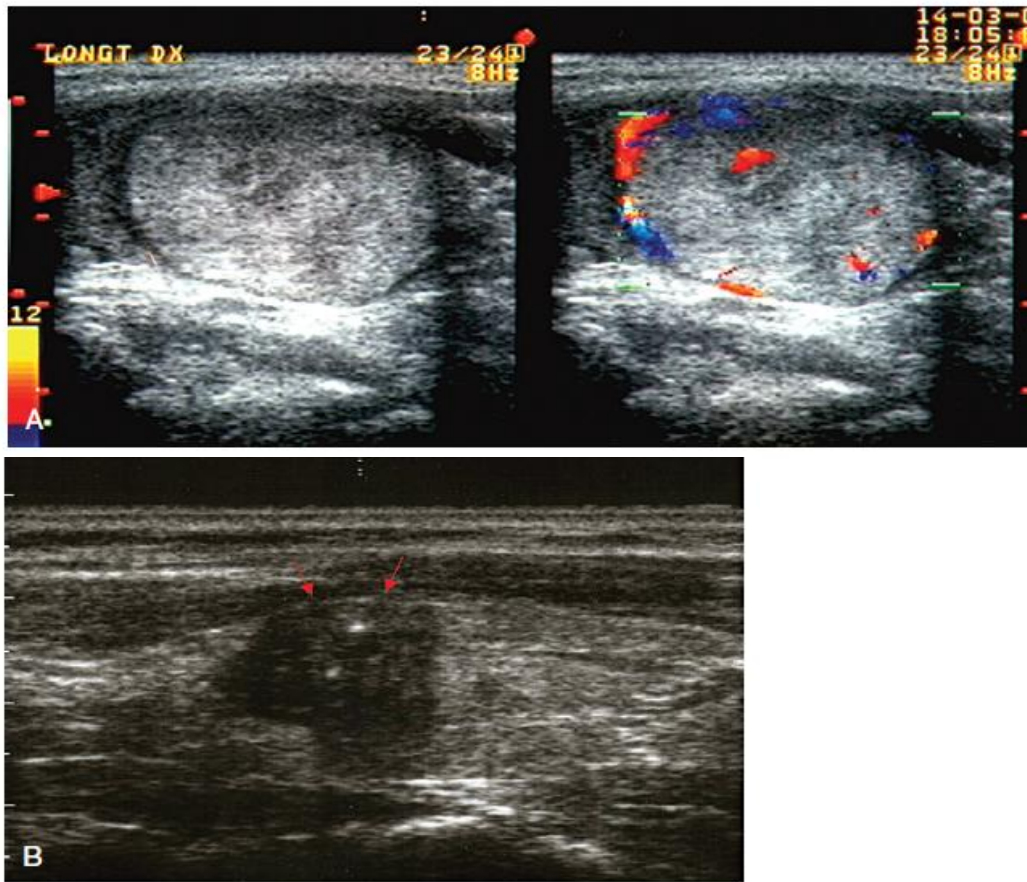
Ο ρόλος της καλσιτονίνης είναι υπαρκτός και συστήνεται να μετράται μια βασική τιμή της στον ορό σε περίπτωση διάγνωσης θυρεοειδικού όζου. Με βασικές τιμές καλσιτονίνης ορού πάνω από 100 pg/ml η παρουσία μυελοειδούς καρκινώματος είναι πιθανή. Οι τιμές μεταξύ 10 και 100 pg/ml θεωρούνται γκριζα ζώνη και χρήζουν επανάληψής τους. Σε περίπτωση επαλήθευσής τους, ο ασθενής πρέπει να υποβάλλεται σε περαιτέρω έλεγχο με δυναμική δοκιμασία έγχυσης γλυκονικού ασβεστίου. Ωστόσο, σε μετρίως αυξημένες βασικές τιμές καλσιτονίνης (περί τα 30pg/ml) θα πρέπει να μπαίνουν στη διαφορική διάγνωση και οι καταστάσεις ψευδούς αύξησης της, όπως είναι για παράδειγμα η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, η νεφρική ανεπάρκεια, ο διαφοροποιημένος καρκίνος του θυρεοειδούς, η οζώδης βρογχοκήλη, η λήψη φαγητού και βέβαια η λήψη PPIs τα οποία και θα πρέπει να διακόπτονται για διάστημα 2-3 εβδομάδων και κατόπιν να επανελέγχεται η βασική τιμή καλσιτονίνης στον ορό <sup>(1,3)</sup>.

### **5.3 Ο ρόλος των υπερήχων**

Σε περίπτωση υποψίας για κακοήθεια από το ιστορικό, την κλινική εικόνα, και τον προηγηθέντα εργαστηριακό έλεγχο είναι απαραίτητη η διενέργεια υπερήχου στο θυρεοειδή. Η υπερηχοτομογραφία στο θυρεοειδή αδένα έχει διακριτική ικανότητα 1-3mm, ευαισθησία περίπου 90% και ειδικότητα 80% στην ανεύρεση όζων. Είναι μέθοδος ασφαλής, φθηνή, εύκολα επαναλαμβανόμενη και χωρίς ακτινοβολία.

Ο υπέρηχος δίνει πληροφορίες για την ανατομία και την αγγείωση του αδένου, για τη φύση των βλαβών του θυρεοειδούς, αλλά δεν μπορεί να διαχωρίσει με ακρίβεια τις καλοήθειες από τις κακοήθειες βλάβες. Ωστόσο η παρουσία υποηχογενούς όζου, με ασαφή όρια, παρουσία μικροαποτιτανώσεων και αυξημένη εσωτερική παρά περιφερική αγγείωση αποτελούν συνηγορητικά κριτήρια κακοήθους όζου, (Εικ.7).

Επίσης ο υπέρηχος ανιχνεύει διηθημένους τραχηλικούς λεμφαδένες, οι οποίοι μπορεί σπανιότερα να είναι και η πρώτη υπερηχογραφική εκδήλωση της νόσου <sup>(23)</sup>.

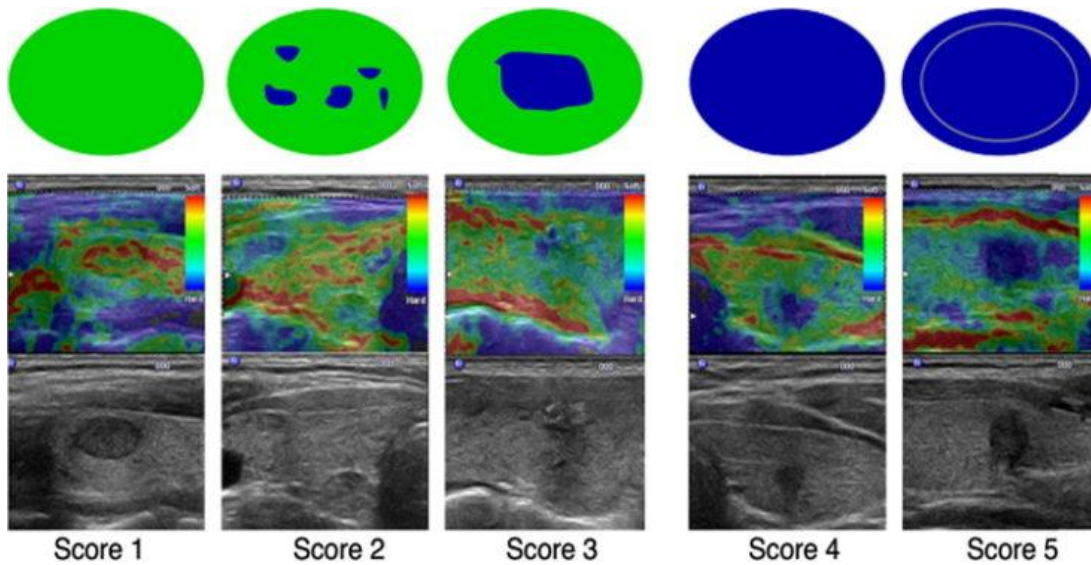


Εικ. 7 Υπερηχογραφική απεικόνιση όζων , (A) καλοήθων και (B) κακοήθων με μικροεπασβεστώσεις (πηγή: Williams textbook of endocrinology 12<sup>η</sup> έκδοση)

Οι λεμφαδένες υπερηχογραφικά ταξινομούνται ανάλογα με την ηχογένεια τους σε υποηχογενείς ή υπερηχογενείς, και ανάλογα με τη σύσταση τους σε συμπαγείς και κυστικούς. Σπανιότερα μπορεί να εμφανίζουν μικροαποτιτανώσεις. Οι φυσιολογικοί λεμφαδένες έχουν σχήμα ελλειπτικό/ατρακτοειδές και εμφανίζουν ομαλά όρια και σε αντίθεση με τους κακοήθεις είναι κυρίως ομοιογενείς και χαρακτηρίζονται από σαφή απεικόνιση της πύλης στη πλειονότητα των περιπτώσεων. Αντίθετα, οι διηθημένοι λεμφαδένες είναι συχνότερα στρογγυλοί, χωρίς σαφή όρια και με δυσδιάκριτη πύλη. Χαρακτηριστικός είναι και ο λόγος των διαμέτρων  $d_{\max}/d_{\min}$  του λεμφαδένα, ο οποίος όσο μειώνεται τόσο αυξάνεται η πιθανότητα κακοήθους διήθησης. Έτσι από τις διάφορες μελέτες φαίνεται πως όταν ο λόγος της μέγιστης προς την ελάχιστη διάμετρο είναι άνω του 3 μειώνεται η πιθανότητα κακοήθειας, ενώ όταν ο λόγος είναι κάτω του 1.5 αυξάνεται η πιθανότητα κακοήθειας <sup>(1)</sup>.

Τελευταία, μεγάλες διαστάσεις στη διάγνωση του καρκίνου του θυρεοειδούς λαμβάνει η τεχνική της ελαστογραφίας, **(Εικ. 8)**. Αυτή η μέθοδος απαιτεί την παρουσία ειδικού λογισμικού και προϋποθέτει ειδικές γνώσεις του εξεταστή. Υπολογίζει το βαθμό συμπίεσης και παραμόρφωσης του ιστού και έτσι ο βαθμός πρόγνωσης με αυτή τη μέθοδο είναι ανεξάρτητος από το μέγεθος του όζου <sup>(24)</sup>.





**Εικ. 8** Εικόνα από ελαστογραφική μελέτη όζων θυρεοειδούς. Η “σκληρότητα” της βλάβης και άρα η πιθανότητα κακοήθειας εκφράζεται χρωματικά (κόκκινο - πράσινο - μπλε) με το μπλε χρώμα να δηλώνει τη μεγαλύτερη σκληρότητα των ιστών (πηγή: *The Thyroid and its diseases. A comprehensive guide for clinicians.*)

#### 5.4 Ο ρόλος της παρακέντησης ( FNA)

Η παρακέντηση των όζων του θυρεοειδούς διά λεπτής βελόνης (FNA) είναι τεχνική με την οποία αναρροφάται υλικό από τις βλάβες του θυρεοειδούς και των λεμφαδένων, με σκοπό να αξιολογηθούν κυρίως η πιθανότητα ένας όζος να είναι καλοήθης ή κακοήθης καθώς και η παρουσία ειδικών βιοδεικτών, χαρακτηριστικών για κάθε καρκίνο (όπως

είναι η galectin-1, galectin-3, HBME-1, κερατίνη, κ.α). Σπανιότερα στο δείγμα από FNA αξιολογούνται τα επίπεδα ορμονών του υλικού (Tg, CT, PTH κ.α.) ή ακόμη πιο σπάνια γίνεται έλεγχος με PCR για παρουσία γονιδιακών μεταλλάξεων (π.χ. BRAF, RET).

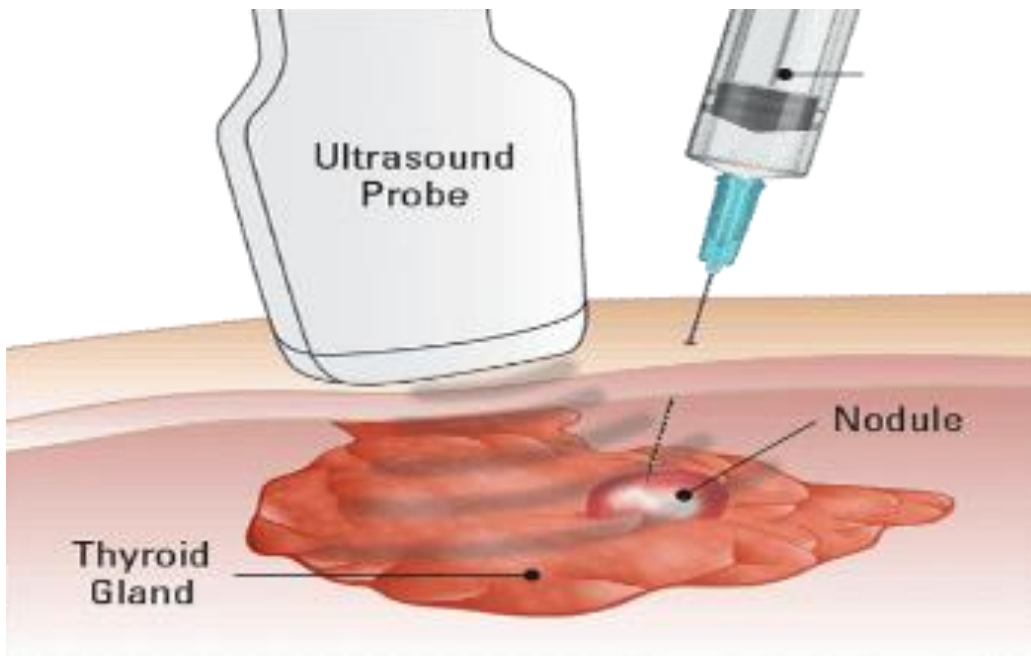
Η FNA παρουσιάζει ευαισθησία 80% και ειδικότητα περίπου 90% και για την καλύτερη διαγνωστική ακρίβεια της εξέτασης προτιμάται να εκτελείται υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση. Κατά την παρακέντηση ο ασθενής πρέπει να είναι κλινήρης με το λαιμό σε ήπια έκταση.

Η FNA έχει ένδειξη να εκτελείται σε κάθε όζο μεγέθους  $\geq 15\text{mm}$ , εκτός εάν συντρέχουν λόγοι που προδιαθέτουν σε αυξημένη υποψία για κακοήθεια όπως:

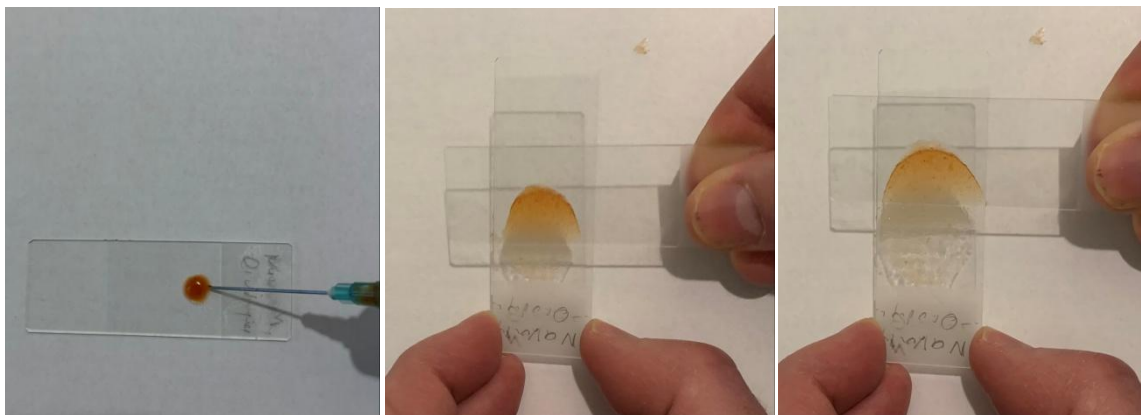
1. Ιστορικό ακτινοβόλησης κεφαλής/τραχήλου κατά την παιδική ηλικία
2. Οικογενειακό ιστορικό μυελοειδούς ή MEN-2 ή Σύνδρομο Gardner ή νόσος Cowden
3. Ακραίες ηλικίες ( $<20$  ή  $>70$  ετών) ή / και άρρεν φύλο
4. Ταχέως αυξανόμενος όζος
5. Συμπαγείς όζοι με σκληρή σύσταση, ανώμαλα όρια ή/και μικροαποτιτανώσεις
6. Παρουσία ύποπτων τραχηλικών λεμφαδένων
7. Ύποπτη κλινική εικόνα όπως βράγχος φωνής που πιθανόν να υποδηλώνει όζο καθηλωμένο στις φωνητικές χορδές

Σε ότι αφορά στη διαδικασία, η χρήση καταρχήν αντισηψίας κρίνεται απαραίτητη. Το μέγεθος της βελόνας πρέπει να είναι 21-25G. Η αναρρόφηση θα πρέπει να διακόπτεται με την εμφάνιση ελάχιστης ποσότητας υλικού στο ρύγχος της βελόνας. Η παρακέντηση του όζου θα πρέπει να γίνει με 2-4 αναρροφήσεις από διαφορετικές πλευρές. Στη συνέχεια η βελόνα πρέπει να αφαιρείται και στο σημείο του νυγμού να ασκείται ήπια

πίεση για λίγα λεπτά. Η επίστρωση γίνεται στις αντικειμενοφόρες πλάκες, οι οποίες και αφήνονται να στεγνώσουν προκειμένου αργότερα να βαφούν με την κατάλληλη χρώση. Τέλος, όταν παρακεντείται μια κύστη, το υγρό πρέπει να φυγοκεντρείται και το ίζημα να αποστέλλεται για κυτταρολογική εξέταση. Μετά το πέρας της διαδικασίας, πραγματοποιείται εκ νέου υπερηχογραφικός έλεγχος για επιβεβαίωση της απουσίας αιματώματος <sup>(25)</sup>, (Εικ. 9 και Εικ. 10).



**Εικ. 9** Σχηματική απεικόνιση μιας παρακέντησης όζου θυρεοειδούς (πηγή: *Thyroid Cancer Canada webpage*)



**Εικ. 10** Επίστρωση του υλικού παρακέντησης σε αντικειμενοφόρες πλάκες (πηγή: Από το προσωπικό αρχείο του συγγραφέα)

Αν και η FNA στις μέρες μας αποτελεί ρουτίνα στον αλγόριθμο διερεύνησης των όζων του θυρεοειδούς, ωστόσο δεν είναι άμοιρη επιπλοκών, πράγμα που εξαρτάται βέβαια και από την εμπειρία του εξεταστή και τέτοιες είναι το ήπιο άλγος, το αιμάτωμα μαλακών μορίων, ο αντανακλαστικός πόνος στο αυτί, η παροδική βραδυκαρδία και σπανιότερα η οξεία φλεγμονή, το απόστημα και ο τραυματισμός της τραχείας.

Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της FNA και την ανάλογη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων χρησιμοποιούμε τα κριτήρια Bethesda. Έτσι διαμορφώνονται 6 διαβαθμίσεις<sup>(26)</sup>.

## **1. Ανεπαρκές δείγμα**

Αυτό σημαίνει ότι το υλικό που λήφθηκε με την παρακέντηση δεν περιέχει επαρκή αριθμό καλοήθων κυττάρων για να τεθεί η διάγνωση με ασφάλεια. Αυτό σχετίζεται είτε με την εμπειρία του ιατρού είτε με τη σύσταση του όζου. Η πιθανότητα καρκίνου σε αυτήν την περίπτωση είναι 1-4%. Εάν το δείγμα είναι ανεπαρκές, η FNA πρέπει να επαναλαμβάνεται.

## **2. Καλοήθεια**

Σε αυτήν την περίπτωση, η πιθανότητα να υπάρχει καρκίνος και να μην ανιχνευτεί με την παρακέντηση (ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα) είναι πρακτικά λιγότερο από 3%. Παρόλα ταύτα οι ασθενείς πρέπει να παρακολουθούνται με υπέρηχο και κλινική εξέταση κάθε 6-18 μήνες.

## **3. Ατυπία απροσδιόριστης σημασίας (AUS) ή Θυλακιώδης βλάβη απροσδιόριστης σημασίας (FLUS)**

Εδώ το ποσοστό κακοήθειας αυξάνει σε ποσοστό περίπου 5-15% και συστήνεται και εδώ επανάληψη της FNA.

#### **4. Θυλακιώδες νεόπλασμα ή ύποπτο για θυλακιώδες νεόπλασμα (hurtle cell type?)**

Εδώ το ποσοστό κακοήθειας είναι περίπου 15-30%. Χρήζει χειρουργικής παρέμβασης (πιθανόν λοβεκτομή) και θα πρέπει να διερευνάται και η πιθανότητα να είναι εκ hurtle κυττάρων.

Στη κατηγορία αυτή έχουν θέση και οριακοί όγκοι όπως η θυλακιώδης ποικιλία του θηλώδους (FVPTC) ή το μη διηθητικό θυλακιώδες νεόπλασμα με πυρηνικά χαρακτηριστικά θηλώδους (NIFTP), όπου εδώ σημαντικό ρόλο παίζει και ο μοριακός έλεγχος που λειτουργεί κυρίως συνηγορητικά για τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων και την τελική αξιολόγηση.

#### **5. Ύποπτο για κακοήθεια**

Εδώ το ποσοστό κακοήθειας ανέρχεται σε περίπου 60-75%. Χρήζει χειρουργικής παρέμβασης (ολική θυρεοειδεκτομή).

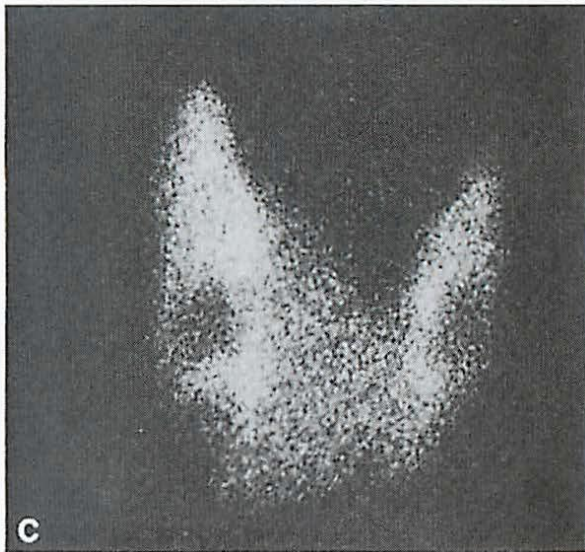
Και σε αυτή την κατηγορία μπορεί να «κρύβονται» οι όγκοι FVPTC και NIFTP.

#### **6. Κακοήθεια**

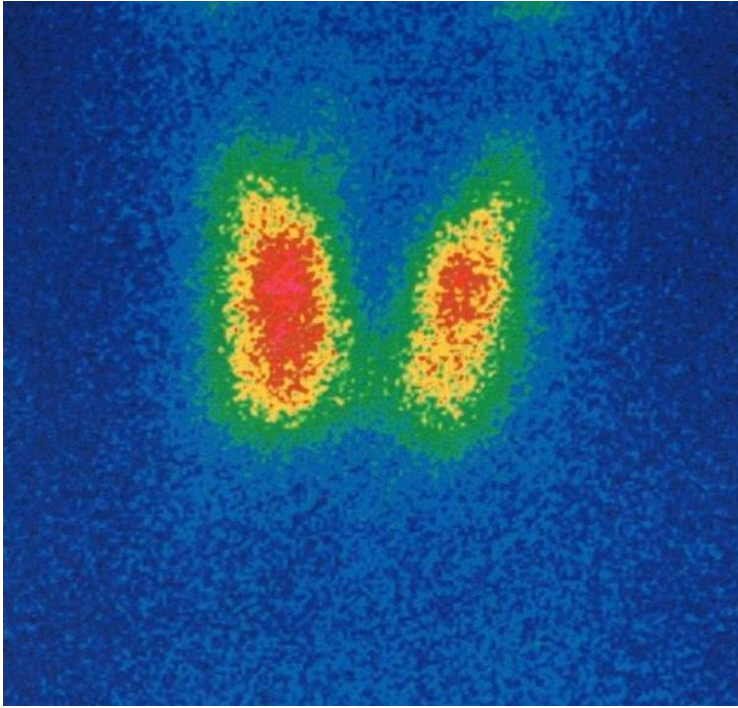
Εδώ το ποσοστό κακοήθειας είναι σχεδόν βέβαιο μιας και αγγίζει το 97-99%. Χρήζει χειρουργικής παρέμβασης (ολική θυρεοειδεκτομή). Εδώ η πιθανότητα να είναι NIFTP είναι 3-4% περίπου.

## 5.5 Ο ρόλος του σπινθηρογράφηματος

Το σπινθηρογράφημα μπορεί να γίνει με  $^{99}\text{Tc}$ , (**Εικ. 11**), που είναι πιο φθινό και ευκολότερα διαθέσιμο. Στην περίπτωση αυτή πραγματοποιείται ταχύτερη εξέταση με λιγότερη ακτινοβολία αλλά και περισσότερα ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη οργανοποίησης του τεχνήτιου (μη ενσωμάτωσή του στις θυρεοειδικές ορμόνες). Από την άλλη το σπινθηρογράφημα με  $\text{I}^{123}$ , (**Εικ. 12**), είναι ακριβότερο, λιγότερο διαθέσιμο, η εξέταση καθυστερεί κατά 24 ώρες και έχει περισσότερη ακτινοβολία.



**Εικ. 11** Σπινθηρογράφημα θυρεοειδούς αδένος με  $^{99}\text{Tc}$  (πηγή: *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, 9<sup>η</sup> έκδοση)



**Εικ. 12 Σπινθηρογράφημα θυρεοειδούς αδένου με  $I^{131}$  (πηγή: *eclass.uth.gr*)**

Ως τεχνική το σπινθηρογράφημα χρησιμεύει στην εκτίμηση της λειτουργικότητας του όζου, χωρίς να δίνει περαιτέρω πληροφορίες, καθώς δε διακρίνει τις καλοήθειες από τις κακοήθειες βλάβες <sup>(27)</sup>.

Γενικότερα, το σπινθηρογράφημα ενδείκνυται α) στην ανίχνευση των μεταστάσεων ή υποτροπών μετά από θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο, β) σε πολυοζώδεις / καταδύομενες βρογχοκήλες, ακόμη και χωρίς κατασταλμένη TSH, για τον καθορισμό ψυχρών ή θερμών όζων προς FNA (κυρίως παλαιότερα όπου δεν υπήρχε η ευρεία χρήση των υπερήχων) γ) σε έκτοπο θυρεοειδικό ιστό, και δ) σε υπερθυρεοειδισμό για τη διάκριση περιπτώσεων αυξημένης πρόσληψης (π.χ τοξικό αδένωμα, νόσος Graves) ή χαμηλής πρόσληψης (π.χ υποξεία θυρεοειδίτιδα de Quervain, σιωπηλή θυρεοειδίτιδα) <sup>(1)</sup>.



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. Αντιμετώπιση του Καρκίνου του Θυρεοειδούς**

### **6.1 Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς**

Εφόσον η FNA είναι θετική ή ύποπτη για διαφοροποιημένο θυρεοειδικό καρκίνωμα προτιμάται η ολική ή σχεδόν ολική θυρεοειδεκτομή με ανάλογο λεμφαδενικό καθαρισμό.

Σε ότι αφορά στις λεμφαδενικές μεταστάσεις αυτές είναι συχνές, καθώς εμφανίζονται σε σημαντικό ποσοστό του διαφοροποιημένου καρκινώματος. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η λεπτομερής προεγχειρητική υπερηχογραφική απεικόνιση/χαρτογράφηση των διαμερισμάτων του τραχήλου μιας και η ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων συνοδεύεται από αυξημένο κίνδυνο τοπικών υποτροπών ή/και απομακρυσμένων μεταστάσεων.

Η επιλογή του ablation με  $I^{131}$  έχει συγκεκριμένες ενδείξεις και πιο συγκεκριμένα γίνεται :

- 1) Σε επέκταση του όγκου πέραν της θυρεοειδικής κοίτης
- 2) Σε μέγεθος όγκου >4 cm
- 3) Σε μέγεθος 1-4 cm περιορισμένο στο θυρεοειδή που όμως υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις ή άλλοι αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες, όπως για παράδειγμα ο επιθετικός ιστολογικός τύπος.

Το ablation με  $I^{131}$  δε συστήνεται σε μονοεστιακό μέγιστης διαμέτρου κάτω του 1 cm καρκίνο χωρίς παράγοντες κινδύνου ή σε πολυεστιακό όταν όλες οι εστίες είναι κάτω από 1 cm και δεν συνοδεύονται από χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου <sup>(28)</sup>.

### **6.1.1. Ομάδες κινδύνου των ασθενών με Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς**

Μετά το χειρουργείο ακολουθεί σταδιοποίηση της νόσου με βάση τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Θυρεοειδούς (ATA 2015) . Σκοπός της σταδιοποίησης είναι να καταταχθεί ο ασθενής σε μία από τις τρεις ομάδες κινδύνου που αφορούν στην πρόγνωση και έκβαση της νόσου, προκειμένου να σχεδιαστεί όσο το δυνατόν καλύτερα η περαιτέρω αντιμετώπιση και παρακολούθηση του αρρώστου <sup>(19)</sup>.

Έτσι ένας ασθενής θεωρείται :

#### **A. Χαμηλού κινδύνου όταν φέρει :**

1. Απουσία τραχηλικών ή απομακρυσμένων μεταστάσεων
2. Αφαίρεση ολόκληρου του όγκου
3. Απουσία διήθησης περιθυρεοειδικών στοιχείων και αγγείων
4. Μη-επιθετικός ιστολογικός υπότυπος (πχ θυλακιώδες πρότυπο ανάπτυξης)
5. Απουσία εξωθυρεοειδικής πρόσληψης στο πρώτο μεταθεραπευτικό ολόσωμο σπινθηρογράφημα

6. Κλινικά N0 ή N1 με 5 ή λιγότερες μικρομεταστάσεις (<0.2 cm στη μεγαλύτερη διάμετρο)
7. Ενδοθυρεοειδικό εγκαψωμένο (θυλακιώδους ποικιλίας), θηλώδες καρκίνωμα
8. Ενδοθυρεοειδικό καλής διαφοροποίησης θυλακιώδες θυρεοειδικό καρκίνωμα με διήθηση κάψας και απουσία ή λιγότερες από 4 εστίες αγγειακής διήθησης
9. Ενδοθυρεοειδικό, θηλώδες μικροκαρκίνωμα, μονοεστιακό ή πολυεστιακό με παρουσία της V600E BRAF μετάλλαξης (εάν είναι γνωστή).

**B. Ενδιάμεσου κινδύνου όταν φέρει :**

1. Περιθυρεοειδική διήθηση σε μικροσκοπικό επίπεδο / Διήθηση αγγείων
2. Έγινε ατελής αφαίρεση του όγκου
3. Μεταστάσεις σε τραχηλικούς λεμφαδένες
4. Εξωθυρεοειδική πρόσληψη στο πρώτο μεταθεραπευτικό ολόσωμο σπινθηρογράφημα
5. Ο όγκος είναι ιστολογικά επιθετικού τύπου (πχ ποικιλία υψηλών κυττάρων, νησιδιακό)
6. Κλινικά N1 ή περισσότεροι από 5 παθολογικοί N1 στους οποίους η μεγαλύτερη διάμετρος είναι μικρότερη των 3 cm
7. Πολυεστιακό μικροθηλώδες καρκίνωμα, με εξωθυρεοειδική επέκταση με παρουσία της V600E BRAF μετάλλαξης (εάν είναι γνωστή) και
8. Θηλώδες ενδοθυρεοειδικό καρκίνωμα 1-4cm , με παρουσία της V600E BRAF μετάλλαξης (εάν είναι γνωστή).

### **Γ. Υψηλού κινδύνου όταν φέρει:**

1. Περιθυροειδική διήθηση σε μακροσκοπικό επίπεδο
2. Ατελής χειρουργική αφαίρεση του όγκου
3. Παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων
4. Μετεγχειρητικά επίπεδα θυρεοσφαιρίνης ενδεικτικά απομακρυσμένων μεταστάσεων
5. Παθολογικοί N1 με οποιονδήποτε από αυτούς μεγαλύτερο ή ίσο με 3 cm σε μέγιστη διάμετρο και
6. Θυλακιάδες καρκίνωμα με εκτεταμένη αγγειακή διήθηση (> 4 εστίες αγγειακής διήθησης) .

## 6.1.2 Άλλες Θεραπείες

### 1) Εξωτερική ακτινοβολία:

Έχει ένδειξη σε περιπτώσεις ασθενών άνω των 45 ετών με εκτεταμένη εξωθυροειδική και τραχηλική επέκταση του όγκου που δεν μπορεί να αντιμετωπιστεί χειρουργικά. Επίσης υπό προϋποθέσεις σε μεταστάσεις στον εγκέφαλο και στα οστά ιδίως εάν πρόκειται για μη χειρουργήσιμες μεταστάσεις που επιπλέον προκαλούν πιεστικά φαινόμενα και είναι επώδυνες <sup>(19)</sup>.

### 2) Χημειοθεραπεία:

Δε χρησιμοποιείται στην καθημερινή κλινική πράξη παρά μόνο σε ειδικές περιπτώσεις σε συνδυασμό με εξωτερική ακτινοβολία στον τράχηλο χωρίς όμως σπουδαία αποτελέσματα <sup>(19)</sup>.

### 6.1.3 Μετεγχειρητική Παρακολούθηση

Οι ασθενείς επιβάλλεται μετεγχειρητικά να παρακολουθούνται δια βίου καθώς η νόσος μπορεί να υποτροπιάσει και να παρουσιάσει μεταστάσεις σε τοπικούς ή απομακρυσμένους ιστούς. Η κλινική εξέταση με ψηλάφηση του τραχήλου επιβάλλεται να εκτελείται σε όλους τους ασθενείς, ενώ το υπερηχογράφημα τραχήλου χρησιμοποιείται για την ανάδειξη πιθανής τοπικής λεμφαδενικής υποτροπής.

Η θυρεοσφαιρίνη (Tg) αποτελεί τον καλύτερο δείκτη μετεγχειρητικής παρακολούθησης του διαφοροποιημένου καρκινώματος μετά από συνοδευτική χορήγηση ραδιενεργού ιωδίου ( $I^{131}$ ) καθώς έχει μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα για το ενδεχόμενο υποτροπής. Έτσι, επί απουσίας αντιθυρεοσφαιρινικών αντισωμάτων (anti-Tg), οι τιμές Tg κάτω από 0.3 ng/ml μετά από διέγερση (απόσυρση L-T4 ή rh-TSH-thyrogen) συνηγορούν υπέρ ύφεσης της νόσου. Ωστόσο μια τιμή θυρεοσφαιρίνης μεταξύ 2.0 - 10 ng/ml συνηγορεί υπέρ της παρουσίας υπολειμματικής νόσου ή υποτροπής. Όταν οι τιμές της Tg είναι μεταξύ 30-50 ng/ml συνήθως σημαίνουν πιθανόν τοπική υποτροπή, 100-200 ng/ml συνήθως πνευμονικές μεταστάσεις, 500 ng/ml συνήθως μεταστάσεις στον εγκέφαλο ενώ τιμές άνω των 1000 ng/ml συνήθως υποδηλώνουν οστικές μεταστάσεις. Σε αυξημένες τιμές θυρεοσφαιρίνης με αρνητικό υπέρηχο και σπινθηρογράφημα, συνιστάται έλεγχος με  $^{18}F$ FDG PET-Scan. Έτσι, ανάλογα με τα ευρήματα μετά την πρώτη θεραπευτική παρέμβαση ακολουθείται, εφόσον χρειάζεται, είτε εκ νέου θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο ή νέο χειρουργείο σε τοπική υποτροπή ενώ σε περίπτωση απομακρυσμένων μεταστάσεων πιθανή θέση έχει και η εξωτερική ακτινοβολία <sup>(3)</sup>.

Ιδιαίτερα προσοχή ωστόσο χρειάζεται σε όγκους με επιθετικό ιστολογικό υπότυπο, χαμηλής διαφοροποίησης ή αποδιαφοροποιημένους όπου μπορεί να έχουμε χαμηλές τιμές θυρεοσφαιρίνης, παρά την επέκταση του όγκου.

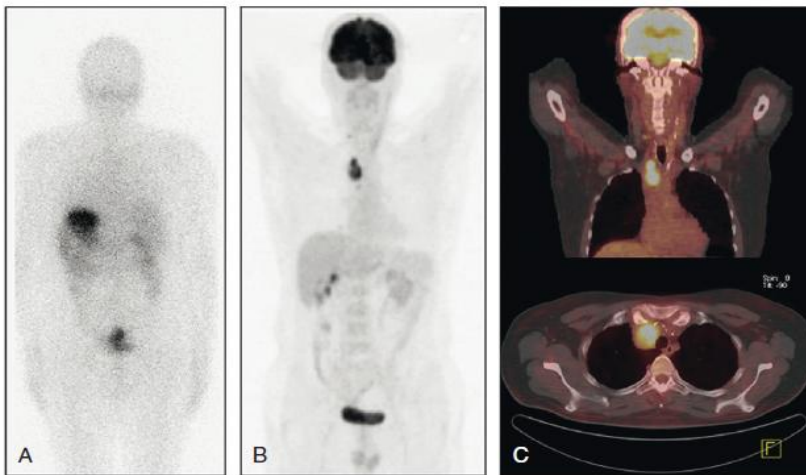
Το κυριότερο πρόβλημα στην αξιολόγηση της θυρεοσφαιρίνης είναι η παρουσία θετικών αντιθυρεοσφαιρινικών αντισωμάτων (anti-Tg). Στους ασθενείς με θετικά anti-Tg, η παρακολούθηση στηρίζεται κυρίως στους τακτικούς υπερηχογραφικούς ελέγχους στη περιοχή της θυρεοειδικής κοίτης και του τραχήλου. Σε ασθενείς με ύφεση της νόσου τα θετικά anti-Tg κανονικά αρνητικοποιούνται μέσα στην επόμενη πενταετία, ενώ η εμμονή τους ή η θετικοποίηση προηγούμενα αρνητικών anti-Tg πιθανόν να υποδηλώνει παραμονή ή υποτροπή της νόσου. Ένα άλλο πρόβλημα στη μέτρηση της Tg είναι το φαινόμενο «hook effect», που είναι κυρίως εμφανές στις ανοσοραδιομετρικές μεθόδους και έχει ως αποτέλεσμα ψευδώς χαμηλές τιμές σε ασθενείς με μεταστατική νόσο και πολύ υψηλές τιμές Tg<sup>(3)</sup>.

Στην παρακολούθηση του διαφοροποιημένου καρκινώματος του θυρεοειδούς θέση έχει και το διαγνωστικό ολόσωμο σπινθηρογράφημα. Με αυτό επιβεβαιώνεται η καταστροφή του υπολείμματος από το ιώδιο, ενώ ταυτόχρονα ανιχνεύονται ενδεχόμενες εξωθυρεοειδικές εντοπίσεις της νόσου. Μετά το πρώτο μεταθεραπευτικό ολόσωμο σπινθηρογράφημα, η εξέταση θα επαναληφθεί σε περιπτώσεις εξωθυρεοειδικής εντόπισης της νόσου (είτε σε τραχηλικές είτε σε απομακρυσμένες μεταστάσεις) και κυρίως στις ομάδες μεσαίου και υψηλού κινδύνου όπως αυτές διαμορφώνονται κατά την μετεγχειρητική επανασταδιοποίηση και διαστρωμάτωση του ασθενούς σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Θυρεοειδούς. Στις περιπτώσεις αυτές το σπινθηρογράφημα

εκτελείται πάντα μετά από διέγερση με Thyrogen ακολουθώντας συγκεκριμένο πρωτόκολλο ή με απόσυρση της L-T4 <sup>(28)</sup>.

Η αξονική και η μαγνητική τομογραφία χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της τοπικής έκτασης της νόσου στον τράχηλο και την ανάδειξη της σχέσης του όγκου με τους γύρω ιστούς (αγγεία, λάρυγγας, τραχεία, οισοφάγος, κλπ.). Επίσης χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των απομακρυσμένων μεταστάσεων (μεσοθωράκιο, πνεύμονες, εγκέφαλος).

Τέλος, η χρήση του PET περιορίζεται συνήθως στις περιπτώσεις υψηλής θυρεοσφαιρίνης με αρνητικά υπερηχογραφικά και σπινθηρογραφικά ευρήματα <sup>(29)</sup> ,  
**(Εικ.13).**



**Εικ. 13** PET-CT scan με μεταστάσεις στο ανώτερο μεσοθωράκιο (πηγή: *Williams textbook of endocrinology 12<sup>η</sup> έκδοση*)



#### 6.1.4 Μεταστατική νόσος στο Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα

Η μεταστατική νόσος στο διαφοροποιημένο καρκίνωμα του θυρεοειδούς χαρακτηρίζεται από γενικά αργή εξέλιξη και στις περισσότερες περιπτώσεις συνδυάζεται με καλή πρόγνωση. Οι λεμφαδενικές μεταστάσεις στον τράχηλο είναι συχνότερες στο θηλώδες, ενώ οι απομακρυσμένες μεταστάσεις είναι πιο σπάνιες.

Σε περίπτωση ανίχνευσης διηθημένων τραχηλικών λεμφαδένων προεγχειρητικά ή διεγχειρητικά συνιστάται πλήρης τραχηλικός λεμφαδενικός καθαρισμός και χορήγηση κατόπιν ραδιενεργού ιωδίου ( $I^{131}$ ). Σε περιοχικούς ή απομακρυσμένους λεμφαδένες που αναγνωρίζονται κατά τη μετεγχειρητική παρακολούθηση χορηγείται επίσης ραδιενεργό ιώδιο εφόσον οι εστίες αυτές προσλαμβάνουν.

Εξωτερική ακτινοβολία για τον όγκο γίνεται σε περίπτωση ορατής εξωθυρεοειδικής επέκτασης διεγχειρητικά και άρα αυξημένης πιθανότητας υπολειμματικής νόσου, σε εγκεφαλικές μεταστάσεις, καθώς και σε όσους η θεραπεία του υπολείμματος με  $I^{131}$  ή με χειρουργείο δεν είναι αποτελεσματικές επιλογές <sup>(19)</sup>.

Σε ότι αφορά στην οστική μετάσταση, αν αυτή προσλαμβάνει ραδιενεργό ιώδιο τότε μπορούμε να το χορηγήσουμε, ενώ στην περίπτωση που δεν προσλαμβάνει είτε χειρουργείται είτε χορηγούμε διφωσφονικά ή ντενοσουμάμπη. Άλλες θεραπευτικές επιλογές είναι το ablation με ραδιοσυχνότητες και ο ενδοαρτηριακός εμβολισμός. Σε

περίπτωση που η μετάσταση είναι σε σημείο που προκαλεί πόνο ή πιεστικά φαινόμενα τότε μπορούμε να χορηγήσουμε εξωτερική ακτινοβολία ή/και κορτικοστεροειδή.

Σε εγκεφαλικές μεταστάσεις, ανεξαρτήτως με το αν προσλαμβάνουν ή όχι ραδιενεργό ιώδιο συστήνεται η εκτομή της βλάβης, ενώ αν αυτή είναι πολυεστιακή, τότε ακολουθεί ολική ακτινοβόληση του εγκεφάλου <sup>(19)</sup>.

## 6.2 Μυελοειδές Καρκίνωμα Θυρεοειδούς

Αρχικά σε ότι αφορά στη χορήγηση θυροξίνης, η τιμή της TSH οφείλει να είναι εντός φυσιολογικών ορίων και όχι κατασταλμένη όπως στο διαφοροποιημένο καρκίνωμα του θυρεοειδούς. Στο μυελοειδές καρκίνωμα η παρακολούθηση μετά το χειρουργείο γίνεται με το doubling time (χρόνος διπλασιασμού) της καλσιτονίνης κυρίως και του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (CEA) δευτερευόντως, ακολουθώντας συγκεκριμένους αλγόριθμους<sup>(1,3,20)</sup>.

Σε ότι αφορά στη μεταστατική νόσο, σε ασθενείς με μικρή απομακρυσμένη εστία που δεν αυξάνει σε διαδοχικούς ελέγχους ή με εστία στον τράχηλο, η σύσταση συνήθως είναι η χειρουργική εξαίρεση της εστίας. Η απεικόνιση του εγκεφάλου χρειάζεται μόνο εάν ο ασθενής έχει κλινικά (νευρολογικά) συμπτώματα. Αν εντοπιστεί βλάβη και είναι περιορισμένη τότε χρήζει στερεοτακτικής ακτινοθεραπείας ή χειρουργείου ενώ εξωτερική ακτινοβολία χορηγείται σε μεγάλου μεγέθους μεταστάσεις<sup>(20)</sup>.

Σε πνευμονικές μεταστάσεις οι ασθενείς με συμπτώματα από το αναπνευστικό εάν εμφανίζουν περιορισμένες μεταστατικές εστίες περιφερικά οι οποίες έχουν διάμετρο κάτω των 40mm και αυξάνονται αργά, προτιμάται η αντιμετώπιση με ablation ραδιοσυχνότητας. Ωστόσο, αν εξελίσσονται γρήγορα ακολουθούνται συστηματικές θεραπείες οι οποίες αφορούν στη χρήση αναστολέων των τυροσινικών κινασών<sup>(30)</sup>.

Σε ότι αφορά στο ήπαρ, οι μεταστάσεις που είναι μεγάλες και εξελίσσονται ταχύτατα χρήζουν θεραπείας η οποία εξαρτάται από την εντόπιση της βλάβης. Έτσι οι βλάβες που

εντοπίζονται στον ένα ή στον άλλο λοβό χρήζουν χειρουργικής εξαίρεσης, ενώ οι βλάβες που είναι κάτω των 30 mm αντιμετωπίζονται καλύτερα με ablation ραδιοσυχνότητας. Τέλος, σε μεγαλύτερες βλάβες χρησιμοποιείται χημειοεμβολισμός.<sup>(20)</sup>

### **6.2.1 Επιπλοκές Μυελοειδούς Καρκινώματος**

Το μυελοειδές καρκίνωμα εμφανίζει σε προχωρημένα στάδια συστηματικές επιπλοκές οι οποίες και τις περισσότερες φορές αποτελούν κακό προγνωστικό σημείο της νόσου.

Αυτές είναι:

a) *Διάρροιες* : Αυτές υφίστανται κάποιες φορές με αντιδιαρροϊκά, και αν δεν υποχωρήσουν συνιστάται χειρουργείο ή χημειοεμβολισμός των ηπατικών μεταστάσεων ή τέλος συστηματικές θεραπείες με αναστολείς των τυροσινικών κινασών.

b) *Σύνδρομο Cushing* : Οι θεραπείες που προσφέρονται σε αυτή την περίπτωση είναι 1) το χειρουργείο ή 2) ο χημειοεμβολισμός του ίδιου του θυρεοειδικού καρκίνου, ή 3) η χορήγηση αντιεπινεφριδιακών φαρμάκων όπως είναι η κετοκοναζόλη, η μιφεπριστόνη και η μιτοτάνη ή τέλος 4) η αμφοτερόπλευρη επινεφριδεκτομή<sup>(20)</sup>.

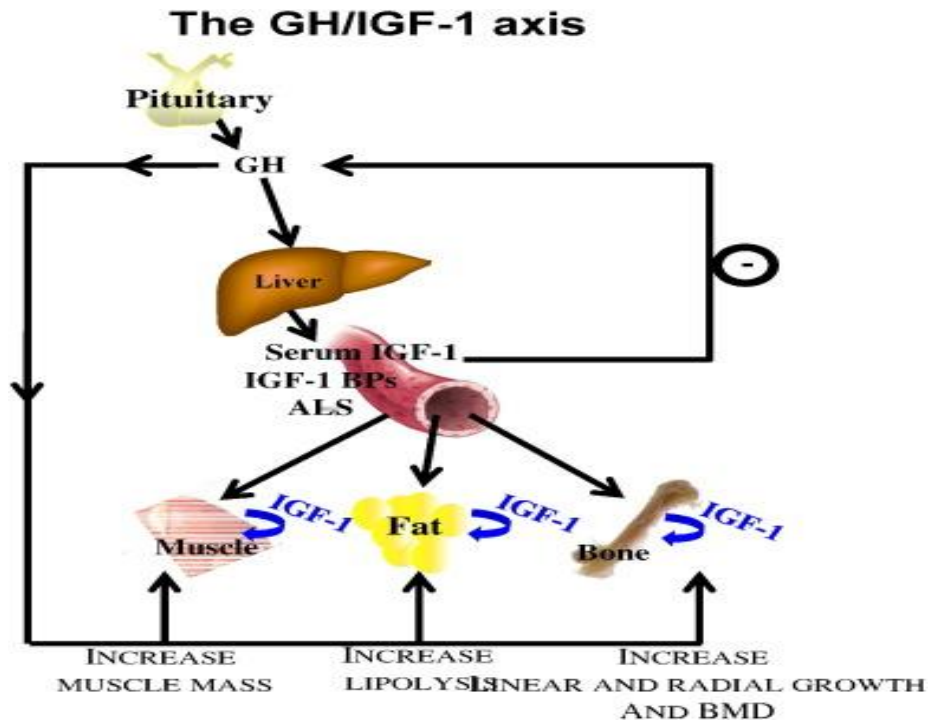
## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. Εισαγωγή**

### **7.1. Ινσουλινομιμητικός Αυξητικός Παράγοντας – Γενικά στοιχεία**

Ο ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας 1 (IGF-1) ρυθμίζει διάφορες πλευρές της βιολογίας του καρκίνου, όπως είναι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η επιβίωση, η διαφοροποίηση και η μετανάστευση και έτσι εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία και την πρόοδο αρκετών καρκίνων στον άνθρωπο <sup>(31-34)</sup>.

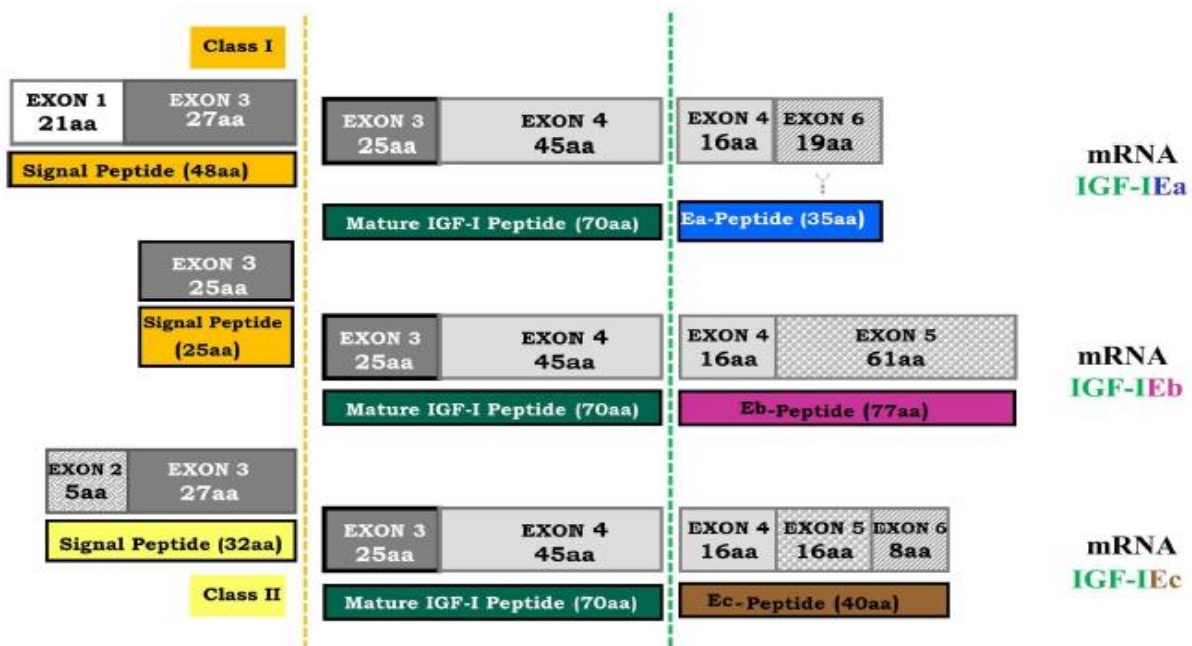
Ο IGF-1 εκκρίνεται από το ήπαρ υπό τον έλεγχο της αυξητικής ορμόνης (GH), αλλά επίσης παράγεται και από άλλα όργανα όπως είναι οι σκελετικοί μύες, οι νεφροί και ο εγκέφαλος <sup>(35,36)</sup>, **(Εικ.14)**. Το σύμπλοκο του IGF αποτελείται από τον IGF-1 και τον IGF-2 οι οποίοι αλληλεπιδρούν με ειδικούς διαμεμβρανικούς υποδοχείς τον IGF-1R και τον IGF-2R. Η σύνδεση των μορίων με τους υποδοχείς γίνεται μέσω των υδατοδιαλυτών δεσμευτικών πρωτεϊνών του IGF, τις IGFBPs. Η οικογένεια αυτών των πρωτεϊνών αποτελείται από 7 μόρια, τις IGFBP-1 έως 7. Επιπλέον, το σύστημα του IGF και οι υποδοχείς του παρουσιάζουν αλληλεπίδραση με τους υποδοχείς της ινσουλίνης A και B (IRA και IRB) <sup>(37)</sup>.



Εικ. 14 Ο IGF-I κάτω από τον έλεγχο της αυξητικής ορμόνης (GH) εκκρίνεται κυρίως από το ήπαρ με μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης και μέσω της κυκλοφορίας δρα σε διάφορα όργανα- στόχους παρουσιάζοντας διαφορετικές βιολογικές δράσεις. Άλλα όργανα παραγωγής του αποτελούν επίσης οι μύες, οι νεφροί και ο εγκέφαλος. (πηγή: *Growth Hormone & IGF Research, Volume 28, June 2016*)

Το γονίδιο του IGF-1 αποτελείται από 6 εξόνια και μπορεί να παράγει πολλαπλά ετερογενή αντίγραφα μέσω εναλλακτικών ματισμάτων κατά τη μεταγραφή του. Πιο συγκεκριμένα, τμήματα των εξονίων 3 και 4 κωδικοποιούν το ώριμο IGF-1 πεπτίδιο, ενώ εναλλακτικά ματίσματα των εξονίων 5 και 6, καταλήγουν σε 3 διαφορετικά IGF-1 αντίγραφα, τα IGF-1Ea, IGF-1Eb, και IGF-1Ec, που κωδικοποιούν τις αντίστοιχες IGF-1 πρωτεϊνικές ισομορφές <sup>(36)</sup>, (Εικ.15).

Το ώριμο IGF-1 πεπτίδιο αντιπροσωπεύει το κοινό βιοενεργό προϊόν όλων των IGF-1 ισομορφών <sup>(36)</sup> (Εικ.15) και πολλαπλές μελέτες έδειξαν ότι το πεπτίδιο αυτό εμπλέκεται στην επιβίωση του κυττάρου και στην απόπτωση, όπως επίσης και στη διαδικασία του ανεξέλεγκτου κυτταρικού πολλαπλασιασμού, που γενικά χαρακτηρίζει την ανάπτυξη του καρκίνου <sup>(34,38-42)</sup>. Αυτές οι λειτουργίες του IGF-1 φαίνεται να επηρεάζουν τους διάφορους τύπους των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων, όπως τα κύτταρα του προστάτη, του μαστού και του οστεοσαρκώματος <sup>(32,36,38,43)</sup>, ενώ ο IGF-1 έχει επίσης αποδειχθεί ότι συνεισφέρει στη νεοαγγείωση <sup>(44)</sup>, στην επιθετικότητα του όγκου και στη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων <sup>(45)</sup>.



Εικ. 15 Το γονίδιο του IGF-1 αποτελείται από 6 εξόνια και μέσω εναλλακτικού ματίσματος των εξονίων 5 και 6 μπορεί να προκύψουν διαφορετικά αντίγραφα όπως είναι το Ea, το Eb και το Ec, που κωδικοποιούν τις αντίστοιχες πρωτεϊνικές ισομορφές. Το ώριμο (mature) IGF-1 που αποτελείται από τα εξόνια 3 και 4 αποτελεί το κοινό βιοενεργό προϊόν (πηγή: Anastassios Philippou et al Front Endocrinol (Lausanne)2013 Mar)



Είναι ενδιαφέρον ότι υπάρχει ένας αυξανόμενος όγκος μελετών που επισημαίνουν μία διακριτή έκφραση των σχετιζόμενων με τον IGF-1 ισομορφών στην παθοφυσιολογία διαφόρων καρκινικών και μη μοντέλων τόσο in vitro όσο και in vivo <sup>(31,34-36,46-51)</sup>. Παρότι η βιολογική σημασία των ισομορφών του IGF-1 δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητή, η διαφορετική τους ρυθμιστική δράση στην παθοφυσιολογία των διαφόρων καρκίνων ίσως υποδηλώνει το διακριτό βιολογικό ρόλο του ώριμου IGF-1, πιθανόν μέσω των Ea, Eb και Ec πεπτιδίων, που παράγονται από τη μέτα-μεταφραστική διάσπαση των IGF-1 ισομορφών (προπεπτίδια) <sup>(41,46,50,52-57)</sup>. Συγκεκριμένα, η ισομορφή IGF-1Ec παράγει ένα βιοενεργό Ec πεπτίδιο, όπου η ογκογόνος δράση του φαίνεται να μεσολαβείται μέσω ενός ανεξάρτητου μηχανισμού από τον IGF-1 υποδοχέα <sup>(41,46,50,53,54,58,59)</sup>.

## 7.2 Σκοπός της Μελέτης

Η έκφραση του IGF-1 έχει ήδη αναφερθεί σε σειρές ανθρώπινων θυρεοειδικών θυλακιωδών κυττάρων *in vitro* (primary culture) <sup>(60)</sup>. Παράλληλα, ανοσοϊστοχημικοί δείκτες όπως ο IGF-1, ο IGF-1R και ο VEGF έχουν βρεθεί αυξημένοι σε θυρεοειδικούς ιστούς σκύλων με διαφοροποιημένο καρκίνωμα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες <sup>(61)</sup>. Τέλος, σε μία πρόσφατη κλινική μελέτη βρέθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στα κυκλοφορούντα επίπεδα του IGF-1 στον ορό του αίματος και στην ανάπτυξη διαφοροποιημένου καρκινώματος του θυρεοειδούς <sup>(62)</sup>, ενώ ταυτόχρονα είναι γνωστός από πολλαπλές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία ο αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης θυρεοειδικού καρκίνου σε ασθενείς με ακρομεγαλία <sup>(63)</sup>.

Παρόλα ταύτα μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν μελέτες που να διερευνούν την έκφραση των διαφορετικών ισομορφών του IGF-1 στον καρκίνο του θυρεοειδούς. Δεδομένου του πιθανού διακριτού βιολογικού ρόλου ειδικά της IGF-1Ec ισομορφής και της μεταμεταφραστικής παραγωγής του Ec πεπτιδίου σε διάφορους καρκίνους <sup>(31,50,58,64)</sup>, ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνήσει την πιθανότητα έκφρασης του IGF-1Ec στον καρκίνο του θυρεοειδούς και να συσχετίσει την ενδεχόμενη έκφραση του με κάποιο συγκεκριμένο καρκίνο του θυρεοειδούς όπως αυτός εκφράζεται μέσω του βαθμού διαφοροποίησης του.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. Εργαλεία και Μέθοδοι**

### **8.1 Ηθική Έγκριση**

Μία αναδρομική επιλογή των δειγμάτων διαγνωστικών βιοψιών θυρεοειδούς ιστού πραγματοποιήθηκε στο Παθολογοανατομικό Τμήμα του «Λαϊκού» Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών και η έρευνα αυτή εγκρίθηκε από την επιτροπή δεοντολογίας του νοσοκομείου ενώ όλες οι πειραματικές διαδικασίες ήταν σύμφωνες με τη Συνθήκη του Ελσίνκι.

### **8.2 Ασθενείς**

Δείγματα θυρεοειδικού ιστού, ιστολογικά επιβεβαιωμένα για θυρεοειδικό καρκίνο σταθεροποιημένα σε φορμαλδεΰδη και παραφίνη, προερχόμενα από 92 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική ή μερική θυρεοειδεκτομή την τελευταία δεκαετία, επιλέχθηκαν αναδρομικά από τα αρχεία του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του «Λαϊκού» Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αθηνών. Οι ασθενείς ήταν ηλικίας μεταξύ 13 και 76 ετών. Ένα αντίγραφο του επίσημου παθολογοανατομικού πορίσματος δόθηκε από πιστοποιημένο παθολογοανατόμο που κρατούσε αρχεία για όλες τις περιπτώσεις, ενώ όλα τα δείγματα των ιστών επαναξιολογήθηκαν και επιβεβαιώθηκαν και από δεύτερο παθολογοανατόμο.

### 8.3 Κριτήρια Επιθετικότητας ενός Θηλώδους Καρκινώματος

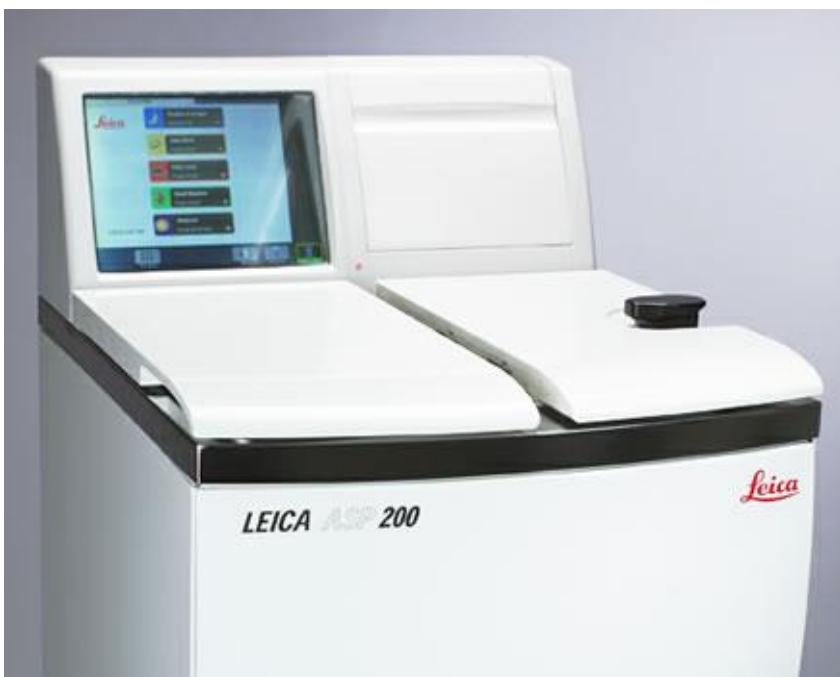
Βασιζόμενοι στα παθολογοανατομικά πορίσματα, πληροφορίες καταγράφονταν και αναλύονταν όσον αφορά στο κακόηθες δυναμικό του όγκου όπως αυτό εκφράζεται από το στάδιο της νόσου κατά TNM, τον ιστολογικό υπότυπο, τις τοπικές λεμφαδενικές μεταστάσεις και την πιθανή μυϊκή και αγγειακή διήθηση ή διήθηση της κάψας του όγκου. Ο καθορισμός σε επιθετικό ή μη επιθετικό αφορούσε τον κίνδυνο υποτροπής και στηρίχθηκε στην επανασταδιοποίηση και διαστρωμάτωση του κινδύνου υποτροπής ενός θηλώδους καρκινώματος όπως αυτός καθορίζεται από τη Αμερικανική Εταιρεία Θυρεοειδούς (ATA) <sup>(19)</sup>. Έτσι σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της ATA του 2015, οι ασθενείς διαχωρίζονται σε 3 κατηγορίες μετά την πρώτη θεραπευτική τους παρέμβαση ήτοι σε χαμηλού, μετρίου και σοβαρού κινδύνου υποτροπής (βλέπε σελ. 90-92). Στην παρούσα μελέτη σαν μη επιθετικός θεωρήθηκε ένας καρκίνος που με βάση την ιστολογική έκθεση κατηγοριοποιούνταν στην ομάδα του χαμηλού κινδύνου υποτροπής, ενώ σαν επιθετικός όταν κατηγοριοποιούνταν στην ομάδα του υψηλού κινδύνου υποτροπής. Τα δείγματα που κατατασσόταν σαν ενδιάμεσου κινδύνου ομαδοποιούταν στη μια ή στην άλλη ομάδα κατά περίπτωση ανάλογα με τα κριτήρια που πληρούσαν. Έτσι λχ αν ένας όγκος ήταν ποικιλίας εκ κυλινδρικών κυττάρων, εμφάνιζε ήπια περιθυρεοειδική διήθηση και είχε διηθήσει 2-3 περιοχικούς λεμφαδένες κατατασσόταν σαν μεσαίου κινδύνου υποτροπής, ωστόσο θεωρούνταν μη επιθετικός. Σε αντίθεση ένας όγκος με επιθετικό ιστολογικό υπότυπο (πχ νησιδιακό) με ατελή εξαίρεση του όγκου σε μικροσκοπικό επίπεδο, διήθηση αγγείων και 7-8 περιοχικών λεμφαδένων που και πάλι σύμφωνα με την ATA ανήκει στην κατηγορία του μεσαίου κινδύνου υποτροπής,

κατατασσόταν στην κατηγορία των επιθετικών όγκων. Τα κριτήρια διαστρωμάτωσης του κινδύνου υποτροπής που αφορούσαν στο ποσό πρόσληψης ραδιενεργού ιωδίου στο πρώτο μεταθεραπευτικό σπινθηρογράφημα και στη μέτρηση θυρεοσφαιρίνης σε μετεγχειρητικούς ελέγχους (βλέπε σελ. 90-92), δεν προσμετρήθηκαν διότι δεν ήταν γνωστά.

#### **8.4 Ανοσοϊστοχημική Ανάλυση**

Παρασκευάστηκαν δείγματα θυρεοειδικού ιστού που είχαν ενσωματωθεί σε παραφίνη και το αυτοματοποιημένο σύστημα Bondmax (Leica Microsystems, New Castle, Newcastle Upon Tyne, UK) χρησιμοποιήθηκε για την ανοσοϊστοχημική χρώση των δειγμάτων, (**Εικ. 16**). Αυτά επώαστηκαν με ειδικό αντι- ανθρώπινο IGF-1Ec αντίσωμα<sup>(65)</sup> σε διάλυση 1:1000 σε PBS<sup>(53)</sup>. Δευτερεύον βιοτινυλιωμένο αντίσωμα αιγός αντικουνελίου IgG (Dako Real EnVision, Glostrup, Denmark) χρησιμοποιήθηκε και τα τμήματα του ιστού ελέγχθηκαν με το μικροσκόπιο φωτός. Τμήματα βιοψίας καρκίνου προστάτη χρησιμοποιήθηκαν ως θετικός μάρτυρας<sup>(50)</sup>, ενώ ο έλεγχος για την ειδικότητα των αντιδράσεων έγινε με ανοσοϊστοχημική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε αντικαθιστώντας το πρωταρχικό αντι-IGF-1Ec αντίσωμα με διαλυτό αντίσωμα (PBS) πλην του πρωταρχικού αντισώματος (αρνητικός μάρτυρας). Κάθε τμήμα εκτιμήθηκε ανεξάρτητα και τυφλά από δύο εκπαιδευμένους παθολογοανατόμους, χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο φωτός ενδιάμεσης ισχύος. Ένα αντιπροσωπευτικό τμήμα του όγκου εκτιμήθηκε κατά περίπτωση. Η έκφραση του IGF-1Ec αξιολογήθηκε και

κατηγοριοποιήθηκε ως είτε βαθμού (grade) 1 , βαθμού (grade) 2 ή βαθμού (grade) 3 σύμφωνα τόσο με την ένταση όσο και την κατανομή της χρώσης. Πιο συγκεκριμένα μια χρώση θεωρούταν αρνητική όταν η έκφραση του βιοδείκτη αντιπροσώπευε < 5% ασθενούς έντασης, ενώ grade 1 όταν υπήρχε έκφραση <5% μέτριας ή ισχυρής έντασης ή <50% ασθενούς έντασης, grade 2 σε έκφραση 5-50% μέτριας ή ισχυρής έντασης και τέλος grade 3 όταν η έκφραση ήταν > 50% μέτριας ή ισχυρής έντασης.



**Εικ. 16 Το αυτοματοποιημένο σύστημα Bondmax της Leica Microsystems που χρησιμοποιήθηκε για την ανοσοϊστοχημική χρώση των δειγμάτων.**

## 8.5 Εξαγωγή RNA

Το ολικό RNA ήταν δυνατό να εξαχθεί από 6 κύβους παραφίνης με δείγματα θυρεοειδικού ιστού διαφορετικών σταδίων κατά TNM μετά από ομογενοποίηση των δειγμάτων ιστών και χρησιμοποιώντας αντιδραστήριο TRIzol σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (Invitrogen, Carlsbad, CA, ΗΠΑ).

### Φάση διαχωρισμού

- Προσθήκη 50μl 4-βρωμοανισόλη ανά Eppendorf και έντονη ανάδευση για λίγα δευτερόλεπτα. Η 4-βρωμοανισόλη βοηθά στην δημιουργία δυο διακριτών φάσεων, μιας υδατικής (υπερκεείμενη στοιβάδα) και μιας οργανικής φάσης. Στην υδατική φάση βρίσκεται το RNA ενώ στην οργανική φάση οι πρωτεΐνες και η φαινόλη ενώ ενδιάμεσα βρίσκεται το DNA.
- Φυγοκέντρηση στις 12.000g στροφές για 15' στους 4°C, ( **Εικ.17**).



**Εικ. 17 Φάσεις διαχωρισμού RNA – TRI REAGENT®RT**

### **Φάση κατακρήμνισης**

- Μεταφορά υδατικής φάσης σε νέο Eppendorf και προσθήκη ισοπροπανόλης σε αναλογία 1:1 με την υδατική φάση.
- Επώαση των δειγμάτων σε θερμοκρασία δωματίου για 10'.
- Φυγοκέντρωση στις 12.000 g στροφές για 10' στους 4°C.
- Το RNA καθιζάνει στον πυθμένα του σωληναρίου ως λευκό ίζημα (pellet).

### **Φάση πλυσίματος**

- Απομάκρυνση του υπερκείμενου (ισοπροπανόλη) με προσοχή χωρίς να χάσουμε το ίζημα.
- Προσθήκη 1ml παγωμένης αιθανόλης 75% και ξέπλυμα του ιζήματος με ήπια ανάδευση.
- Φυγοκέντρωση σε 6.000 g στροφές για 5' στους 4°C.

### **Φάση διαλυτοποίησης του RNA**

- Απομόνωση του RNA με απόχυση της υπερκείμενης αιθανόλης και στέγνωμα στον αέρα με εξάτμιση της αιθανόλης.
- Προσθήκη 20μl αποστειρωμένου dd H<sub>2</sub>O και ήπια ανάδευση.
- Επώαση για 10' στους 55-60°C.
- Φύλαξη στους -80°C.



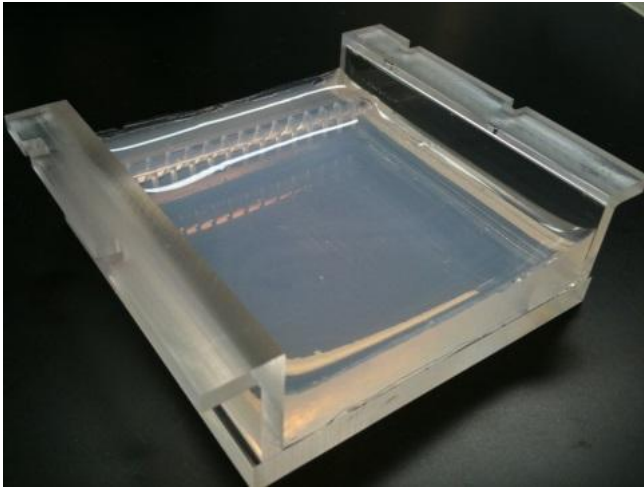
## **Έλεγχος της ποιότητας και ποσοτικοποίηση των δειγμάτων RNA**

Ο έλεγχος της ποιότητας και η ποσοτικοποίηση των δειγμάτων πραγματοποιείται με την μέθοδο της φασματοφωτομετρίας στη συσκευή BioSpec-Nano. Σε κάθε δείγμα μετρήθηκε η οπτική απορρόφηση-πυκνότητα (OD) σε μήκη κύματος 260 nm (A 260), 280 nm (A 280) και 230 nm (A 230). Στα 260 nm ελέγχεται η περιεκτικότητα του δείγματος σε RNA, στα 280 nm ελέγχεται η πρόσμιξη πρωτεϊνών και στα 230 nm η πρόσμιξη από οργανικούς διαλύτες. Υψηλής καθαρότητας RNA έχουμε όταν οι λόγοι OD260/OD280 και OD260/OD230 είναι > 1,7.

## **Ηλεκτροφορική ανάλυση νουκλεϊκών οξέων σε πήκτωμα αγαρόζης**

Η ηλεκτροφόρηση είναι μια διαδικασία που βοηθάει στο διαχωρισμό και στην ανάλυση μορίων ανάλογα με το μέγεθος και το φορτίο τους. Χρησιμοποιείται κυρίως για την ανάλυση και την ταυτοποίηση δειγμάτων DNA, RNA και πρωτεΐνης. Ο πρώτος που χρησιμοποίησε ηλεκτροφόρηση για την ανάλυση του DNA ήταν ο Vin Thorme το 1966-67. Η διαδικασία της ηλεκτροφόρησης γίνεται με την βοήθεια πηκτώματος από διαφορετικά συστατικά (αγαρόζη, ακρυλαμίδιο ή άμυλο). Η αγαρόζη χρησιμοποιείται κυρίως για την ανάλυση του DNA (5-20000 bp), RNA και μεγάλων πρωτεϊνών (>200 Kd). Χαρακτηριστικό του πηκτώματος αγαρόζης είναι ότι δημιουργεί κατά τον πολυμερισμό του μεγάλους πόρους και έτσι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον διαχωρισμό μικρών πρωτεϊνών. Για τον διαχωρισμό των πρωτεϊνών χρησιμοποιείται συνήθως πήκτωμα ακρυλαμιδίου, αφού οι πόροι του έχουν τη διάμετρο που απαιτείται.

Το άγαρ ως υλικό απομονώνεται από τα φύκη και αποτελείται από αγαρόζη και αγαροπηκτίνη. Η αγαρόζη είναι ένα γραμμικό πολυμερές (D- galactox και L- galactopyranose), έχει ουδέτερο φορτίο και χαμηλή χημική πυκνότητα, έτσι δεν αλληλεπιδρά με τα υπόλοιπα βιομόρια. Το πήκτωμα έχει συνήθως περιεκτικότητα σε αγαρόζη από 0.7% έως 2% ανάλογα το μέγεθος των νουκλεϊκών οξέων που μας ενδιαφέρουν. Τα νουκλεϊκά οξέα διαχωρίζονται εφαρμόζοντας στο πήκτωμα ηλεκτρικό πεδίο. Τα μικρότερα μόρια διαπερνούν τους πόρους του πηκτώματος πιο εύκολα. Τα νουκλεϊκά οξέα κινούνται από το αρνητικό ηλεκτρόδιο προς το θετικό ηλεκτρόδιο εξαιτίας των αρνητικών φορτίων στο σκελετό της σάκχαρο-φωσφορικής ομάδας, **(Εικ. 18)**.



**Εικ. 18** Πήκτωμα αγαρόζης

## Πειραματική πορεία

Για την ηλεκτροφορική ανάλυση νουκλεϊκών οξέων στο πείραμα μας ακολουθήσαμε την εξής διαδικασία :

- Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων: Χρησιμοποιούνται για να περιέχουν τα απαραίτητα ιόντα ώστε να γίνεται μεταφορά ρεύματος και να διατηρούν το pH σταθερό. Σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιήσαμε TBE (tris-borate-EDTA).
- Πήκτωμα αγαρόζης: Χρησιμοποιήθηκε πήκτωμα αγαρόζης 2% στο οποίο περιέχεται βρωμιούχο αιθίδιο (EtBr) για να γίνεται ορατό το DNA. Το βρωμιούχο αιθίδιο παρεμβάλλεται στην μεγάλη έλικα του DNA και μπορεί να φθορίζει στο υπεριώδες.
- Προετοιμασία δειγμάτων: Σε κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα φόρτωσης (loading buffer) που περιέχει μια ουσία υψηλής πυκνότητας όπως γλυκερόλη και κάποιες χρωστικές που μετακινούνται με την ίδια ταχύτητα (μπλε της βρωμοφαινόλης και κυανό του ξυλενίου). Σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιήσαμε 3μl και 1μl διαλύματος φόρτωσης (loading buffer).
- Απεικόνιση αποτελεσμάτων: Η οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων γίνεται με την βοήθεια του GelDoc-It® Imager (UVP).

## 8.6 Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο με Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (RT-PCR)

Τα δείγματα RNA χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό του προφίλ της έκφρασης του mRNA της ισομορφής Ec με διαδικασίες ημιποσοτικής ανάστροφης μεταγραφής στην rt-PCR, (Εικ. 19).



**Εικ. 19** Το μηχάνημα της PCR

Ειδικά, 1 µg ολικού RNA από κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή ενός μονόκλωνου cDNA μέσω της ανάστροφης μεταγραφής (QuantiTect, Qiagen, Hilden, Γερμανία) και το συμπληρωματικό DNA (cDNA) που προέκυψε χρησιμοποιήθηκε σε πραγματικό χρόνο PCR ανάλυση. Η σε πραγματικό χρόνο PCR εφαρμόστηκε με τη

χρήση του Bio-Rad 96-well iCycler (Bio-Rad iQ5 Real-Time PCR Detection System; Hercules, Καλιφόρνια) και Kara Biosystems αντιδραστήρια (Kara SYBR Fast qPCR Kit, Βοστώνη, Μασαχουσέτη). Οι αλληλουχίες που ορίστηκαν ως εκκινητές και χρησιμοποιήθηκαν για την ειδική ανίχνευση του αντιγράφου IGF-1Ec παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8**. Συγκεκριμένα για να προστατευτεί η ανίχνευση γονιδιωματικού DNA και να ανιχνευθεί και να ενισχυθεί μόνο το ειδικό IGF-1Ec αντίγραφο, οι εκκινητές σχεδιάστηκαν ώστε να βρίσκονται σε διαφορετικά εξόνια του γονιδίου IGF. Αυτή η ακολουθία στόχου ταυτοποιήθηκε προηγουμένως με ανάλυση ακολουθίας, διασφαλίζοντας την ειδικότητα των εκκινητών <sup>(46)</sup>. Οι παράμετροι της σε πραγματικό χρόνο PCR ήταν οι ακόλουθοι: αρχική μετουσίωση (denaturation) στους 95°C για 5 λεπτά ακολουθούμενη από 40 κύκλους των 15 δευτερολέπτων στους 95°C, 30 δευτερόλεπτα στους 62°C για θερμική κατεργασία (annealing), και 30 δευτερόλεπτα στους 72°C για επέκταση. Όλες οι σε πραγματικό χρόνο PCR αντιδράσεις εκτελέστηκαν στα 20 μl τελικό όγκο, χρησιμοποιώντας 50 ng cDNA ως πρότυπο. Τα επίπεδα του αντιγράφου του IGF-1Ec προσδιορίστηκαν από αυτόματο υπολογισμό του κύκλου-κατώφλι (threshold cycle, Ct) ως ο αριθμός των κύκλων στους οποίους ο μετρούμενος φθορισμός υπερβαίνει το όριο ανίχνευσης. Η γλυκεραλδεϋδη 3-φωσφορική δεϋδρογονάση (GAPDH) χρησιμοποιήθηκε ως housekeeping γονίδιο (εσωτερικό πρότυπο) για τη σχετική ποσοτικοποίηση (dCt) της συγκεκριμένης έκφρασης του μεταγραφικού IGF-1Ec. Κάθε δείγμα αναλύθηκε τριπλά, και τα εξαγόμενα αποτελέσματα προέκυψαν από το μέσο όρο. Μία καμπύλη τήξης (Tm) επιπλέον δημιουργήθηκε από το λογισμικό Bio-Rad iQ5 σε πραγματικό χρόνο PCR σύστημα

ανίχνευσης μετά τον τελικό κύκλο για κάθε πειραματικό δείγμα, μέσω της συνεχούς παρακολούθησης του Kapa SYBR φθορισμού σε όλο το εύρος θερμοκρασίας από 65°C ως 95°C. Η ειδικότητα των εκκινητών για το αντίστοιχο αντίγραφο επιβεβαιώθηκε επιπλέον από την ανάλυση της καμπύλης τήξης των δειγμάτων, όπου υπήρχε μόνο μία καμπύλη τήξης για κάθε δείγμα, και η ηλεκτροφορητική ανάλυση των παραγώγων της σε πραγματικό χρόνο PCR επαλήθευσε επιπλέον την ειδικότητα του μεταγραφικού στόχου IGF-1Ec. Ο έλεγχος για την ειδικότητα συμπεριλάμβανε αντιδράσεις ελεύθερες του cDNA.

<i>Target mRNA</i>	<i>PCR Primer Sequence</i>	<i>Product Size (bp)</i>
<i>IGF-1Ec</i>	5'- CGAAGTCTCAGAGAAGGAAAGG-3'	150
	5'-ACAGGTA ACTCGTGCAGAGC-3'	
<i>GAPDH</i>	5'-TCAAGAACGAAAGTCGGAGG-3'	293
	5'-GGACATCTAAGGGCATCACA-3'	

**Πίνακας 8.** Η αλληλουχία των ειδικών εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στην **real-time PCR** ανάλυση

## 8.7 Στατιστική Ανάλυση

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος  $\pm$  τυπικό σφάλμα του μέσου όρου (SEM) εκτός αν αναφερόταν διαφορετικά. Συγκρίσεις της έκφρασης του IGF-1Ec ανάμεσα στις δύο ομάδες τιμών εφαρμόστηκαν χρησιμοποιώντας το Student's t test ή Mann Whitney U test, για παραμετρική ή μη παραμετρική ανάλυση, αντίστοιχα. Η μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) χρησιμοποιήθηκε για να προσεγγίσει τις διαφορές ανάμεσα σε περισσότερες από 2 ομάδες. Η τιμή p value  $<0.05$  θεωρήθηκε ως στατιστικά σημαντική. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν χρησιμοποιώντας το StatView Software (SAS Institute, Carry, NC, USA).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9. Αποτελέσματα**

### **9.1 Γενικά**

Από τα συνολικά 92 δείγματα, τα 2 αφορούσαν σε αδιαφοροποίητο καρκίνωμα θυροειδούς, 10 σε μυελοειδή καρκινώματα, 4 σε υπερπλασία των C κυττάρων, 11 σε θυλακιώδη καρκινώματα, 5 σε hurtle Cell αδενώματα, 2 σε πτωχά διαφοροποιημένο καρκίνωμα, 5 σε οζώδη υπερπλασία, 1 σε λέμφωμα και 52 σε θηλώδες καρκίνωμα του θυροειδούς. Τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9**. Ειδικά, σύμφωνα με την κατά TNM σταδιοποίησή τους, από τα 52 δείγματα με θηλώδες καρκίνωμα τα 23 (44.2%) δείγματα ήταν χαμηλού, τα 21 (40.4%) μεσαίου και 8 (15.4%) υψηλού κινδύνου υποτροπής. Επιπλέον από τον ίδιο πληθυσμό, η διήθηση της κάψας ήταν παρούσα σε 27 (52%) δείγματα, θετικά χειρουργικά όρια παρατηρήθηκαν σε 2 περιπτώσεις (3.8%), διήθηση μυών σε 7 (13.5%), αγγειακή διήθηση σε 5 (9.6%), ενώ σε άλλες 5 περιπτώσεις (9.6%) υπήρχαν θετικοί λεμφαδένες. Το μέγεθος του όγκου κυμαινόταν από λιγότερο από 0.5 mm έως 6.5 cm και σε 21 ιστούς (40.4%) υπήρχαν περισσότερες από μία εστίες.



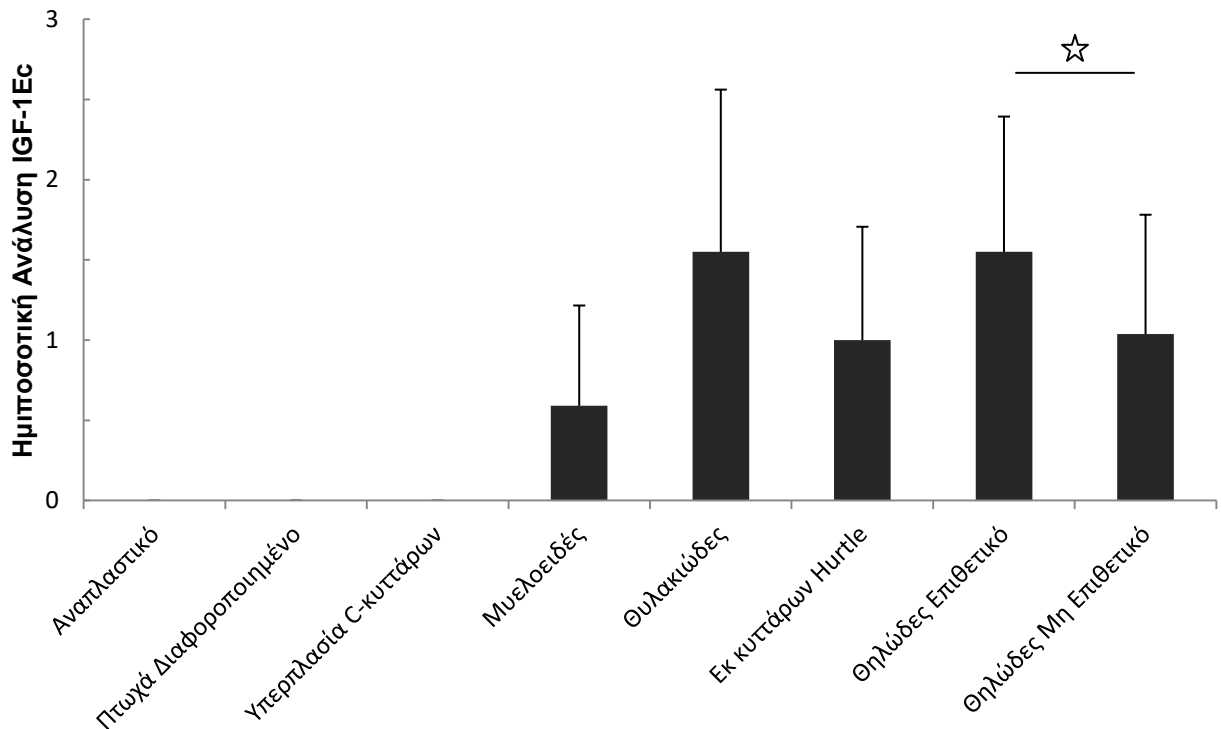
<b>Παράμετροι</b>		<b>Συσχέτιση με την έκφραση του IGF-1Ec</b>
<b>Ηλικία</b> (13-76 years)	30 δείγματα < 45 yrs 22 δείγματα > 45 yrs	ns
<b>TNM Στάδιο</b>	Χαμηλού Κινδύνου: 23 Ενδιάμεσου Κινδύνου: 21 Υψηλού Κινδύνου: 8	p<0.05
<b>Χειρουργικά όρια</b>	Αρνητικά : 50 Θετικά : 2	ns
<b>Διήθηση Κάψας</b>	Απούσα : 25 Παρούσα : 27	p<0.05
<b>Αγγειακή Διήθηση</b>	Απούσα : 47 Παρούσα : 5	ns
<b>Μέγεθος Όγκου</b> (<0.5mm – 6.5cm)	< 2cm: 31 2 - 4cm: 17 > 4cm: 4	ns
<b>Λεμφαδένες</b>	Απόντες : 47 Παρόντες : 5	ns
<b>Διήθηση Μυών</b>	Απούσα : 45 Παρούσα : 7	p<0.05
<b>Εστίες</b>	Πολυεστιακό : 21 Μονοεστιακό : 31	ns

ns: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά.

**Πίνακας 9.** Συσχέτιση της έκφρασης του IGF-1Ec σε σχέση με διάφορες παθολογοανατομικές παραμέτρους σε 52 δείγματα από θηλώδη θυρεοειδικά καρκινώματα.

## 9.2 Η έκφραση του IGF-1Ec παρατηρήθηκε σε Διαφοροποιημένο και Μυελοειδές Καρκίνωμα Θυρεοειδούς

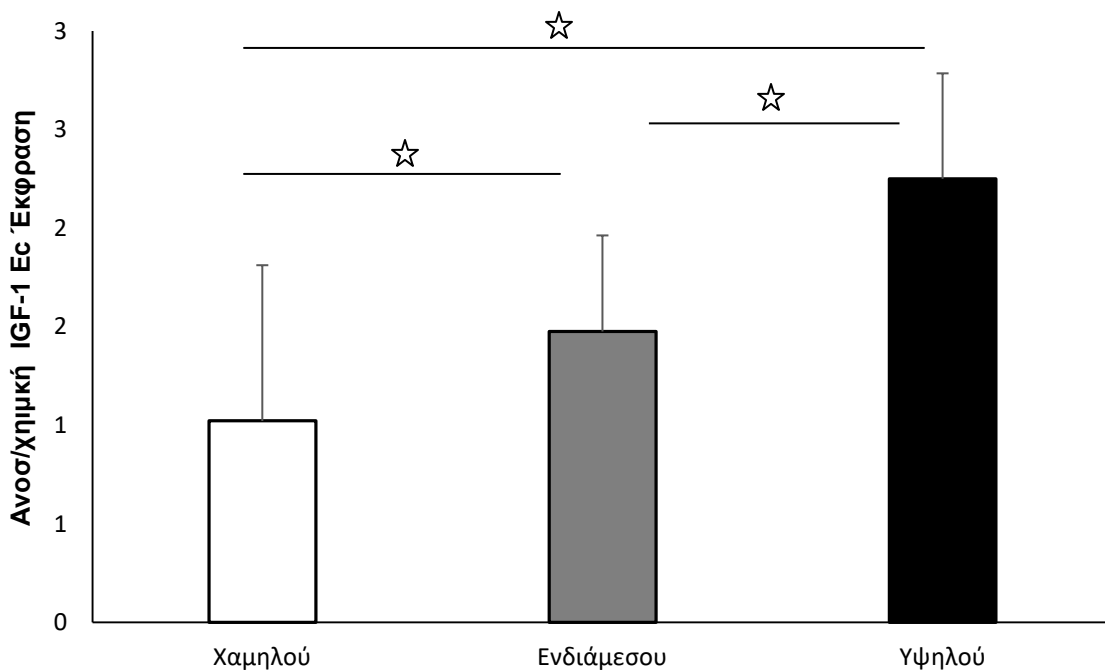
Μεταξύ όλων των τύπων καρκίνου θυρεοειδούς που συμπεριλαμβάνονταν στη μελέτη, η ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec παρατηρήθηκε μόνο σε μυελοειδές καρκίνωμα, θυλακιώδες καρκίνωμα, εκ κυττάρων hurtle αδένωμα και σε θηλώδες καρκίνωμα και όχι σε αδιαφοροποίητο (αναπλαστικό), υπερπλασία των C- κυττάρων ή φτωχά διαφοροποιημένο καρκίνωμα, (Εικ. 20).



Εικ. 20 Ανοσοϊστοχημική (ημιποσοτική) ανάλυση της έκφρασης του IGF-1Ec σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου θυρεοειδούς. Με τον αστερίσκο επισημαίνεται η στατιστικά σημαντική υψηλότερη έκφραση του IGF-1Ec στο επιθετικό σε σύγκριση με το μη επιθετικό θηλώδες καρκίνωμα.

### 9.3 Ο IGF-1Ec εκφράζεται περισσότερο σε Διαφοροποιημένο Θηλώδες Καρκίνωμα του Θυρεοειδούς και όσο πιο αυξημένος είναι ο κίνδυνος υποτροπής

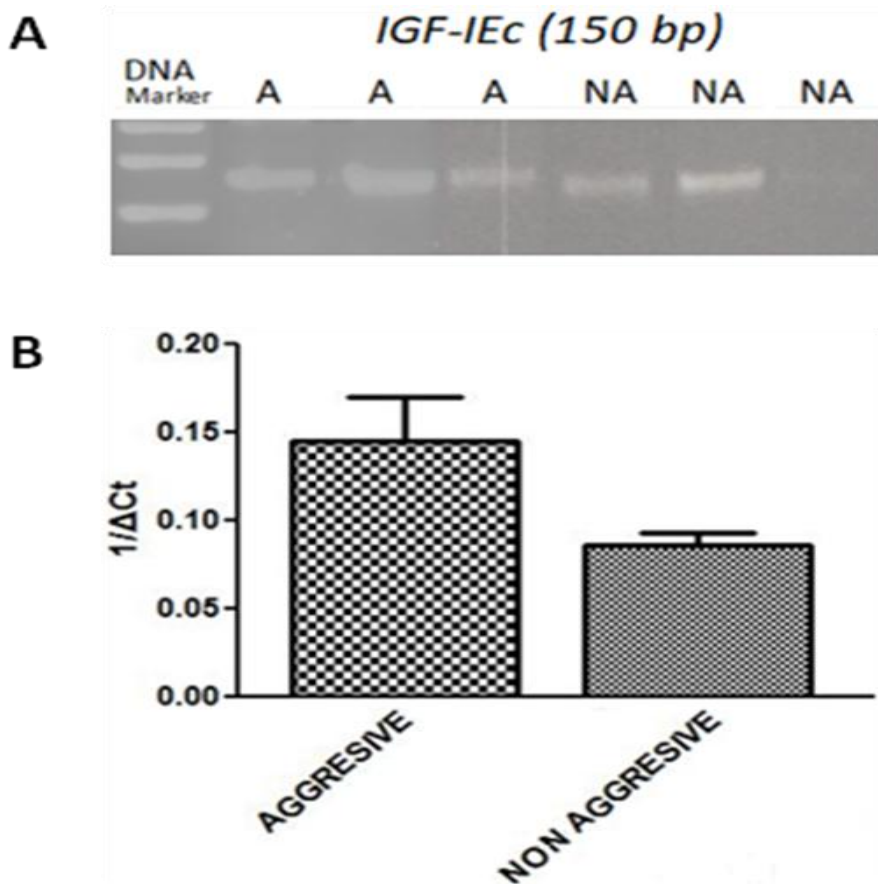
Μεταξύ των διαφοροποιημένων τύπων καρκίνου, η έκφραση του IGF-1Ec ήταν υψηλή στο θηλώδες καρκίνωμα θυρεοειδούς, ενώ είναι ενδιαφέρον ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.05$ ) στην έκφραση του σε επιθετικούς σε σύγκριση με μη επιθετικούς καρκίνους, (βλέπε σελ 108-109), (Εικ. 20). Επιπλέον, σε ότι αφορά στον κίνδυνο υποτροπής σύμφωνα με τις οδηγίες της ATA (2015), υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην έκφραση του IGF-1Ec ανάμεσα στις 3 ομάδες χαμηλού, ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου υποτροπής ( $p < 0.05$ ), (Εικ. 21).



Εικ. 21 Ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec ανάλογα με την κατάταξη σε χαμηλού, μεσαίου και υψηλού κινδύνου υποτροπής.

#### 9.4 Η έκφραση του IGF-1Ec mRNA είναι μεγαλύτερη σε επιθετικό σε σύγκριση με μη επιθετικό Θηλώδες Καρκίνωμα του Θυρεοειδούς

Για να διερευνήσουμε περαιτέρω αν η έκφραση της ισομορφής IGF-1Ec σχετίζεται με την επιθετικότητα του όγκου, η έκφραση του mRNA εκτιμήθηκε σε δείγματα θυρεοειδικού ιστού προερχόμενα από 3 επιθετικούς και 3 μη επιθετικούς καρκίνους (βλέπε σελ 108-109). Τα αντίγραφα του IGF-1Ec εμφάνισαν ένα προφίλ έκφρασης παρόμοιο με αυτό που παρατηρήθηκε από τα πειράματα με ανοσοϊστοχημεία, δηλαδή μία μεγαλύτερη έκφραση σε επιθετικό καρκίνο, (Εικ. 22A και B).



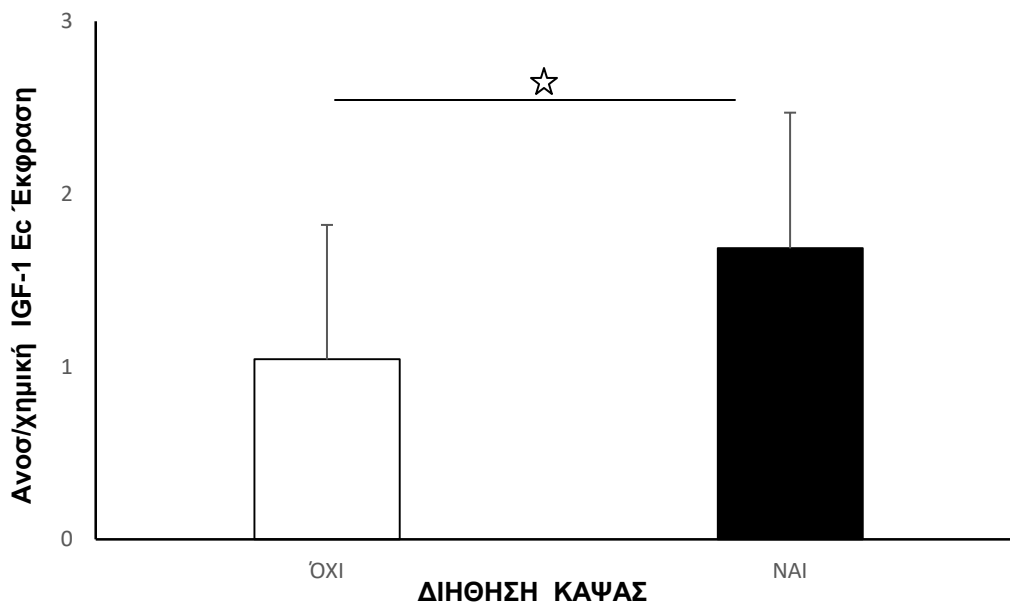
**Εικ. 22**

**A:** Αντιπροσωπευτικές gel εικόνες δείχνουν την έκφραση του IGF-1Ec σε θυρεοειδικούς ιστούς προερχόμενους από 3 aggressive/επιθετικούς (A) και 3 non-aggressive/μη επιθετικούς (NA) καρκίνους σύμφωνα με την TNM σταδιοποίηση.

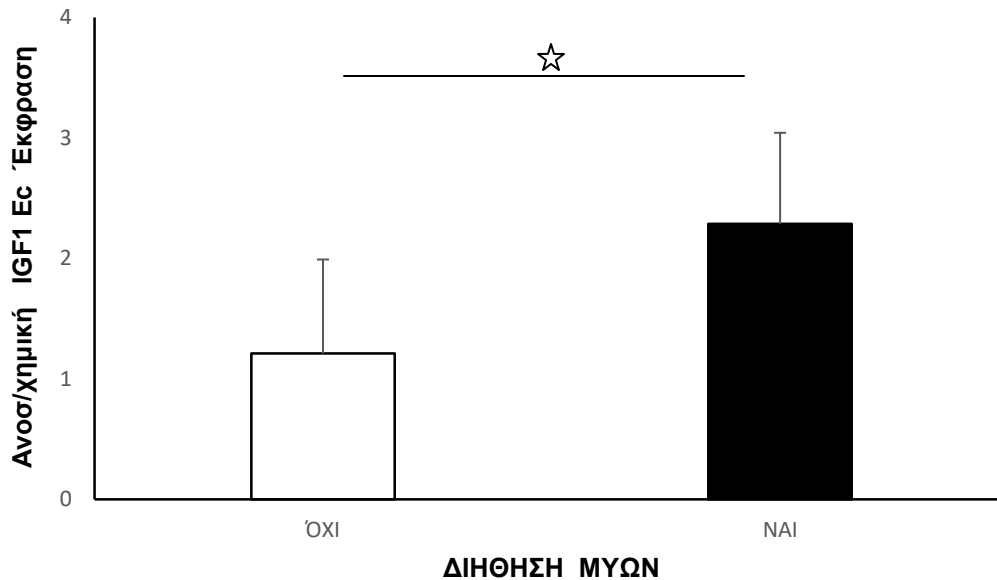
**B:** Ημιποσοτική real-time RT-PCR ανάλυση. Το κατώφλι τιμών (Ct) του IGF-1Ec για κάθε δείγμα νορμαλοποιήθηκε ( $\Delta$ Cts) για κάθε ένα γονίδιο αναφοράς (GAPDH). Λόγω του ότι μεγαλύτερες Ct τιμές αντιστοιχούν σε μικρότερη έκφραση, τα επίπεδα σχετικής έκφρασης παρουσιάζονται σαν η ανάστροφη διαφορά μεταξύ της Ct του γονιδίου στόχος και του γονιδίου αναφοράς ( $1/\Delta$ Ct). Κάθε δείγμα αναλύθηκε σε τριπλέτες και πάρθηκε ο μέσος όρος (means $\pm$ SD).

### 9.5 Η έκφραση του IGF-1Ec σε Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα σχετίζεται θετικά με την παρουσία διήθησης της κάψας του όγκου και των γειτονικών μυών

Η έκφραση του IGF-1Ec σε διαφοροποιημένο καρκίνωμα θυρεοειδούς ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη όταν υπήρχε διήθηση μυών ή κάψας σε σχέση με την απουσία διήθησή τους ( $p < 0.05$ ), (Εικ. 23 και Εικ. 24).



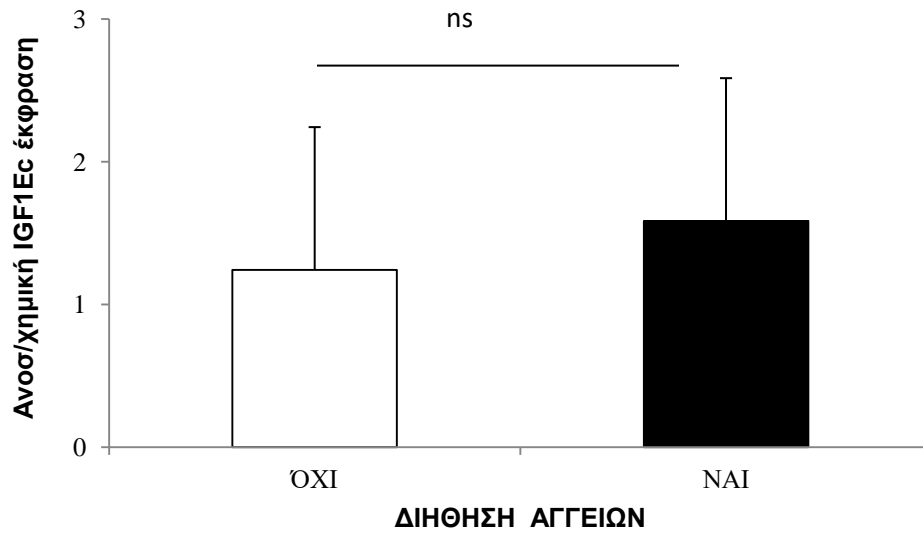
Εικ. 23 Ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec ανάλογα με την παρουσία ή όχι διήθησης της κάψας. (Στατιστικά σημαντική διαφορά : \* $p < 0.05$ )



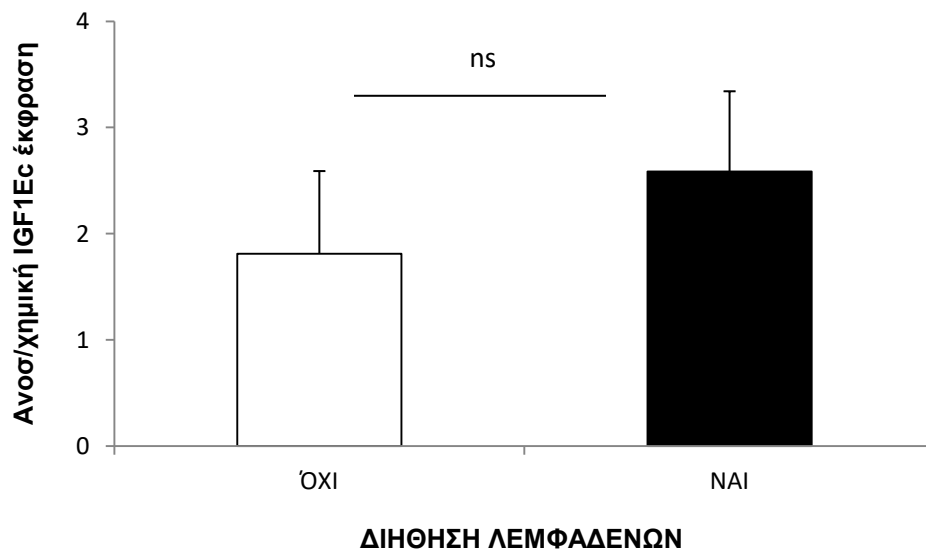
**Εικ. 24** Ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec ανάλογα με την παρουσία ή όχι διήθησης των γειτονικών μυών. (Στατιστικά σημαντική διαφορά : \* $p < 0.05$ )

### **9.6 Η έκφραση του IGF-1Ec στο Διαφοροποιημένο Καρκίνωμα Θυρεοειδούς δε συσχετίζεται με την παρουσία διήθησης των αγγείων και των γειτονικών τραχηλικών λεμφαδένων**

Όταν μελετήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec μεταξύ όγκων που παρουσίαζαν διήθηση των γειτονικών αγγειακών δομών και αυτών που δεν παρουσίαζαν, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων, (**Εικ.25**). Το ίδιο συνέβη όταν έγινε στατιστική ανάλυση μεταξύ της ομάδας που παρουσίαζε διήθηση στους τραχηλικούς λεμφαδένες και στην ομάδα που δεν υπήρχε διήθηση στους γειτονικούς λεμφαδένες, (**Εικ.26**).



**Εικ. 25** Μη στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec μεταξύ των όγκων που παρουσίαζαν διήθηση και αυτών που δεν παρουσίαζαν διήθηση των γειτονικών αγγείων

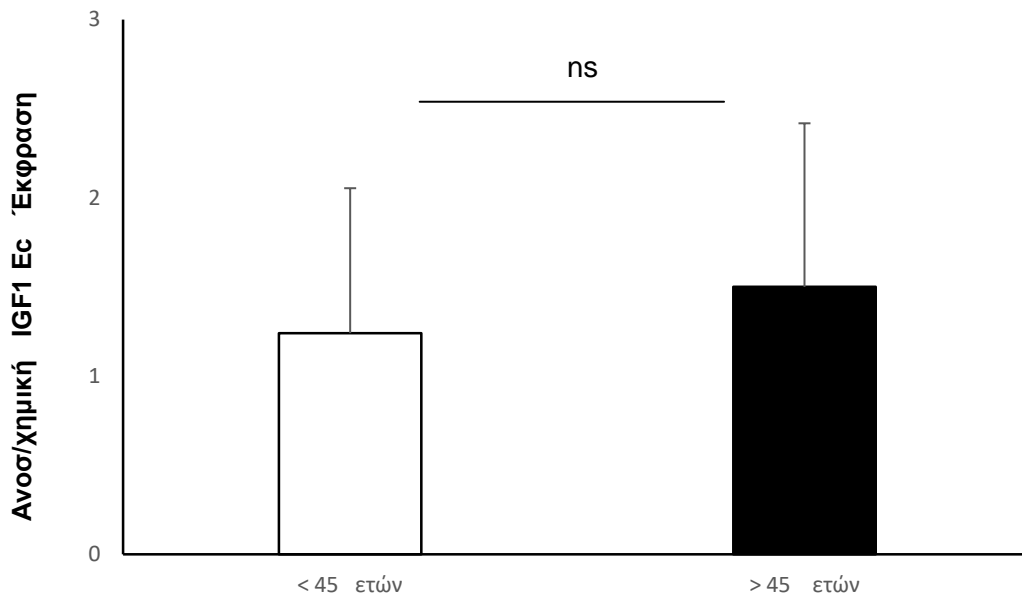


**Εικ. 26** Μη στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση του IGF-1Ec ανάλογα με το αν ο όγκος διηθούσε ή όχι τους περιοχικούς λεμφαδένες



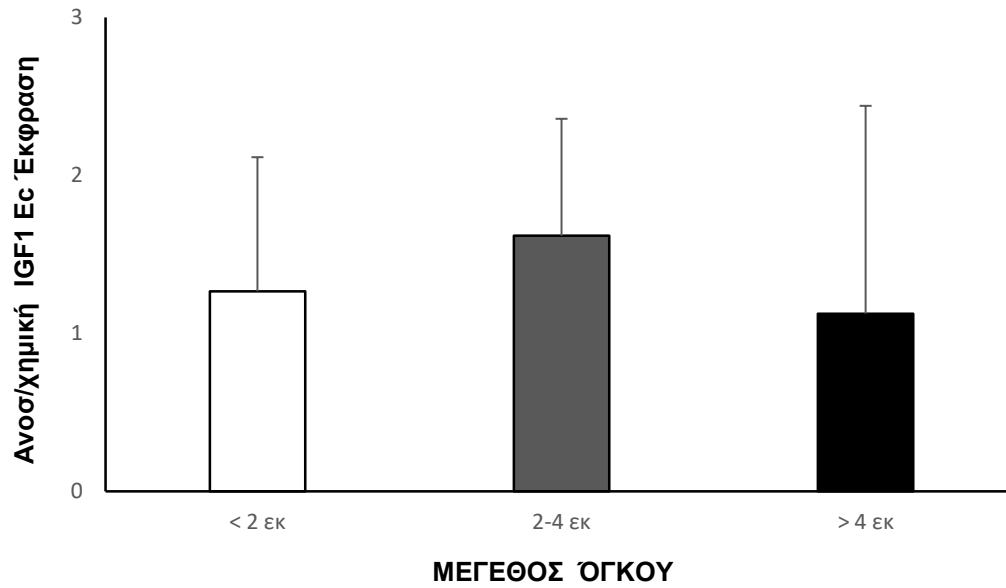
### 9.7 Η ηλικία του ασθενούς κατά τη διάγνωση και το μέγεθος του όγκου δεν ήταν προγνωστικοί παράγοντες της έκφρασης του IGF-1Ec

Όταν τα δείγματα κατηγοριοποιήθηκαν με βάση την ηλικία των ασθενών τη στιγμή της διάγνωσης τους, ως ομάδες πάνω ή κάτω από 45 ετών, δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των δύο ομάδων καμία διαφορά στην έκφραση του IGF-1Ec, (Εικ. 27).



Εικ. 27 Μη στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec ανάλογα το αν η ηλικία του ασθενούς κατά τη διάγνωση ήταν κάτω ή πάνω από 45 ετών

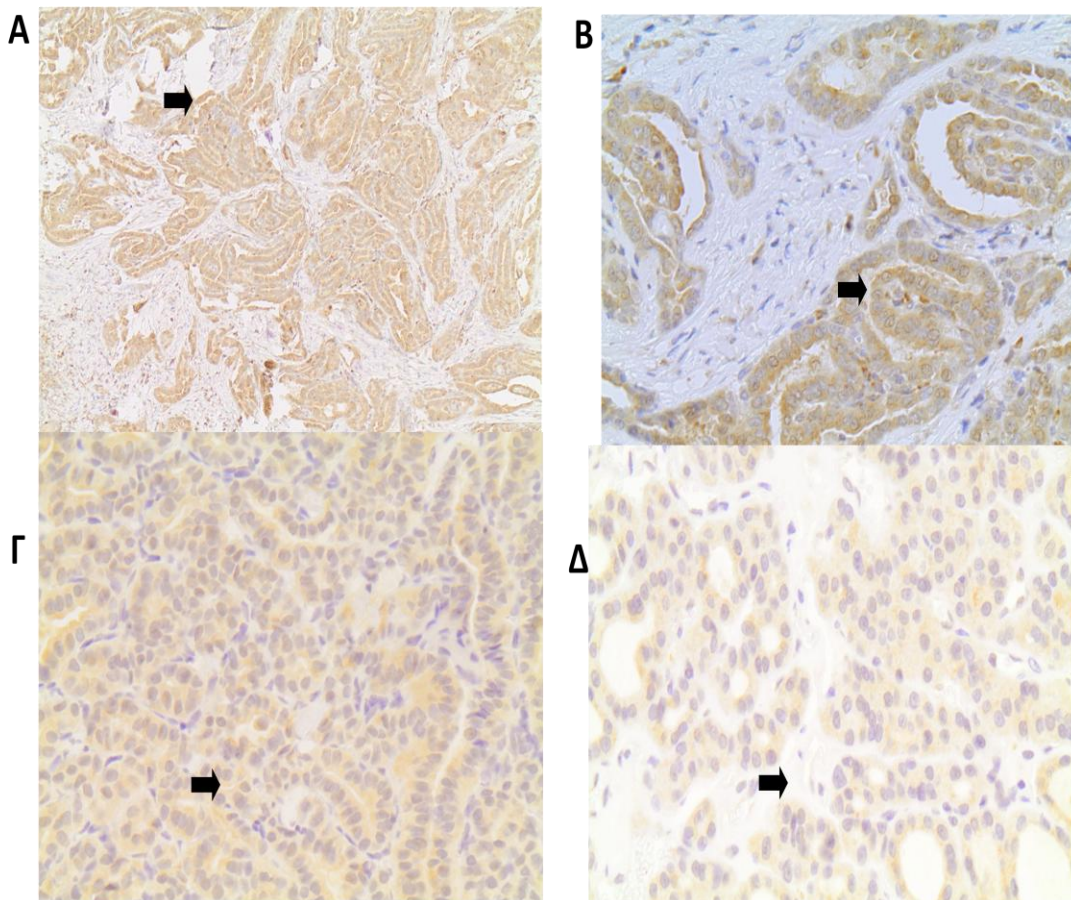
Επιπλέον, μη στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν όταν οι όγκοι κατηγοριοποιήθηκαν με βάση το μέγεθός τους, σύμφωνα με την κατά TNM σταδιοποίηση, δηλαδή ως κάτω από 2εκ, μεταξύ 2εκ και 4 εκ, ή πάνω από 4 εκ, (Εικόνα 28).



**Εικ. 28** Μη στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανοσοϊστοχημική έκφραση του IGF-1Ec ανάλογα με το μέγεθος του όγκου.

## 9.8 Ο IGF-1Ec εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων με Καρκίνο Θυρεοειδούς

Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση αποκάλυψε την κυρίως κυτταροπλασματική έκφραση του IGF-1Ec. Συγκεκριμένα, στο θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς και στο ελάχιστα διηθητικό θυλακίωδες θυρεοειδικό καρκίνωμα εμφανίστηκε έντονη χρώση με το αντι-IGF-1Ec αντίσωμα, όπως φαίνεται στις αντιπροσωπευτικές εικόνες **Εικόνα 29 Α-Δ**.



**Εικ. 29** Τα μαύρα βέλη δείχνουν την κυτταροπλασματική έκφραση του IGF1-Ec σε θηλώδες καρκίνωμα (A, B και Γ εικόνα) όπως επίσης σε ελάχιστα διηθητικό θυλακίωδες καρκίνωμα (Δ εικόνα). Μεγέθυνση: A και B x 100, Γ και Δ x 400.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10. Συζήτηση**

Στη παρούσα μελέτη διερευνήσαμε την ανοσοϊστοχημική έκφραση της Ec ισομορφής του IGF-1 σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου του θυρεοειδούς. Η μελέτη μας έδειξε ότι η έκφραση του IGF-1Ec συσχετίζεται θετικά με παραμέτρους που καθορίζουν πιο επιθετικούς τύπους καρκίνων, όπως αυτές υποδεικνύονται από τη σταδιοποίηση και τη διαστρωμάτωση του κινδύνου υποτροπής της νόσου σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Θυρεοειδούς.

Το μονοπάτι της καρκινογένεσης στον θυρεοειδή είναι πολλαπλό και περιλαμβάνει αρχικά τη σύνδεση του συστήματος IGF1/2 στους υποδοχείς του. Από κει και πέρα πυροδοτούνται τα σηματοδοτικά μονοπάτια των RAS/RAF/MEK/ERK, και PI3K/AKT/mTOR με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η απόπτωση και να ευνοείται ο πολλαπλασιασμός του κυττάρου <sup>(37)</sup>. Παράλληλα, η ενεργοποίηση των ανωτέρω οδών αυξάνει τη λειτουργία του NIS, ενώ η άνοδος των επιπέδων των αυξητικών παραγόντων συσχετίζεται θετικά με τη θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (TSH) η οποία με τη σειρά της ασκεί τροφογόνο δράση στο θυρεοειδή αδένα <sup>(66,67)</sup>. Τέλος το σύστημα του IGF-1/2 αλληλεπιδρά με αρκετούς υποδοχείς τυροσινικών κινασών όπως είναι ο VEGFR και EGFR που με τη σειρά τους συμμετέχουν στο μηχανισμό της καρκινογένεσης αυξάνοντας ακόμη περισσότερο την πολυπλοκότητά του <sup>(37)</sup>.

Το πρότυπο της έκφρασης των διαφόρων ισομορφών του IGF-1 σε ποικίλες καταστάσεις όπως ο καρκίνος είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος, καθώς η διαφορετική κάθε φορά ρυθμιστική δράση μπορεί να υποδηλώνει ένα συγκεκριμένο βιολογικό ρόλο για τα

πρόδρομα πολυπεπίδια του IGF-1 ή/και τα πεπίδια τους (Ea, Eb και Ec). Παρόλο που ο ακριβής ρόλος των E πεπτιδίων του IGF-1 δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος <sup>(36)</sup>, ωστόσο πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι το Ec πεπίδιο ρυθμίζεται διαφορετικά κατά τη διάρκεια της μυϊκής αναγέννησης στους ανθρώπους <sup>(56)</sup>, ενώ το συνθετικό Ec πεπίδο βρέθηκε να έχει βιοενεργητικότητα και υπερέκφραση στα προστατικά καρκινικά κύτταρα <sup>(41,46,53,54,59,68)</sup> (PC-3) *in vitro* αυξάνοντας έτσι το ογκογόνο δυναμικό στα ποντίκια <sup>(58)</sup>.

Σε προηγούμενες μελέτες από το εργαστήριο μας είχε δειχθεί η μιτογόνος δράση του E domain της IGF-1Ec ισομορφής στον καρκίνο του προστάτη, του μαστού, του ενδομητρίου στον άνθρωπο καθώς και σε κύτταρα οστεοσαρκώματος, *in vitro* <sup>(50,53,57,58)</sup>, όπως επίσης και ο πιθανός ρόλος της IGF-1Ec ισομορφής στην παθοφυσιολογία του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως <sup>(31)</sup> και των νευροενδοκρινών νεοπλασμάτων <sup>(64)</sup>, *in vivo*. Ειδικότερα, μια διαφορετική έκφραση της Ec ισομορφής έχει ανιχνευθεί στον καρκίνο του προστάτη (και στον *in situ*), όπως επίσης και στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως σε σύγκριση με τους μη καρκινικούς ιστούς <sup>(31,50)</sup>.

Σε αυτή τη μελέτη επεκτείναμε τα ευρήματά μας στον καρκίνο του θυρεοειδούς και βρήκαμε ότι η έκφραση του IGF-1Ec είναι μεγαλύτερη όταν ο καρκίνος είναι πιο προχωρημένος, σύμφωνα με την TNM σταδιοποίηση, καθώς και όταν υπάρχει παρουσία διήθησης της κάψας ή της μυϊκής στοιβάδας. Παράλληλα, ανάλογη ήταν η έκφραση σε mRNA επίπεδο, δηλαδή όσο πιο προχωρημένος ήταν ο όγκος, τόσο πιο έντονη ήταν η έκφραση του mRNA της ισομορφής. Τα ευρήματα της μελέτης μας είναι σύμφωνα με προηγούμενες *in vivo* μελέτες που δείχνουν αυξημένη έκφραση του IGF-1Ec σε

νευροενδοκρινή νεοπλάσματα που βρίσκεται και δεύτερη εστία σε σύγκριση με αυτά που έχουν μονοεστιακή εντόπιση <sup>(64)</sup>, όπως και με μελέτες που δείχνουν θετική συσχέτιση της ισομορφής με το στάδιο και το score κατά Gleason στον καρκίνο του προστάτη <sup>(69)</sup>, υποδεικνύοντας μια πιθανή σταδιακή αύξηση της έκφρασης κατά τη διάρκεια προόδου της νόσου.

Επιπλέον, η έκφραση της ισομορφής ήταν κυρίως κυτταροπλασματική και αυτό είναι σε ακολουθία με προηγούμενη μελέτη της ομάδας μας σε βιοψίες καρκίνου του προστάτη όπου βρέθηκε ταυτόσημη έκφραση <sup>(50,69)</sup>. Παρόμοιο πρότυπο έκφρασης βρέθηκε στον IGF-1 στον καρκίνο του παχέος εντέρου και μάλιστα η έκφραση ήταν ήπια σε αδένωμα, πιο έντονη σε αδenoκαρκίνωμα και ισχυρή σε μεταστατικές εστίες. Οι συγγραφείς στη συγκεκριμένη μελέτη <sup>(70)</sup> εντόπισαν την έκφραση του παράγοντα ακριβώς κάτω από την κυτταρική μεμβράνη του καρκινικού κυττάρου, ευρήματα που είναι σε πλήρη ακολουθία με τη μελέτη μας.

Η παρούσα εργασία είναι η πρώτη στη βιβλιογραφία που δείχνει το πρότυπο έκφρασης του IGF-1Ec σε διαφορετικούς τύπους θυρεοειδικού καρκίνου και αποκαλύπτει μια θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων έκφρασης της ισομορφής Ec και του κινδύνου υποτροπής της νόσου. Ένα ενδιαφέρον σημείο της μελέτης μας ήταν ότι η έκφραση του IGF-1Ec σχετιζόταν θετικά με τη διήθηση της κάψας και των μυών σε διαφοροποιημένο καρκίνωμα θυρεοειδούς, ενώ δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στην έκφραση του IGF-1Ec και στην αγγειακή διήθηση ή στην ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων. Παρόλα ταύτα, υπήρχε και εδώ η ίδια τάση (trend) με τους πιο προχωρημένου σταδίου όγκους να εμφανίζουν μεγαλύτερη έκφραση της ισομορφής,

χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστική σημαντικότητα. Αυτό πιθανό να έχει σχέση με τον μικρό αριθμό των δειγμάτων που είχαμε στη διάθεση μας. Από την άλλη πλευρά και σε παλαιότερες μελέτες στον καρκίνο του προστάτη φάνηκε μεν η μεγαλύτερη έκφραση της ισομορφής σε πιο προχωρημένου σταδίου καρκίνους, χωρίς να φανεί ωστόσο στατιστική σημαντική διαφορά σε μεμονωμένες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους όπως είναι η γειτονική περινευρική ή αγγειακή διήθηση του προστατικού όγκου. Το γεγονός αυτό μαρτυρά ότι πιθανόν να εμπλέκονται και άλλοι μηχανισμοί εκτός του IGF-1Ec στη μεταστατική διαδικασία. Το εάν η έκφραση της ισομορφής του IGF-1Ec θα μπορούσε να είναι ένδειξη πιθανότητας μετάστασης του προχωρημένου καρκίνου του θυρεοειδούς παραμένει προς διερεύνηση και χρήζει σχεδιασμό μελετών που θα διαθέτουν μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων.

Επιπρόσθετα, μη στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν όταν η έκφραση του IGF-1Ec προσαρμόστηκε στην ηλικία, στο μέγεθος του όγκου ή στον αριθμό των εστιών. Ειδικότερα, όσον αφορά στο μέγεθος του όγκου, ο συνολικός αριθμός των δειγμάτων χωρίστηκε σε 3 ομάδες σύμφωνα με τη σταδιοποίηση κατά TNM και παρότι η έκφραση του IGF-1Ec βρέθηκε μεγαλύτερη σε προχωρημένου σταδίου καρκίνους, αυτό το εύρημα φαίνεται πως ήταν ανεξάρτητο του μεγέθους του όγκου. Ακολούθως, ενώ ο καρκίνος του θυρεοειδούς είναι συνήθως πιο επιθετικός στις νεαρές ηλικίες, ωστόσο η έκφραση της IGF-1Ec ισομορφής δε βρέθηκε να συσχετίζεται με την ηλικία των ασθενών στο υπό εξέταση δείγμα μας. Παρόμοια ευρήματα βρέθηκαν και στις μελέτες που σχετίζονταν με καρκίνο του προστάτη<sup>(69)</sup>. Ενώ δηλαδή η έκφραση της ισομορφής ήταν μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερο ήταν το Gleason Score, δε βρέθηκε ωστόσο

διαφορά στην έκφραση της σε σχέση με την ηλικία των ασθενών και το μέγεθος του όγκου, γεγονός που πιθανόν εμπλέκει στην όλη διαδικασία και περαιτέρω μηχανισμούς ανεξάρτητους του IGF-1Ec.

Λόγω του περιορισμένου αριθμού δειγμάτων με θυλακιώδες καρκίνωμα, οποιαδήποτε πιθανή διαφορά στην έκφραση της ισομορφής IGF-1Ec μεταξύ θυλακιώδους αδενώματος και θυλακιώδους καρκινώματος δεν αναλύθηκε στη παρούσα μελέτη. Ο μικρός αριθμός δειγμάτων είναι ίσως και ο λόγος που δεν ανιχνεύθηκε η ισομορφή στους αδιαφοροποίητους όγκους του θυρεοειδούς, παρόλο που οι υποκείμενοι μηχανισμοί σε αυτούς τους καρκινικούς υποτύπους φαίνεται πως είναι αρκετά πολύπλοκοι. Έτσι χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να διερευνηθεί η παθογένεια και η πιθανή συσχέτιση της IGF-1Ec ισομορφής με αυτούς τους τύπους καρκίνου του θυρεοειδούς.

Παράλληλα, η μελέτη μας θα πρέπει να αναλυθεί υπό το πρίσμα συγκεκριμένων περιορισμών. Αρχικά, η αναδρομική φύση της μελέτης συμπεριελάμβανε την αναπόφευκτη εγγενή δυσκολία να απομονωθεί ακέραιο RNA από όλα τα μπλοκ παραφίνης προκειμένου να προχωρήσουμε στην ανάλυση με RT-PCR. Έτσι τα αποτελέσματα σχετικά με την mRNA έκφραση της ισομορφής θα πρέπει να ερμηνευτούν με προσοχή εξαιτίας του μικρού αριθμού καρκινικών ιστών που τελικά χρησιμοποιήθηκαν. Παρομοίως, μετά από μια σειρά προσπαθειών, χρησιμοποιώντας πολλαπλά πρωτόκολλα δεν κατορθώσαμε να εξάγουμε ικανοποιητικό ποσό πρωτεΐνης από τα παραφινοποιημένα μπλοκ προκειμένου να προχωρήσουμε σε Western blot ανάλυση. Τέλος, λόγω των περιορισμένων περιστατικών καρκίνου του θυρεοειδούς με



περιθυροειδική διήθηση σε μακροσκοπικό επίπεδο, απομακρυσμένες μεταστάσεις και εκτεταμένη αγγειακή διήθηση, στην προσπάθεια ταυτοποίησης και κατάταξης των δειγμάτων σε ότι αφορά στη διαστρωμάτωση του κινδύνου υποτροπής, σε ομάδα χαμηλού, ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου, κάποια δείγματα μπορεί να χαρακτηρίστηκαν εσφαλμένα σαν υψηλού κινδύνου υποτροπής αντί για ενδιάμεσου. Συνεπώς, χρειάζονται περισσότερες μελέτες που θα εμπεριέχουν μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων από διάφορα στάδια καρκίνου, προκειμένου να εξαχθούν πιο ξεκάθαρα συμπεράσματα σχετικά με το προφίλ έκφρασης της ισομορφής Ec στον καρκίνο του θυροειδούς.

Συμπερασματικά, στη παρούσα μελέτη δείξαμε πως υπάρχει μια θετική συσχέτιση της έκφρασης της ισομορφής IGF-1Ec με τους πιο προχωρημένου σταδίου διαφοροποιημένους θυροειδικούς καρκίνους, όπως φαίνεται από την ανάλυση των δειγμάτων, όπου μελετήθηκαν διάφορες προγνωστικές ιστοπαθολογικές παράμετροι. Αυτή η μελέτη θα μπορούσε να είναι και το πρώτο βήμα στη διεθνή βιβλιογραφία προκειμένου να διερευνηθεί εκτενέστερα ο ρόλος της IGF-1Ec στην παθοφυσιολογία και στην εξέλιξη του θυροειδικού καρκίνου. Η πιθανή ειδική ρυθμιστική έκφραση της IGF-1Ec στην παθοφυσιολογία του θυροειδικού καρκίνου, όπως έχει δειχτεί άλλωστε και σε διάφορους άλλους καρκίνους, απαιτεί πολλές μελέτες προκειμένου να αποδειχθεί τελικά το εάν το ειδικό αυτό πρότυπο έκφρασης της IGF-1Ec θα μπορούσε τελικά να χρησιμοποιηθεί σαν ένας πιθανός προγνωστικός βιοδείκτης ή/και ένα νέο θεραπευτικό όπλο κατά του καρκίνου.

## **Βιβλιογραφία**

- 1 David G. Gardner et al Greenspan Clinical and Basic Endocrinology, 9<sup>th</sup> edition
- 2 Orsolya Dohán, et al ( 2007). «The Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter (NIS) mediates electroneutral active transport of the environmental pollutant perchlorate». Proceedings of the National Academy of Sciences 104 (51): 20250-20255.
3. Shlomo Melmed S, Kenneth Polonsky KS, Larsen R, Kronenberg H: Williams textbook of endocrinology. Elsevier, Philadelphia, PA 2016;13nd Edition
- 4 Dunn JT, Dunn A.D. Update on intrathyroidal iodine metabolism. Thyroid 2001 ; 1 1 :407
- 5 Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. Endocr Rev.
- 6 Gershengorn MC, Osman R. Minireview: insights into G protein-coupled receptor function. Endocrinology. 2001 ; 1 42 :2.
- 7 Lam, Alfred King-yin. Pathology of Endocrine Tumors Update: World Health Organization New Classification 2017—Other Thyroid Tumors, AJSP Reviews and Reports 2017 - Vol 22 - Issue 4 - p 209-216
- 8 Ksohn K, Paschke R. Somatic mutations in thyroid nodular disease. Mol Genet.Metab. 2002;75:202.
- 9 Dvorak K, Aggeler B, Palting J, McKelvie P, Ruzkiewicz A, Waring P: Immunohistochemistry with the anti-BRAF V600E (VE1) antibody: impact of pre-analytical conditions and concordance with DNA sequencing in colorectal and papillary thyroid carcinoma. Pathology. 2014 Oct;46(6):509-17.
- 10 Yo J, Hay KS, Vinayagamoorthy D, Maryanski D, Carter M, Wiegel J, Vinayagamoorthy T. Detection of BRAF mutations from solid tumors using Tumorplex™ technology. MethodsX. 2015 Jun 12;2:316-22.
- 11 Castro P, Rebocho AP, Soares RJ, Magalhães J, Roque L, Trovisco V, Vieira de Castro I, Cardoso-de-Oliveira M, Fonseca E, Soares P, Sobrinho-Simões M. PAX8-PPARgamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Jan;91(1):213-20.
- 12 Guan H, Ji M, Bao R, Yu H, Wang Y, Hou P, Zhang Y, Shan Z, Teng W, Xing M. Association of high iodine intake with the T1799A BRAF mutation in papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2009 May;94(5):1612-7.

- 13 Alsanea O, Clark OH . Familial thyroid cancer. *Curr Opin Oncol*. 2001 ; 1 3:44.
- 14 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009 Jan 23;136(2):215-33.
- 15 Esquela-Kerscher A1, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006 Apr;6(4):259-69.
- 16 De la Chapelle A, Jazdzewski K. MicroRNAs in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Nov;96(11):3326-36.
- 17 Rubino C, Cailleux AF, De Vathaire F, Schlumberger M. Thyroid cancer after radiation exposure. *Eur J Cancer*. 2002;38:645.
- 18 Williams D . Radiation carcinogenesis: lessons from Chernobyl. *Oncogene*. 2008;27 (suppl 2):59.
- 19 Haugen BR, Alexander EK, Bible KC et al 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016 Jan;26(1):1-133.
- 20 Kloos RT, Eng C, Evans DB, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid*. 2009; 1 9 :565.
- 21 Tuttle RM, Haugen B, Perrier ND. Updated American Joint Committee on Cancer/Tumor-Node-Metastasis Staging System for Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer (Eighth Edition): What Changed and Why? *Thyroid*. 2017 Jun;27(6):751-756.
- 22 Giuffrida D, Gharib H. Anaplastic thyroid carcinoma: current diagnosis and treatment. *Ann Oncol*. 2000; 1 1 : 1 083.
- 23 Hegedus L. Thyroid ultrasound. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2001 ;30:339.
- 24 Manjiri K. Dighe, Elastography of Thyroid Masses *Ultrasound Clin*. 2014 Jan; 9(1): 13-24.
- 25 Nayar R, Frost AR. Thyroid aspiration cytology: a "cell pattern" approach to interpretation. *Semin Diagn Pathol* 2001 ; 1 8 : 8 I .
- 26 Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. 2017 Nov;27(11):1341-1346.
- 27 Lind P, Kumnig G , Matschnig S , et al. The role of F-1 8FDG PET in thyroid cancer. *Acta Med Austriaca*. 2000;27:38.

- 28 Pacini F, Ladenson PW, Schlumberger M, et al. Radioiodine ablation of thyroid remnants after preparation with recombinant human thyrotropin in differentiated thyroid carcinoma: results of an international, randomized, controlled study. *Clin Endocrinol Metab.* 2006;9 1 :926.
- 29 Robbins RJ, Larson SM. The value of positron emission tomography (PET) in the management of patients with thyroid cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008;22: 1 047.
- 30 Schlumberger M , Sherman SI. Clinical trials for progressive differentiated thyroid cancer: patient selection, study design, and recent advances. *Thyroid.* 2009; 1 9: 1 393.
- 31 Mourmouras N, Philippou A, Christopoulos P, Kostoglou K, Grivaki C, Konstantinidis C, Serafetinides E, Delakas D, Koutsilieris M: Differential expression of igf-I transcripts in bladder cancer. *Anticancer Res* 2018;38:3453-3459.
- 32 Christopoulos PF, Corthay A, Koutsilieris M: Aiming for the insulin-like growth factor-1 system in breast cancer therapeutics. *Cancer Treat Rev* 2018;63:79-95.
- 33 Gkioka E, Msaouel P, Philippou A, Vlaghogiannis NI, Vogkou CT, Margiolis A, Koutsilieris M: Review: The role of insulin-like growth factor-1 signaling pathways in uterine leiomyoma. *In Vivo* 2015;29:637-649.
- 34 Samani AA, Yakar S, LeRoith D, Brodt P: The role of the igf system in cancer growth and metastasis: Overview and recent insights. *Endocr Rev* 2007;28:20-47.
- 35 Durzynska J, Philippou A, Brisson BK, Nguyen-McCarty M, Barton ER: The pro-forms of insulin-like growth factor 1 (igf-I) are predominant in skeletal muscle and alter igf-I receptor activation. *Endocrinology* 2013;154:1215-1224.
- 36 Philippou A, Maridaki M, Pneumaticos S, Koutsilieris M: The complexity of the igf 1 gene splicing, post translational modification and bioactivity. *Mol Med* 2014;20:202-214.
- 37 Manzella L, Massimino M, Stella S, Tirrò E, Pennisi MS, Martorana F, Motta G, Vitale SR, Puma A, Romano C, Di Gregorio S, Russo M, Malandrino P, Vigneri P.: Activation of the IGF Axis in Thyroid Cancer: Implications for Tumorigenesis and Treatment. *Int J Mol Sci.* 2019 Jul 2;20(13).
- 38 Koutsilieris M, Mitsiades C, Sourla A: Insulin-like growth factor 1 and urokinase-type plasminogen activator bioregulation system as a survival mechanism of prostate cancer cells in osteoblastic metastases: Development of anti-survival factor therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Mol Med* 2000;6:251-267.

- 39 Mitsiades CS, Mitsiades N, Koutsilieris M: The akt pathway: Molecular targets for anti-cancer drug development. *Curr Cancer Drug Targets* 2004;4:235-256.
- 40 Reyes-Moreno C, Sourla A, Choki I, Doillon C, Koutsilieris M: Osteoblast-derived survival factors protect pc-3 human prostate cancer cells from adriamycin apoptosis. *Urology* 1998;52:341-347
- 41 Philippou A, Armakolas A, Koutsilieris M: Evidence for the possible biological significance of the igf-1 gene alternative splicing in prostate cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2013;4:31.
- 42 Philippou A, Christopoulos PF, Koutsilieris DM: Clinical studies in humans targeting the various components of the igf system show lack of efficacy in the treatment of cancer. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2016;772:105-122.
- 43 Koutsilieris M, Polychronakos C: Proteinolytic activity against igf-binding proteins involved in the paracrine interactions between prostate adenocarcinoma cells and osteoblasts. *Anticancer Res* 1992;12:905-910.
- 44 Shigematsu S, Yamauchi K, Nakajima K, Iijima S, Aizawa T, Hashizume K: Igf-1 regulates migration and angiogenesis of human endothelial cells. *Endocr J* 46(Suppl): S59-62, 1999.
- 45 Brodt P, Fallavollita L, Khatib AM, Samani AA, Zhang D 2001 Cooperative regulation of the invasive and metastatic phenotypes by different domains of the type I insulin-like growth factor receptor beta subunit. *J Biol Chem* 276:33608–33615.
- 46 Philippou A, Papageorgiou E, Bogdanis G, Halapas A, Sourla A, Maridaki M, Pissimissis N, Koutsilieris M: Expression of igf-1 isoforms after exercise-induced muscle damage in humans: Characterization of the mgf e peptide actions in vitro. *In Vivo* 2009;23:567-575.
- 47 Philippou A, Barton ER: Optimizing igf-1 for skeletal muscle therapeutics. *Growth Horm IGF Res* 2014;24:157-163.
- 48 Barton ER, Park S, James JK, Makarewich CA, Philippou A, Eletto D, Lei H, Brisson B, Ostrovsky O, Li Z, Argon Y: Deletion of muscle grp 94 impairs both muscle and body growth by inhibiting local igf production. *FASEB J* 2012;26:3691-3702.
- 49 Philippou A, Maridaki M, Halapas A, Koutsilieris M: The role of the insulin-like growth factor 1 (igf-1) in skeletal muscle physiology. *In Vivo* 2007;21:45-54.
- 50 Armakolas A, Philippou A, Panteleakou Z, Nezos A, Sourla A, Petraki C, Koutsilieris M: Preferential expression of igf-1Ec (mgf) transcript in cancerous tissues of human prostate: Evidence for a novel and autonomous growth factor activity of mgf e peptide in human prostate cancer cells. *Prostate* 2010;70:1233-1242.

- 51 Thomas CG, Psarros C, Gekas A, Vandoros GP, Philippou A, Koutsilieris M: Alternative splicing of igf 1 gene as a potential factor in the pathogenesis of peyronie's disease. *In Vivo* 2016;30:251-256.
- 52 Moschos MM, Armakolas A, Philippou A, Pissimissis N, Panteleakou Z, Nezos A, Kaparelou M, Koutsilieris M: Expression of the insulin-like growth factor 1 (igf-1) and type I igf receptor mrnas in human hle-b3 lens epithelial cells. *In Vivo* 2011;25:179-184.
- 53 Milingos DS, Philippou A, Armakolas A, Papageorgiou E, Sourla A, Protopapas A, Liapi A, Antsaklis A, Mastrominas M, Koutsilieris M: Insulin-like growth factor-1ec (mgf) expression in eutopic and ectopic endometrium: Characterization of the mgf e-peptide actions in vitro. *Mol Med* 2011;17:21-28.
- 54 Papageorgiou E, Philippou A, Armakolas A, Christopoulos PF, Dimakakos A, Koutsilieris M: The human ec peptide: The active core of a progression growth factor with species-specific mode of action. *Hormones (Athens)* 2016;15:423-434.
- 55 Vassilakos G, Philippou A, Tsakiroglou P, Koutsilieris M: Biological activity of the e domain of the igf-1Ec as addressed by synthetic peptides. *Hormones (Athens)* 2014;13:182-196.
- 56 Vassilakos G, Philippou A, Koutsilieris M: Identification of the igf-1 processing product human ec/rodent eb peptide in various tissues: Evidence for its differential regulation after exercise-induced muscle damage in humans. *Growth Horm IGF Res* 2017;32:22-28.
- 57 Philippou A, Armakolas A, Panteleakou Z, Pissimissis N, Nezos A, Theos A, Kaparelou M, Armakolas N, Pneumaticos SG, Koutsilieris M: Igf1Ec expression in mg-63 human osteoblast-like osteosarcoma cells. *Anticancer Res* 2011;31:4259-4265.
- 58 Armakolas A, Kaparelou M, Dimakakos A, Papageorgiou E, Armakolas N, Antonopoulos A, Petraki C, Lekarakou M, Lelovas P, Stathaki M, Psarros C, Donta I, Galanos PS, Msaouel P, Gorgoulis VG, Koutsilieris M: Oncogenic role of the ec peptide of the igf-1Ec isoform in prostate cancer. *Mol Med* 2015;21:167-179.
- 59 Stavropoulou A, Halapas A, Sourla A, Philippou A, Papageorgiou E, Papalois A, Koutsilieris M: Igf-1 expression in infarcted myocardium and mgf e peptide actions in rat cardiomyocytes in vitro. *Mol Med* 2009;15:127-135.
- 60 Tode B, Serio M, Rotella CM, Galli G, Franceschelli F, Tanini A, Toccafondi R: Insulin-like growth factor-1: Autocrine secretion by human thyroid follicular cells in primary culture. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;69:639-647.

- 61 Pessina P, Castillo VA, César D, Sartore I, Meikle A.: Proliferation, angiogenesis and differentiation related markers in compact and follicular-compact thyroid carcinomas in dogs. *Open Vet J.* 2016;6(3):247-254.
- 62 Schmidt JA, Allen NE, Almquist M, Franceschi S, Rinaldi S, Tipper SJ, Tsilidis KK, Weiderpass E, Overvad K, Tjonneland A, Boutron-Ruault MC, Dossus L, Mesrine S, Kaaks R, Lukanova A, Boeing H, Lagiou P, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Palli D, Krogh V, Panico S, Tumino R, Zanetti R, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Lund E, Menendez V, Agudo A, Sanchez MJ, Chirlaque MD, Ardanaz E, Larranaga N, Hennings J, Sandstrom M, Khaw KT, Wareham N, Romieu I, Gunter MJ, Riboli E, Key TJ, Travis RC: Insulin-like growth factor-I and risk of differentiated thyroid carcinoma in the european prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23:976-985.
- 63 Wolinski K, Czarnywojtek A, Ruchala M.: Risk of thyroid nodular disease and thyroid cancer in patients with acromegaly-meta-analysis and systematic review. *PLoS One.* 2014 Feb 14;9(2):e88787.
- 64 Alexandraki KI, Philippou A, Boutzios G, Theohari I, Koutsilieris M, Delladetsima IK, Kaltsas GA: Igf-IEc expression is increased in secondary compared to primary foci in neuroendocrine neoplasms. *Oncotarget* 2017;8:79003-79011
- 65 Philippou A, Stavropoulou A, Sourla A, Pissimissis N, Halapas A, Maridaki M, Koutsilieris M: Characterization of a rabbit antihuman mechano growth factor (mgf) polyclonal antibody against the last 24 amino acids of the e domain. *In Vivo* 2008;22:27-35.
- 66 Fiore E, Rago T, Provenzale MA, Scutari M, Ugolini C, Basolo F, Di Coscio G, Berti P, Grasso L, Elisei R, Pinchera A, Vitti P.: Lower levels of TSH are associated with a lower risk of papillary thyroid cancer in patients with thyroid nodular disease: thyroid autonomy may play a protective role. *Endocr Relat Cancer.* 2009 Dec;16(4):1251-60.
- 67 Morgan SJ, Neumann S, Marcus-Samuels B, Gershengorn MC.:Thyrotropin and Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor Crosstalk Upregulates Sodium-Iodide Symporter Expression in Primary Cultures of Human Thyrocytes. *Thyroid.* 2016 Dec;26(12):1794-1803.
- 68 Armakolas A, Dimakakos A, Loukogiannaki C, Armakolas N, Antonopoulos A, Florou C, Tsioli P, Papageorgiou E, Alexandrou TP, Stathaki M, Spinos D, Pektasides D, Patsouris E, Koutsilieris M: Il-6 is associated to igf-1Ec upregulation and ec peptide secretion, from prostate tumors. *Mol Med* 2018;24:6.

- 69 Savvani A, Petraki C, Msaouel P, Diamanti E, Xoxakos I, Koutsilieris M: Igf-IEc expression is associated with advanced clinical and pathological stage of prostate cancer. *Anticancer Res* 2013;33:2441-2445.
- 70 Hakam A, Yeatman TJ, Lu L, Mora L, Marcet G, Nicosia SV, Karl RC, Coppola D: Expression of insulin-like growth factor-1 receptor in human colorectal cancer. *Hum Pathol.* 1999 Oct;30(10):1128-33