

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ - СКОПЈЕ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

ИНСТИТУТ ЗА ПАТОФИЗИОЛОГИЈА И НУКЛЕАРНА МЕДИЦИНА  
„Академик Исак С. Таџер“



**КЛИНИЧКО-ЕПИДЕМИОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА  
ТИРОИДНИТЕ КАРЦИНОМИ И ЗНАЧЕЊЕТО НА ЕКСПРЕСИЈА  
НА ТРАНСКРИПТИ ЗА ТУМОР СПЕЦИФИЧНИ ГЕНИ  
КАЈ ДИФЕРЕНЦИРАНИ КАРЦИНОМИ**

Докторска дисертација

Докторанд  
Д-р Тања Маказлиева

Ментор  
Проф. д-р Оливија Васкова

Д-р ТАЊА МАКАЗЛИЕВА

КЛИНИЧКО-ЕПИДЕМИОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА  
ТИРОИДНИТЕ КАРЦИНОМИ И ЗНАЧЕЊЕТО НА ЕКСПРЕСИЈА  
НА ТРАНСКРИПТИ ЗА ТУМОР СПЕЦИФИЧНИ ГЕНИ  
КАЈ ДИФЕРЕНЦИРАНИ КАРЦИНОМИ

Скопје,  
Јуни 2018

## **Благодарност**

*На моето семејство, за целосната поддршка и љубовта која ми ја даваат за да истраам во секојдневните предизвици.*

*На мојата менторка проф. д-р Оливија Васкова за значајните совети и големата поддршка во текот на целата моја едукација.*

*Голема и искрена благодарност за сите консултации и значајната помош во лабораториските анализи на колегата Александар Ефтимов, кој има исклучителен потенцијал за научно-истражувачка работа.*

*Благодарност должам и на колегите од Институтот за судска медицина, особено на колегите од Генетската лабораторија, за соработката, консултациите, одвоеното време и лабораториските услови, а без кои не би било возможно истражувањето.*

*Многу сум благодарна и на колегата Тони Трипуноски, за несебичната соработка.*

<b>СОДРЖИНА</b>	
<b>ИЗВАДОК</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>1. ВОВЕД</b> .....	15
<b>1.1 Класификација на тироидни карциноми</b> .....	15
<b>1.2 Епидемиолошки податоци за ТК</b> .....	19
<b>1.3 Етиопатогенеза на тироидни карциноми</b> .....	20
1.3.1 Надворешни етиопатогенетски фактори .....	20
1.3.2 Конституционални етиопатогенетски фактори .....	23
1.3.3 Генетски промени како етиопатогенетски фактори .....	24
<b>1.4 Дијагностички методи</b> .....	27
1.4.1 Дијагностички алгоритам на тироидни јазли .....	27
1.4.2 Терапија на тироидни карциноми .....	36
1.4.3 Дијагностичкиот алгоритам во тек на следење на пациенти со диференцирани тироидни карциноми .....	37
<b>2. МОТИВ ЗА СТУДИЈАТА</b> .....	39
<b>3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО</b> .....	40
<b>4. ХИПОТЕЗИ</b> .....	41
<b>5. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ</b> .....	42
<b>5.1 Дизајн на истражувањето</b> .....	42
<b>5.2 Материјали</b> .....	42
<b>5.3 Методи</b> .....	44
5.3.1 Методи на регистрирање и систематизирање на податоците .....	44
5.3.2 Молекуларни лабораториски методи .....	45
5.3.2.1 <i>Изолација на тотална РНК</i> .....	46
5.3.2.2 <i>Реверзна транскриптна полимераза верижна реакција</i> .....	47
5.3.2.3 <i>Релативна квантификација на резултатите со употреба                 на <math>2^{-\Delta\Delta Ct}</math> метод</i> .....	48
<b>6. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА</b> .....	50

<b>7. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	52
<b>7.1 Анализа на појава на ТК (1966 - 2015 година)</b> .....	52
7.1.1 Динамика на појава на ТК (1999 - 2015 година) .....	52
7.1.2 Динамика на појава на ТК (1966 - 1988 година) .....	54
7.1.3 Проценка на очекуваната динамика на појава на ТК (1989 - 1998 година) ...	56
7.1.4 Динамика на појава на ТК (1966 - 2015 година) .....	58
<b>7.2 Инциденција и преваленција на ТК (1999 - 2015 година)</b> .....	58
7.2.1 Инциденција на ТК по години (1999 - 2015 година) .....	59
7.2.2 Годишна инциденција на ТК по региони (1999 - 2015 година) .....	61
7.2.3 Годишна инциденција на ТК по пол (1999 - 2015 година) .....	64
7.2.4 Преваленција на ТК по пол и региони (1999 - 2015 година) .....	66
7.2.5 Преваленција на ТК по возрастни групи и по пол (1999 - 2015 година) .....	68
<b>7.3 Генерални демографски карактеристики на ТК според хистопатолошки типови на ТК (1999 - 2015 година)</b> .....	69
7.3.1 Анализа на ТК според одредени генерални карактеристики .....	69
7.3.1.1 Анализа на хистопатолошките типови на ТК според три временски периоди .....	69
7.3.1.2 Анализа според временски периоди и подтипови на хистопатолошки наод .....	72
7.3.1.3 Анализа на дистрибуцијата на хистопатолошките типови на ТК според пол .....	73
7.3.1.4 Анализа на дистрибуцијата на хистопатолошките типови на ТК според возраст .....	75
7.3.1.5 Анализа на хистопатолошките типови на ТК според возраст и пол .....	77
7.3.1.6 Анализа на дистрибуција на хистопатолошки типови на ТК по националност .....	80
7.3.1.7 Анализа по фамилијарна историја .....	82
7.3.1.8 Анализа според статистички региони .....	83
<b>7.4 Клинички карактеристики на ТК (1999 - 2015 година)</b> .....	85
7.4.1 Анализа на ултрасонографските карактеристики според хистопатолошки типови на ТК .....	85
7.4.1.1 Анализа на ултрасонографскиот изглед на тироидната жлезда на прв преглед во поглед на присуство и број на јазли .....	85
7.4.1.2 Анализа на хистопатолошки типови на ТК според ехогеност на јазолот .....	87
7.4.1.3 Анализа на хистопатолошки типови на ТК според присуството на калцинација во описот на иницијалниот ехографски наод .....	89

7.4.1.4	Анализа на хистопатолошки типови на ТК според предоперативниот наод од ( $^{99m}\text{Tc}$ ) пертехнетатен скен на тироидната жлезда .....	90
7.4.1.5	Анализа на хистопатолошки типови на ТК според тироиден хормонален статус .....	92
7.4.2	Анализа на ТК според димензијата на туморот на иницијалниот ултрасонографски наод .....	93
7.4.2.1	Анализа според димензијата на туморот на иницијален ехо преглед и според хистопатолошки тип на ТК .....	93
7.4.2.2	Анализа на димензијата на туморот на иницијаен ултрасонографски преглед според временски периоди .....	93
7.4.2.3	Анализа според палпаторен наод на прв преглед и димензијата на туморот .....	96
7.4.2.4	Анализа според присуство на метастази во лимфни јазли на прв преглед и димензиите на туморот на прв преглед .....	98
7.4.2.5	Анализа според позиција на туморот во тироидната жлезда и димензијата на прв преглед .....	98
7.4.3	Анализа на ТК според постоперативни компликации .....	100
7.4.3.1	Анализа на постоперативни компликации според димензии на тумор на иницијален ултрасонографски наод .....	100
7.4.3.2	Анализа на постоперативни компликации според позиција на туморот во тироидната жлезда од иницијалниот ултрасонографски наод .....	101
7.4.4	Анализа според присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед кај ДТК .....	102
7.4.4.1	Анализа според метастази во регионални вратни лимфни јазли на прв преглед и вкупна доза на радиојодна терапија кај ДТК .....	102
7.4.4.2	Анализа според присуство на метастази во регионални вратни лимфни јазли на прв преглед и бројот на спроведени радиојодни терапии .....	103
7.4.5	Анализа според присуство на далечни метастази .....	104
7.4.5.1	Анализа на корелацијата меѓу присуство на далечни метастази со хистопатолошки типови на ТК .....	105
7.4.5.2	Анализа на корелацијата на присуство на далечни метастази со вкупна доза на радиојодна терапија .....	105
7.4.5.3	Предиктивна улога на одредени параметри за далечни метастази .....	106
7.4.6	Предиктивна улога на одредени параметри за вкупна доза на радиојодни терапии .....	108

7.4.7	Анализа според време на следење на пациентите .....	112
7.4.7.1	Анализа според време на следење и хистопатолошки типови на ТК .....	112
7.4.7.2	Анализа според време на следење и вкупна доза на радиојодна терапија .....	114
7.4.8	Анализа според должината на периодот од операција до аблација со $^{131}\text{I}$ ...	115
7.4.8.1	Анализа според период од операција до аблација со $^{131}\text{I}$ и наод на последно ехо .....	115
7.4.9	Анализа според наод од тенкоиглена биопсија – ФНАБ .....	116
7.4.10	Анализа според резултат од следење .....	117
7.4.11	Анализа на време на преживување .....	118
7.4.11.1	Униваријантен <i>Cox Proportional model</i> – влијание на одредени параметри на времето на преживување .....	120

**\*Втор дел од истражувањето\***

<b>7.5</b>	<b>Експресија на транскрипти за тумор специфични гени .....</b>	<b>123</b>
7.5.1	Дескрипција на примероци за експресија на транскрипти за тумор специфични гени .....	123
7.5.1.1	Релативна квантификација на експресијата со употреба на $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ .....	126
7.5.1.2	Споредба на четири групи по вредноста $\Delta\text{Ct} = (\text{TSHR} - \text{GAPDH})$ за <i>TSHR</i> генот .....	126
7.5.1.3	Споредба на две групи по вредноста $\Delta\text{Ct} = (\text{TSHR} - \text{GAPDH})$ за <i>TSHR</i> генот .....	128
7.5.1.4	Споредба на четири групи по вредноста $\Delta\text{Ct} = (\text{Tg} - \text{GAPDH})$ за <i>Tg</i> генот .....	129
7.5.1.5	Споредба на две групи по вредноста $\Delta\text{Ct} = (\text{Tg} - \text{GAPDH})$ за <i>Tg</i> генот .....	131
7.5.1.6	Корелација меѓу серумски тиреоглобулин ( <i>sTg</i> ) и вредноста на $\Delta\text{Ct} = (\text{TSHR} - \text{GAPDH})$ за <i>TSHR</i> генот .....	132
7.5.1.7	Корелација меѓу серумски тиреоглобулин ( <i>sTg</i> ) и вредноста на $\Delta\text{Ct} = (\text{Tg} - \text{GAPDH})$ за <i>Tg</i> генот .....	134
7.5.1.8	Корелација меѓу <i>TSH</i> во серум и вредностите на $\Delta\text{Ct} = (\text{TSHR} - \text{GAPDH})$ за <i>TSHR</i> генот за група 4 .....	136
7.5.1.9	Корелација меѓу <i>TSH</i> во серум и вредностите на $\Delta\text{Ct} = (\text{Tg} - \text{GAPDH})$ за <i>Tg</i> генот за група 4 .....	137
7.5.1.10	Корелација меѓу слободен тироксин ( <i>FT4</i> ) и вредностите на $\Delta\text{Ct} = (\text{TSHR} - \text{GAPDH})$ за <i>TSHR</i> генот за група 4 .....	138

7.5.1.11 Корелација меѓу слободен тироксин (FT4) и вредностите на $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$ за Tg генот за група 4 .....	139
7.5.1.12 Корелација меѓу вкупна радиојодна доза (RAI) и вредностите на $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$ за TSHR генот (група 1, група 2 и група 3) .....	140
7.5.1.13 Корелација меѓу радиојодна доза (RAI) и вредностите на $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$ за Tg генот (група 1, група 2 и група 3) .....	141
7.5.1.14 Корелација меѓу стадиумот на болеста при дијагностицирање и вредностите на $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$ за TSHR генот (група 1, група 2 и група 3) .....	142
7.5.1.15 Корелација меѓу стадиумот на болеста при дијагностицирање и вредностите на $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$ за Tg генот (група 1, група 2 и група 3) .....	143
7.5.1.16 Корелација меѓу WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$ за TSHR генот (група 1, група 2 и група 3) .....	144
7.5.1.17 Корелација меѓу WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$ за Tg генот (група 1, група 2 и група 3) .....	145
<b>8. ДИСКУСИЈА</b> .....	146
<b>8.1 Истражување на карактеристики на ТК</b> .....	146
8.1.1 Анализа на епидемиолошките и општи демографски податоци .....	146
8.1.2 Анализа на клиничките карактеристики .....	156
8.1.3 Анализа на предиктивните прогностички параметри .....	161
<b>8.2 Дискусија за вториот дел од истражувањето</b> .....	165
<b>9. ЗАКЛУЧОЦИ</b> .....	177
<b>ИНДЕКС НА КРАТЕНКИ</b> .....	181
<b>ЛИТЕРАТУРА</b> .....	184



## ИЗВАДОК

### ВОВЕД

Тироидните карциноми (ТК) претставуваат спектар на различни тумори со многу различно биолошко однесување и прогноза. Етиолошките причинители за развој на тироидни малигноми се мултифакторијални и тие вклучуваат, надворешни влијанија, комплементарни на конституционални предиспозиции и генетски етиолошки фактори. ТК се детектираат во 5% – 10% од регистрираните тироидни нодуси според податоците од литературата. Според хистопатолошките карактеристики се поделени на тумори од епително и неепително потекло, но во секојдневната клиничка пракса најчесто се дијагностицираат туморите кои потекнуваат од епителните фоликуларни клетки. Оваа група може уште да се подели на добро диференцирани, лошо диференцирани и недиференцирани ТК. Со помала фреквенција се застапени тироидни малигноми кои потекнуваат од невроендокрините калцитонин продуцирачки С-клетки во кои припаѓа медуларниот тироиден карцином, а најретки форми на тироидни неоплазми се примарните тироидни лимфоми кои потекнуваат од интратироидното лимфно ткиво и примарните тироидни саркоми, кои се развиваат најверојатно од клетките на интратироидното сврзно ткиво. Молекуларните механизми инволвирани во патогенезата на ТК се меѓу најистражените и може да ги поделиме на генетски и епигенетски промени. Генетските промени можат да се класифицираат, како јадрени генетски мутации или митохондријални генетски мутации, генетско преуредување, губиток на хетерозиготност, додека епигенетските промени можат да бидат ДНК метилација, хистон модификација и генетско стишување (silencing) преку микро РНК.

### ЦЕЛИ

Целите на нашето истражување беа да се анализираат епидемиолошките и клинички карактеристики на дијагностицираните пациенти со тироидни карциноми на Институтот за периодот од 1999 до 2015 како и да се формира регионален регистар од податоците; да се направи споредба меѓу епидемиолошките и клиничките карактеристики на тироидните карциноми од претходните студии на Институтот за периодот од 1966 до 1988 година, кога се спроведувала првичната јодна профилакса со 10 мг КJ/1кг сол, со податоците од нашето истражување кои се однесуваат за периодот од 1999 до 2015 година, по спроведувањето на јодната профилакса со 20 – 30 мг КJО<sub>3</sub>/ 1 кг сол, да се примени методата на одредување

на експресија на транскрипти за тумор специфични гени, со детекција на *mRNK-Tg* и *mRNK-TSHR*, да се воспостави методологијата, која се базира на молекуларни биолошки техники и да се анализираат првичните прелиминарни резултати од дијагностичката метода и да се компарираат резултатите меѓу здравите контроли и пациентите со тироиден карцином, како и да се споредат наодите од анализата меѓу различните групи на тироидни пациенти, одредени според вредностите за серумскиот Тг, јоден скен на цело тело и ултрасонографија на вратна регија.

## РЕЗУЛТАТИ

Анализата покажа дека постои тренд на пораст во инциденцијата на ТК во нашата популација споредено со претходните анализи од 1966 - 1988, а особено голем пораст е забележан во периодот 2011 - 2015. Пресметавме дека во Р. Македонија просечната инциденција на ТК во испитуваниот период од 17 години (1999 - 2015) изнесувала  $1,22/10^5$  жители. Порастот во инциденцијата главно се должи на пораст на ПТК и споредено со анализите од претходните автори за нашата територија 1966 - 1988, постои значајна редистрибуција меѓу хистопатолошките типови, односно значајно намалување на учеството на АТК и ФТК во вкупниот број на ТК, за сметка на ПТК, односно промена на хистопатолошките варијанти од поагресивни типови на тумори, кон поиндолентни ТК. Регистрираната промена во застапеноста на хистопатолошките варијанти може да заклучиме дека се должи на спроведената јодна профилакса на нашата територија, а сличен ефект е детектиран и во други земји со јоден дефицит, по воведување на јодната суплементација. Коксовиот соодносен модел, како сигнификантни предиктори за времето на преживување, издвои четири параметри: возраст, зголемени лимфни јазли на прв преглед, вкупна доза на радиојодни терапии, и хистопатолошки наод. Возраста  $>45$  години во однос на онаа  $\leq 45$  години, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 42,9% секој месец и хистопатолошки наод - *Ca folliculare* во однос на *Ca papillare*, сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот смрт за 46,2% секој месец. Анализата за детекција на циркулирачки туморски клетки со методата на РТ-ПВР, покажа дека со едноставна, повторлива лабораториска метода може да се детектира експресија на тумор специфични транскрипти. Утврдивме статистички сигнификанта разлика во релативната експресија на двете групи пациенти со некомплетен одговор, наспроти релативната експресија кај здравите лица и кај пациентите со комплетен одговор на терапијата. Експресија на двата транскрипти детектиравме и кај повеќето здрави лица и кај пациентите со комплетен одговор на терапијата, односно пациенти кај кои е спроведена тотална тироидектомија и е дадена аблативна радиојодна терапија и имаат ниски вредност за сТг и отсуство на перзистирачка болест на US и WBS. Овој наод може да се должи на

ектопична транскрипција во лимфоцити, фибробласти и други клетки кај кои е докажана експресија на соодветните гени. Сепак вредностите се сигнификантно пониски споредено со вредностите за пациентите со перзистирачка болест.

## ЗАКЛУЧОК

Истражувањето покажа постојан тренд на пораст на инциденцијата на ТК во нашата популација споредено со претходните анализирани периоди. Порастот може делумно да се должи на подобрената дијагностика, но неможе да се исклучат и други надворешни фактори. Утврдивме значајно намалување на поагресивните форми на ТК (АТК и ФТК) за сметка на пораст на поиндолентните типови на ТК (ПТК) и сметаме дека се должи на спроведената јодна профилакса, со оглед на фактот што сличен ефект е забележан и во други популации по воведување на јодна профилакса. Анализата покажа дека димензијата на туморот и хистопатолошкиот тип се независни значајни прогностички фактори во преживувањето. Нашата студија одредување на тумор специфични транскрипти во периферна крв покажа статистички сигнификантна интергрупна разлика во пресметаната вредност за нормализираните прагови циклуси меѓу пациентите и контролните групи, за двата гени, но позначајно статистички за *mRNK-TSHR*, што укажува на можноста да се примени во следење на пациентите со ТК, но за точно евалуирање на сензитивност, специфичноста потребно е развивање на апсолутна квантитативна метода, генерирање на стандардна крива и вклучување на поголем број испитаници.

**Клучни зборови:** Тироидни карциноми, епидемиологија, експресија на *mRNK-TSHR*, експресија на *mRNK-Tg*.

## ABSTRACT

### INTRODUCTION

Thyroid carcinomas (TC) comprise a spectrum of different tumors with wide range of biological behavior and prognosis. Aetiology involved in the development of TC is multifactorial and includes external influences, as well as constitutional predispositions and genetic etiological factors. TC are detected in 5%-10% from all diagnosed thyroid nodules, according to literature data. According to histopathological features TC are grouped in neoplasm originating from epithelial and non-epithelial cells, but in the clinical practice tumors from follicular epithelial cell origin predominate. This group of tumors can be further divided into differentiated TC, poorly differentiated and undifferentiated TC. Medullary thyroid carcinomas originating from neuroendocrine calcitonin-producing C-cells are represented less frequently. Very rare forms of primary thyroid neoplasm are thyroid lymphomas arising from intrathyroidal lymphatic tissue and thyroid sarcomas, developing probably from cells of the intrathyroidal connective tissue. Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of TC can be divided into genetic and epigenetic alterations. Genetic alterations can also be classified as nuclear genetic mutations, genetic rearrangements and loss of heterogeneity, while epigenetic changes can be DNA methylation, histone modification and genetic silencing through microRNA.

### OBJECTIVES

It was our aim to analyze the epidemiological, demographic and clinical features of TC in R. Macedonia according to histopathological type for the period 1999 - 2015 and to create regional thyroid cancer register. In addition we wanted to compare the epidemiological and clinical features of TC from previous studies 1966 - 1988, during introduction of the first iodine prophylaxis programme with 10 mg KJ/1 kg salt, with data from 1999 - 2015 when iodine supplementation programme was introduced with 20-30 mg KJO<sub>3</sub>/1 kg salt. The objective of our second study was to introduce and apply a method for determination of thyroid tumor specific transcripts in peripheral blood samples, more exactly expression of mRNA-Tg and mRNA-TSHR, and to analyze and compare results obtained in healthy controls with those of thyroid carcinoma patients as well as to correlate results from RT-PCR with serum thyroglobulin levels and with findings from <sup>131</sup>I - whole body scan and neck ultrasound.

## RESULTS

Our analysis revealed continuous trend of increase in incidence rate of thyroid carcinomas in our population, compared with previous data from 1966 - 1988; the greatest increase in incidence rate was recorded for the period 2011 - 2015. Average incidence rate for the period of 17 years (1999 - 2015) in our country was 1,22/105. The increase in incidence rate was mainly due to increase of papillary thyroid carcinoma (PTC) and according to previous data (1966 - 1988) referring to R. Macedonia, there has been a remarkable redistribution among different histopathological types with a reduced number of anaplastic (ATC) and follicular thyroid carcinoma (FTC) cases at the expense of an increased number of PTC, and change of aggressive with more indolent variants of TC. This change in frequency of different histopathological types is probably due to iodine supplementation programme in R. Macedonia and a similar effect was also observed in other countries after iodination. Cox proportional model showed four significant predictors for survival: age, enlarged neck lymph nodes at initial examination, total received  $^{131}\text{I}$  - therapy dose and histopathological type of tumor. Age >45 years compared to  $\leq 45$  years was associated with significantly increased probability ( $p < 0.05$ ) for cancer specific mortality by 42.9%/month and histopathological type – follicular carcinoma compared to papillary carcinoma was associated with significantly increased probability ( $p < 0.05$ ) for cancer specific mortality by 46.2%/month. Our analysis showed that with simple, repeatable assay it is possible to detect expression of thyroid tumor specific transcripts in peripheral blood. Relative expression showed a statistically significant difference between two groups with incomplete response to treatment and excellent response group and healthy controls. Expression of transcripts for both genes was detected in samples of almost all healthy controls (except in 3) and in patients with excellent response to treatment, who were previously treated with total thyroidectomy and received radioiodine ablation and have low ( $< 0.2$  ng/ml) sTg levels and absence of elements for persistent disease on ultrasound (US) and whole body scan (WBS). This finding may be due to illegitimate transcription in lymphocytes, fibroblasts and other cells. Besides these facts, detected expression was significantly lower in this group compared to patients with persisting disease.

## CONCLUSIONS

Our study revealed a continuous trend of increase in incidence rate of TC in our population. This increase may be partly due to improved diagnostics, however environmental influences could not be excluded. We have detected a significant reduction in aggressive forms of TC (ATC and FTC) on account of increase of more indolent type of PTC and we can conclude that this is due to introduction of iodine prophylaxis programme, as similar effects were detected in other populations after introduction of iodine supplementation. The analysis showed that tumor dimension at initial examination and histopathological type of the tumor are two independent

prognostic factors of survival rate. Our study results obtained in measurement of expression of tumor specific transcripts in peripheral blood have indicated that it could be a useful laboratory test in monitoring patients with DTC, but further development of absolute quantification method, generation of standard curve and involvement of larger cohort of subjects is necessary for exact evaluation of sensitivity and specificity of the method.

**Keywords: Thyroid carcinomas, epidemiology, mRNA-TSHR expression, mRNA-Tg expression.**

## 1. ВОВЕД

### 1.1 Класификација на тироидни карциноми

Тироидните малигноми се хетерогена група неоплазми. Според класификацијата предложена од Светската здравствена организација (СЗО), се разликуваат две основни варијанти на тироидни тумори: тумори од епително потекло и тумори од неепително потекло.

*Во групата тумори од епително потекло се вбројуваат:*

#### 1. Фоликуларни епителни тумори:

##### А) Бенигни:

- фоликуларни аденоми (ФА);

##### Б) Тумори со неодреден малиген потенцијал:

- хијалинизирачки трабекуларни тумори;
- енкапсулирани фоликуларни тумори со нејасен малиген потенцијал;

##### В) Малигни тумори од фоликуларно епително потекло:

- папиларни тироидни карциноми (ПТК);
- фоликуларни тироидни карциноми (ФТК);
- лошо диференцирани тироидни карциноми (ЛДТК);
- недиференциран (анапластичен) тироиден карцином (АТК).

#### 2. Тумори што потекнуваат од калцитонин секретирачки С-клетки:

- медуларен тироиден карцином (МТК).

#### 3. Мешани тумори што потекнуваат и од фоликуларните епителни клетки и од парафоликуларните С-клетки:

- мешана фоликуларна и медуларна варијанта на тироидни карциноми и
- мешана папиларна и медуларна варијанта на тироидни карциноми.

#### 4. Епителни тумори од непознато потекло:

- мукоепидермоиден карцином;
- склерозирачки мукоепидермоиден карцином со еозинофилија;
- муцинозен карцином;
- ектопичен тимом;
- вретенесто клеточен епителен тумор со тимус - слична диференцијација - (анг. SETTLE);
- карциноми што покажуваат тимус - слична диференцијација – (анг. Carcinoma showing thymus – like differentiation - CASTLE).

Во групата тумори од неепително потекло спаѓаат:

- примарен лимфом или плазмоцитом;
- ангиосарком;
- тератом;
- тумори од мазна мускулатура;
- тумори на обвивката на периферни нерви (Peripheral nerve sheath tumor);
- параганглиом;
- солитарен фиброзен тумор;
- хематолимфоидни тумори (Langerhans cell histiocytosis, Rosai-Dorfman disease, Follicular dendritic cell sarcoma, Primary thyroid lymphoma);
- тумор од герминативни клетки (Germ cell tumors);
- секундарни тумори [1,2].

Според хистопатолошките карактеристики, во секојдневната клиничка пракса најчесто се дијагностицираат туморите што потекнуваат од епителните фоликуларни клетки. Оваа група може уште да се подели на добро диференцирани, лошо диференцирани и недиференцирани тироидни карциноми (ТК). Со помала фреквенција се застапени тироидните малигноми што потекнуваат од невроендокрините калцитонин продуцирачки С-клетки во кои припаѓа медуларниот тироиден карцином, а најретки форми на тироидни неоплазми се примарните тироидни лимфоми што потекнуваат од интратироидното лимфно ткиво и примарните тироидни саркоми, кои се развиваат, најверојатно, од клетките на интратироидното сврзно ткиво [3-5]. Најчесто застапени примарни тироидни тумори се добро диференцираните од кои папиларните тироидни карциноми (ПТК) се најзастапената варијанта на ТК, со застапеност од околу 80%, според податоците од литературата [6-8]. Оваа категорија на ТК не е хомогена, односно опишани се повеќе хистопатолошки варијанти на папиларни карциноми, и тоа: типична, фоликуларна варијанта, папиларни микрокарциноми, висококлеточна варијанта (tall cell), онкоцитна (oncocytic), варијанта со цилиндрични клетки (columnar cell), дифузно склерозирачка (diffuse sclerosing), солидна (solid), clear cell, решеткаста (cribriform morular), макрофоликуларна, ПТК со строма слична на фасциит (fasciitis – like stroma), релативно редок и од понов датум опишан Вартин (Warthin) – сличен ПТК, комбиниран папиларен и медуларен карцином и папиларен карцином со дедиференцирање во анапластичен карцином [6-9]. Подваријантите на ПТК имаат свои карактеристики во поглед на агресивноста и прогностичкиот тек. Најчеста е типичната и фоликуларна варијанта на ПТК. Прогностички најнеповолните варијанти се висококлеточната (tall cell) и дифузно склерозирачката варијанта на ПТК. Макроскопски ПТК најчесто се опишуваат како сиво-белузлави јазолчиња со инфилтративен раст во околното ткиво, кои можат да бидат презентирани како солидни, поретко чисто цистични, а најчесто со мешани солидни и цистични елементи во туморозното ткиво. Капсуларната инвазија и екстратироидното инфилтрирање се детектираат нешто почесто



од васкуларната инвазија [10]. Главни, заеднички хистопатолошки одлики се присуството на *psammoma*-телца и јадрени промени со изглед на заматено стакло. Хистопатолошките јадрени карактеристики кај ПТК се значајни, но не и специфични, бидејќи се опишани и кај хроничниот тироидит и кај фоликуларните аденоми [4].

Во категоријата на добро диференцирани ТК припаѓаат и фоликуларните карциноми (ФТК). Во поглавјето *Класификација на тумори од ендокрино потекло на СЗО (WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs)*, ФТК се дефинираат како малигни епителни тумори што покажуваат фоликуларна клеточна диференцијација, а немаат дијагностички јадрени карактеристики на ПТК [1]. Податоците од студијата на Manuel Sobrinho-Simões и сор. укажуваат на регистриран пад во инциденцијата на оваа категорија тироидни малигноми од не сосема јасни причини. Се смета дека една од причините за зачестената детекција на фоликуларната варијанта на ПТК е вклучувањето на оваа хистопатолошка подгрупа во ПТК, а се претпоставува дека намалувањето на појавата на ФТК се должи и на воведувањето на програмите за корекција на јодниот дефицит во повеќето региони [11]. ФТК учествуваат со околу 10% застапеност во вкупниот број на ТК. ФТК според начинот на инфилтративен раст и инвазивност кон васкуларните елементи и капсулата се поделени на: минимално инвазивен ФТК и широко инвазивен ФТК, а според СЗО, во ФТК се вклучува и поретката онкоцитна *Hurtle cell*-варијанта на ТК [12-14]. Најголемиот дијагностички предизвик е во точното разграничувања на фоликуларните аденоми од минимално инвазивните ФТК, како и диференцирањето меѓу минимално инвазивните фоликуларни карциноми и инкапсулираните фоликуларни варијанти на ПТК [12]. За разлика од ПТК, ФТК вообичаено се презентираат како солитарни тироидни тумори.

Лошо диференцирани тироидни карциноми - ЛДТК (Poorly differentiated thyroid carcinoma - PDTC), како посебна категорија помеѓу добро диференцираните карциноми и анапластичниот тироиден карцином, се првично опишани во 1983 година, а во класификацијата на СЗО за тироидни тумори се вклучени од 2004 година според предложениот дијагностички алгоритам базиран на присуството на солидни/трабекуларни/инсуларни карактеристики, отсуство на типичните јадрени белези на ПТК и високоризични хистопатолошки карактеристики. На конференцијата одржана две години подоцна (2006) во Турин, се направила анализа на хистопатолошката категорија ЛДТК и се утврдиле значајни географски разлики во вклучувачките критериуми на категоријата ЛДТК - тироидните тумори [15]. Во анализата спроведена во Турин се утврдило извесно совпаѓање на солидните и висококлеточните ПТК и ФТК-варијанти со предоминантно солиден и трабекуларен раст [16]. Во 1984 год. за прв пат бил опишан инсуларен тип на ТК (ИТК) од страна на Carcangiu и сор., како посебен клиничко-патолошки ентитет. ИТК се карактеризира со присуство на островца сочинети од мали, униформни клетки, во некои случаи асоцирани со мали тиреоглобулин-содржечки фоликули. ИТК според хистопатолошките, прогностичките карактеристики и поголемата агресивност во текот на болеста, е вклучен во подгрупата на ЛДТК [17,18].

Недиференциран или анапластичен тироиден карцином (АТК) е ретка форма на ТК, застапен со само 1% – 2% во вкупниот број случаи на ТК, но со многу агресивна биологија, кој во вкупната морталитетна стапка од ТК учествува со 14% - 50% и со просечно време на преживување од 3 – 5 месеци и покрај употребата на мултимодалитетна терапија [19].

Медуларниот тироиден карцином (МТК) се развива од парафоликуларните клетки и е застапен со 3% – 5% во вкупниот број тироидни тумори. Макроскопски најчесто се карактеризира како солиден, цврст јазол со сивкаста боја, а микроскопски со мали најчесто тркалезни клетки со тркалезни јадра и сол/бибер (анг. salt/paper) изглед на хроматинот во јадрата и со амилоидни депозити од калцитонин присутни во стромата. Во МТК се разликуваат спорадични случаи и мултипна ендокрина неоплазија тип 2 (МЕН2). Кај овој синдром се разликуваат поттиповите МЕН2А и МЕН2Б - генетски синдроми кои вклучуваат и други ендокрини жлезди. Во МЕН2А, покрај МТК, постои ризик од развој на паратироиден аденом или хиперплазија, а во МЕН2Б, мукозни неурини на усните и јазикот, ганглионеуроматоза на гастроинтестинален тракт, марфаноиден хабитус. Во двата поттипа постои зголемен ризик од развој на феохромоцитом. Посебна варијанта е фамилијарен тип, кој вообичаено е неповрзан со други МЕН-асоцирани ендокрини тумори. Герминативната *RET*-мутација се детектира во најголемиот дел од херeditарните случаи [20].

Примарниот интратироиден лимфом е исто така ретка манифестација на тироидна неоплазма, застапен со 5% во однос на тироидните малигноми, а со околу 3% во *non-Hodgkin* лимфомите. Примарниот интратироиден лимфом се поврзува со претходно коегзистирачки автоимун Hashimoto тироидит, но само во 0,6% од пациентите со автоимун тироидит се развива интратироиден лимфом. Во поглед на хистопатолошките и прогностички карактеристики се опишуваат два ентитета: мукозно-асоцирано лимфоидно ткиво (МАЛТ) тумори, кои се со подобри прогностички карактеристики, и дифузен Б-клеточен лимфом, со полоша прогноза, а опишани се и поретки мешани форми на интратироидни лимфоми. Останати форми на примарни тироидни лимфоми, како фоликуларен лимфом, класичен Hodgkin и Т-клеточен лимфом се значајно поретки [21].

Малигните, како и бенигните неепителни тироидни тумори се невообичаени, но во литературата постојат опишани случаи на интратироидни саркоми со честота на појавување до 1% учество во сите тироидни малигноми. Објавени се неколку случаи на фибросаркоми, хемангиосаркоми, остеохондросаркоми, малигни хемангиоперицитоми, како и карциносаркоми, кои се развиваат од епителните и стромални елементи во тироидната жлезда. Овој поттип на тироидни тумори се карактеризираат со голема агресивност, слична на анапластичниот карцином и со кратко преживување, и покрај примена на агресивна мултимодалитетна терапија (оперативно лекување – тотална тироидектомија и лимфаденектомија, екстерна радиотерапија и хемотераписки протокол) со просечно време на преживување од 6 месеци [22].

Секундарните метастатски депозити во тироидната жлезда се ретка варијанта на тироиден малигнитет, главно се резултат на *per continuitatem* инфилтрација од примарен

карцином на ларинкс, езофагус или се резултат на хематогена дисеминација од примарен карцином на дојка, бели дробови, бубрези или малиген меланом [10].

## 1.2 Епидемиолошки податоци за ТК

Епидемиолошките податоци укажуваат дека ТК се најчестите ендокрини неоплазми, а според последните податоци тие учествуваат со околу 1% во сите малигни заболувања [23-25]. Епидемиолошките податоци на Националниот институт за карцином на САД (US National Cancer Institute) од програмата Преживување, епидемиологија и крајни резултати (Surveillance, Epidemiology and End Results - SEER) за периодот од 1975 до 2012 година покажуваат дека бројот на новодијагностицирани случаи на ТК изнесувал 13,5 на 100 000 жители годишно. Бројот на смртни случаи изнесувал 0,5 на 100 000 годишно и е проценето дека кај околу 1,1% од населението ќе биде дијагностициран ТК во даден момент во животот, екстраполирано според статистичките податоци на населението во Америка во периодот од 2011 до 2012 година [26]. Според податоците објавени во препораките од 2015 година на Американското тироидно здружение, годишната инциденција за добро диференцирани ТК речиси се триплирала од само 4,9 на 100 000 жители во 1975 година, до 14,3 на 100 000 во 2009 година. Наодите покажале дека речиси целиот пораст се должи на сметка на порастот на ПТК, притоа во 39% од случаите регистрирани во 2008/09 биле < 1cm [27]. Carlo La Vecchia и сор. објавуваат детална епидемиолошка студија во поглед на инциденцијата, преваленцијата и морталитетот од ТК во повеќе земји во Европа, Северна Америка, Централна и Јужна Америка и Азија, користејќи ги податоците од СЗО. Главните заклучоци во студијата се дека најголем пораст на морталитетот е детектиран во земјите од Централна Америка и Азија, како и во земјите од Источна и Централна Европа, а најнизок морталитет во земјите од Западна Европа и Северна Америка. Значаен податок од оваа студија е дека сепак постои континуиран пад во морталитетот воопштено гледано, но дека постои исто така континуиран пораст во инциденцијата на ТК во последните декади во сите земји вклучени во епидемиолошката анализа низ различните континенти.

Истражувањата биле во насока на утврдување на одредени експозициони географски ризик-фактори кои придонесуваат за промената во морталитетот и инциденцијата. Во регионите со висок морталитет се вклучени територии со јоден дефицит во минатото, а во кои е најголема и инциденцијата на бенигните тироидни заболувања, струма и бенигни тироидни јазли/аденоми, промени кои се сметаат како најзначаен ризик-фактор за развој на тироидните малигноми [28].

Заклучокот од оваа и слични студии укажуваат дека, зголемената инциденција на ТК се должи и на подобрената дијагностика и детекција на микрокарциномите со димензии под 1cm, а според други, еден од доминантните ризик-фактори се смета дека е порастот на експозиционата доза на јонизирачко зрачење, особено преку зголемената примена во дијагностички и терапевтски цели [29, 30].

### 1.3 Етиопатогенеза на тироидни карциноми

#### 1.3.1 Надворешни етиопатогенетски фактори

Етиолошките причинители за развој на тироидни малигноми се мултифакторијални, и тие вклучуваат надворешни влијанија, комплементарни на конституционални предиспозиции, и генетски етиолошки фактори [3]. Поради хетерогениот карактер на оваа група неоплазми по клетките од кои потекнуваат, хистопатолошките варијанти, разликите во генетските фактори, тераписките протоколи и прогнозата, ќе се фокусираме на етиопатогенезата на добро диференцираните ТК, кои потекнуваат од епителните фоликуларни клетки. Најдобро познатиот етиопатогенетски фактор во онкогенезата на ТК е радијационата експозиција на вратната регија во детска возраст, за која во повеќе студии е покажано дека сигнификантно го зголемува ризикот од развој на тироиден малигном. Првичните забележувања на поврзаноста меѓу радијационата експозиција на вратната регија во детска возраст и зголемениот релативен ризик за развој на ТК се должат на студиите на деца, кај кои во периодот меѓу 1940 - 1950 година била применувана локална ирадијациона терапија на глава и врат во терапија на инфекции и инфламации во тонзиларна и назофарингеална регија, ирадијација во терапија на акни или ирадијација на тимус [31]. Пролонгираното следење на оваа категорија деца, покажало зачестена појава на нодуларни промени во тироидната жлезда, а кај значаен дел од оваа група деца се дијагностицирани ТК [32, 33].

На првичните анализи се надоврзуваат и податоците кај експонираното население во Хирошима и Нагасаки по атомското бомбардирање. Една од најтемелните анализи на оваа проблематика е дадена во студијата на Furukawa и сор [33]. Студијата е автентична и има посебен придонес поради фактот што е спроведено следење и евалуирање на голем број лица во периодот од 1958 до 2005, односно 105 401 експонирано лице. Со примена на линеарен доза-одговор модел, зголемениот релативен ризик за ТК на радијациона експозиција од 1 Gy е пресметано дека изнесува 1,28 (95% confidence interval 0,95-2,7) на возраст од 60 години по акутната експозиција на 10-годишна возраст, што укажува на релативно зголемен ризик за развој на тироидни малигноми кај експонираните лица во детска возраст, иако мал, но дури и по долг латентен период од 50 години [33-35].

Фактите за несомнениот ефект на радијационата експозиција во развој на тироидни малигноми кај деца детектирани кај детската популација во Хирошима и Нагасаки по нуклеарните бомбардирања, дополнително се потврдени и од несреќата на нуклеарната централа во Чернобил. Уште во првите 3–4 години по несреќата е детектиран пораст во инциденцијата споредено со претходните години пред несреќата, особено во најмладата возрасна група до 4-годишна возраст. Најголемиот пораст на педијатриските ТК е детектиран во регионот на Чернобил и во местото Гомел во Белорусија, како резултат на експозицијата на радиоизотопот  $^{131}\text{I}$ , а дополнително предиспонирачки фактор бил и јоден

дефицит кај експонираната популација [36]. Schonfeld и сор. укажуваат на латентниот период меѓу експозицијата и појавата на заболувањето од најмалку 5 години, додека во студијата на Cardis и сор. пораст во инциденцијата по озрачувањето во Чернобил имало по само 3 години [34, 35]. Релативниот ризик за развој на малигномот е најголем во периодот од околу 20 години, а потоа се намалува. Ризикот се јавува при средна доза на тироидна жлезда од само 10 cGy, а над оваа доза се до 1500 cGy постои линеарна зависност меѓу ризикот од развој на заболувањето и озрачувањето, додека повисоките дози над 1500 cGy се проследени со намалување на овој ризик, веројатно поради цитотоксичниот ефект на овие дози [33 -35]. Покрај ирадијацијата, значаен конституционален фактор е и возраста на детето, при што е утврдено дека веќе над 15 години ризикот од развој на тироиден малигном по озрачување, се намалува [31].

Друг фактор поврзан со развојот на овие малигноми се претпоставува дека е и внесот на јод во исхраната [35]. Познато е дека и зголемениот и нискиот внес на јод може да резултира со промена на ТСХ. Експериментални анимални студии покажале дека и едната и другата состојба може да бидат поттикнувачки канцероген фактор. Студиите со пролонгиран јоден дефицит, но и со истовремено дејствување на канцерогени агенси, хемиски мутагени материи, резултирале со значајно повисока инциденција на ТК. Притоа е утврдено дека јодниот дефицит влијае повеќе како промотор, а не како директен канцероген фактор, преку индуцираниот пораст на ТСХ. ТСХ стимулацијата ја зголемува автокрино/ паракрино регулирана тироидната епидермален фактор на раст (EGF) стимулирана пролиферација, го намалува трансформирачки фактор на раст  $\beta 1$ (TGF $\beta 1$ ), кој дејствува како негативен фактор за тироидна клеточна пролиферација и ја зголемува ангиогенезата, со што дејствува како промовирачки фактор за туморски раст [37]. ТСХ стимулацијата преку синергизам со факторите на раст и нивните рецептори можат да иницираат автономна пролиферација и клеточна дедиференцијација. Факторите на раст и соодветните рецептори се продукти на онкогените. Стимулираат автономен туморски раст по пат на автокрино/ паракрино регулирани механизми на клеточна пролиферација, имунитет и ангиогенеза. Фибробластен фактор на раст (FGF), епидермален фактор на раст (EGF), васкуларен ендотелен фактор на раст (VEGF) се цитокини кои промовираат ангиогенеза во туморско ткиво, а нивната продукција може да се должи на растечката хипоксија во централните регии на туморот [38]. Од друга страна цитокини со спротивен ефект на процесите на ангиогенеза се TGF $\beta 1$ , интерферони, интерлеукин-6, тромбоспондин. Инсулин-сличен фактор на раст – 1 (IGF-1) има исто така познат митоген ефект и ја стимулира функцијата на многу клетки. Во тироидната жлезда ги стимулира фибробластите, фоликуларните и ендотелните клетки, но синергизам меѓу IGF-1 и ТСХ е неопходен за стимулација на фоликуларните клетки [38]. Тироидниот клеточен раст се контролира од интерреакција на ТСХ и ТСХ рецептор (ТСХР). ТСХ е гликопротеин составен од две поединици, алфа и бета поединица. Алфа поединицата е речиси идентична со алфа поединицата на хуман хорионски гонадотропин (hCG), лутеинизирачки хормон (LH), фоликулостимулирачки



хормон (FSH). Алфа поединицата се состои од 92 аминокиселински секвенци и се смета дека го содржи регионот за стимулација на аденилат циклаза. Додека бета поединицата содржи 118 аминокиселини и е специфична за ТСХ. ТСХР е 764 аминокиселински Gs-протеин поврзан трансмембрански гликопротеин. Алфа субединицата на ТСХР е леуцин екстрамембрански сегмент на рецепторот за кој се врзува ТСХ, а е енкодиран од егзон 1 – 8 од *TSHR* генот. Бета субединицата на ТСХР е сочинета од 7 трансмембрански домени поврзани со екстрацелуларни и интрацелуларни јамки, значајни за G – протеин спојувањето, енкодирани од 9. – 10. егзон на *TSHR* ген. Експресија на ТСХР е детектирана на тироидните фоликуларни епителни клетки, а во помал степен во тимус, хипофиза, лимфоцити, ретро-окуларни фибробласти, адипоцит, мозочно ткиво, тестиси, срце и бубрези. Врзувањето на ТСХ за ТСХР последователно води до активација на GTP – врзувачки протеин и неговиот ефектор аденилил циклаза, а резултирачкиот пораст во цикличен аденозин монофосфат (сАМР) влијае стимулирачки и на растот на тироцитите [39, 40]. Повеќе студии ја истражувале корелацијата меѓу повисоките концентрации на ТСХ, дури и во рамки на нормалните референтни вредности и последователно дијагностицирање на ТК во нодуларна струма [41, 42]. Други студии ја истражувале асоцираноста на повисоките вредност за ТСХ со стадиумот на тироидниот карцином и утврдиле дека повисоките ТСХ вредности корелирале со понапреднат стадиум кај пациентите, независно од возраста [43]. Овие наоди укажуваат на можна значајна улога на ТСХ во развој и прогресија на ТК. Од друга страна постојат фактори кои се спротивни на оваа хипотеза и останува неразјаснето дали повисоките серумски ТСХ концентрации се причина или последица на малигномот. Аргументите против првичната хипотеза се повеќе, како фактот кој укажува дека мутациите на генот за ТСХ рецепторот (*TSHR*) кои се јавуваат во регионите кои се асоцирани со зголемен сигнал на трансдукција, вообичаено не се јавуваат кај ТК. Исто така во други *in vitro* студии се покажало дека други фактори на раст како IGF-I може да имаат попотентен ефект во стимулација на туморски раст [44]. Студии покажале дека за пролиферативниот ефект на ТСХ е неопходно содејство со IGF-1 [45]. Во студијата на Shi и сор. е направена анализа на експресијата на mRНК-TSHR со Northern blot техника во тироидно ткиво и утврдено дека експресијата на *TSHR* значајно е помала во ТК отколку во бенигна струма и дека во понапреднат стадиум на болеста се намалува експресијата на *TSHR* во туморското ткиво [41]. Друг факт спротивен на хипотезата за улогата на повисоките ТСХ вредности во туморогенезата е детекцијата на ТК кај различни субјекти со многу варијабилни вредности на ТСХ, па дури и во контралатерален лобус кај лица со хиперфункционални нодуси [41]. Геномската асоцијациона студија укажала дека постојат пониски ТСХ концентрации кај пациентите кои се носители на една или две алели поврзани со зголемен ризик за добро диференциран ТК [46].

Пониската инциденција на ТК, кај лица со автономно функционирачки токсични јазли, може да се објасни со присуство на конституционална активирачка мутација на *TSHR*, која често се јавува кај овие јазли, а која води до активација на сАМР патишта преку

Gαs и многу ретко преку карцином поврзан RAS-зависен митоген активирачки протеин киназни (MAPK) патишта преку Gβγ и phosphatidylinositol 3-kinase-γ (PI3K) [47].

Постојат студии кои укажуваат на поголема инциденција на фоликуларни карциноми и анапластичен карцином кај популациите со низок внес на јод, односно во јододефицитните региони. Додека студиите поврзани со зголемениот внес на јод и ризикот од ТК се неконклузивни. Rossing и сор. во студија спроведена меѓу жените по потекло од Филипини и Јапонија, а кои живеат во Америка, утврдиле повисока инциденција на ТК, кај оние кои биле родени во Азија, а подоцна се доселиле во Америка, отколку кај оние кои биле родени во Америка. Авторите заклучиле дека оваа разлика во инциденцијата се должи на влијание на одредени фактори од околината (можеби и нутритивни разлики), кои веројатно дејствуваат во подоцнежните фази од карциногенезата и дека е можна промена на овие надворешни влијанија [10,48].

### 1.3.2 Конституционални етиопатогенетски фактори

Преегзистирачката бенигна тироидна болест е исто така еден од ризик-факторите за развој на ТК. Спроведени се повеќе „case-control“ и проспективни студии и кај случаи со бенигна нодозна/мултинодозна гушавост и кај испитаници со автоимуни тироидни заболувања (Morbus Graves – Basedow и Hashimoto thyroiditis) и истите се опишани како состојби со зголемен ризик од развој на ТК [10].

Впечатлива е и сигнификантната разлика во инциденцијата на ТК меѓу жените и мажите по пубертетот и во репродуктивниот период. Од овие причини е предложено од одреден број на автори можно естрогенско влијание во развојот на тироидните карциноми. Cheng GG и сор., во *in vitro* студија докажале присуство на естрогенски рецептори во клеточната линија на ТК [49].

Друг конституционален ризик-фактор истражуван во повеќе „case-control“ студии е обезноста. Точниот патофизиолошки механизам не е во целост разјаснет, но се претпоставува дека лесното покачување на ТСХ кај обезните лица и интерреакцијата на ТСХ и insulin – like growth factor 1 во активацијата на митоген-активирачките протеин киназа сигнализирачки патишта (MAPK/PI3K pathways) може да се вклучени во етиопатогенетскиот механизам кај оваа група пациенти [50].

Познат факт е асоцираноста со повисока инциденција на ПТК кај пациентите со фамилијарна аденоматозна полипоза и Cowden's disease (*PTEN* [phosphatase and tensin homolog] multiple hamartoma Sy), Carney complex, Werner Sy. Најголем дел од ТК се спорадични случаи, а во околу 5% од случаите на ПТК се со фамилијарно појавување, со детерминирани неколку локуси за предиспонирачки гени кај овие фамилии [10].

### 1.3.3 Генетски промени како етиопатогенетски фактори

Понатамошното расветлување на онкогенезата на ТК е благодарение на развојот на молекуларната биологија и детекцијата на генетските промени кај лицата со тироидни малигноми. Најчесто детектирана е *B-RAF* мутација кај 40% - 60% од пациентите со ПТК, промена во тирозин киназа доменот на *RET* генот е детектирана кај 15% – 33% од пациентите со ТК, а *RAS* мутациите се детектирани во 10% од случаите. Во последните години идентификувани се повеќе молекуларни промени, кои вклучуваат генетски и епигенетски промени. Најчестите промени асоцирани со ТК се промените во сигнализирачките патишта, како MAPK (Mitogen activated protein kinases познати уште и како ERK – extracellular signal regulated kinases) патот одговорен за туморска иницијација и PI3K-АКТ сигнализирачкиот пат за прогресија и дедиференцијација на ТК [51].

Молекуларните механизми инволвирани во патогенезата на ТК може да ги поделиме на генетски и епигенетски промени. Генетските промени можат да се класифицираат, како јадрени генетски мутации или митохондријални генетски мутации, генетско преуредување, губиток на хетерозиготност, додека епигенетските промени можат да бидат ДНК метилација, хистон модификација и генетско стишување (silencing) преку микро РНК. Нуклеарните генетски мутации вклучуваат активација на MAPK патот. Активаторите на овој пат кај ТК се *RET/PTC* преуредувања, *RAS* мутации и *BRAF* мутации.

MAPK патот е серија од три кинази кои се активираат каскадно една со друга преку секвенцијално фосфорилирање една со друга како одговор на различни стимулирачки фактори како што се фактори на раст, цитокини, невротрансмитери, клеточен стрес и клеточно адхерирање. Ваквата сложена активирачка мрежа учествува во регулирање на бројни клеточни процеси, меѓу кои и контролата на клеточниот раст, процесите на диференцијација, клеточна адаптација на хемиски и физички стрес.

Во RAF-RAS/MEK/екстраклеточно регулиран сигнализирачки пат (ERK), сигнализирачката трансдукција започнува со активација на малата GTP-аза *RAS* преку рецепторни тирозин кинази, G-протеин поврзани рецептори и/или интегрини. Овие мембрански протеини претставуваат група од сигнализирачки комплекси кои ги активираат *RAS* протеините преку промена во RAS-GTP, активна или RAS-GDP, неактивна форма. *RAS* мутациите предизвикуваат инактивирање на GTP-аза и со тоа се добива RAS-GTP, трајно активирана состојба. Постојат 3 изоформи на *RAS*: *HRAS*, *KRAS* и *NRAS*, кои се детектирани кај тироидните тумори. *RAS* мутациите вообичаено се среќаваат кај фоликуларните тироидни аденоми, што може да укажува дека рано се јавуваат во развојот на овие претпоставени премалигни лезии, но дека е потребна и дополнителна генетска промена за да дојде до туморска малигна трансформација на фоликуларните аденоми. Така со *KRAS* и конкомитантна присутна *PTEN* делеција се претпоставува дека се индуцира интензивна малигна алтерација во агресивна форма на ФТК. Мутациите и делециите на тумор супресорниот *PTEN* ген, се класични генетски промени кои го активираат PI3K-АКТ



патот и се генетската основа за развојот на ФТК кај Cowden's Sy. [50]. Тумор супресорниот ген *PTEN* го кодира протеинот phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatasa, кој негативно ги регулира интрацелуларните нивоа на phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate и функционира како тумор супресор регулирајќи го PI3K-АКТ сигнализирачкиот пат. Додека *RAS* мутациите се карактеристични за фоликуларните тироидни неоплазми, *RET/PTC* протоонкогените речиси ексклузивно се среќаваат кај папиларните карциноми. Процесот на генетското преуредување или реаранжирање како последица на транслокација на хромозмите резултира со создавање на нов протеин со онкогени карактеристики. *RET/PTC* преуредувања се откриени во 1987 година. *RET* прото-онкогенот е лоциран на 21-виот егзон на 10q11 хромозомот и го енкодира мембранскиот тирозин киназа рецептор. *RET* генот може да се активира преку фузија на 3' од тирозин киназа доменот на *RET* со 5' доменот од друг ген. Овие преуредувања водат до конститутивно активирање на транскрипцијата на *RET* тирозин киназа доменот во фоликуларните тироидни клетки, доведувајќи до тригерирање на сигнализацијата преку MAPK, што како последица води до неконтролирана клеточна пролиферација.

Јонизирачкото зрачење е една од причините за појава на овој тип на генетски промени, особено на *RET/PTC3*, што е поткрепено и со *in vitro* студии [52]. Експериментални модели на глувци со *RET/PTC* експресија довеле до развој на тироидни тумори кај експерименталните животни, многу слични на папиларните карциноми кај луѓе. Преваленцијата на *RET/PTC* онкогените кај папиларните карциноми варира, но најголема фреквенција е детектирана кај тумори кои се јавуваат кај деца по експозиција на јонизирачко зрачење [53]. Продукцијата на  $H_2O_2$  со тироидната дуал оксидаза ензим (*DUOX1*) е една од можните причини за појава на *RET/PTC* хромозомските преуредувања по експозиција на екстерна ирадијација. Опишани се најмалку 13 различни *RET/PTC* онкогени, кои се резултат на фузијата на тирозин киназа доменот на *RET* за 5' делот од различни гени. *RET/PTC1* и *RET/PTC3* се најчести типови, а на кои отпаѓаат >90% од сите преуредувања [54].

Друг тип на хромозомски преуредувања се: *TRK*, *ALK* и *PAX8/PPAR $\gamma$*  преуредувањата кои се идентификувани исто така кај тироидните малигноми. *TRK* е прото-онкоген лоциран на хромозом 1 и енкодира тирозин киназа мембрански рецептор за нервен фактор на раст (nerve growth factor NGF) со ограничена експресија само на нервните клетки во периферните ганглии. Конститутивна активација на *TRK* се детектира кога постои фузија на 3' доменот од *TRK* за 5' доменот од друг ген. *ALK* преуредувања се резултат на фузијата на стријатин (*STRN*) генот и анапластичен лимфома киназа генот (*ALK*), ова генетско преуредување почесто се детектира кај лошо диференцирани и недиференцираниот, анапластичен тироиден карцином, а поретко (во околу 1%) кај ПТК. W. Chien и сор. во својот труд *Молекуларна биологија на тироидни карциноми*, укажуваат на присуството на хромозомска транслокација t(2;3)(q13;p25), *PAX8/PPAR $\gamma$*  преуредување, што го фузионира *PAX8* генот за тироидниот специфичен транскриптен фактор со *PPAR $\gamma$*  генот за јадрен хормон рецептор, инволвиран во диференцијација на клетките. Ова генетско преуредување

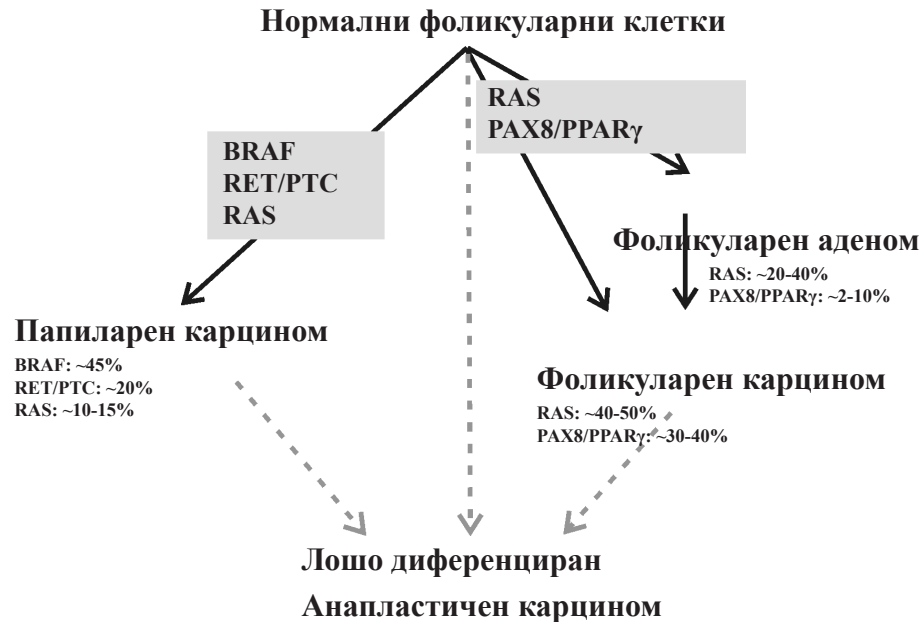
се среќава во 36% од ФТК, кај 11% ФА (Фоликуларни аденоми) и во 13% кај фоликуларната варијанта од ПТК [54, 55].

Релативно често детектирана генетска промена, која е и експериментално докажана во околу 45% од ПТК е мутација на генот за В-тип на RAF киназа („*T1799A transverse point mutation на BRAF<sup>V600E</sup>*“), што се манифестира со експресија на BRAF - V600E мутиран протеин, што резултира со последователна активација на серин/треонин киназата. Воедно екстезивна мултицентрична студија укажала на силна асоцираност на BRAF - V600E мутираниот протеин со лоша прогноза и поголема агресивност во текот на ПТК, со почеста асоцираност со висококлеточна варијанта (tall cell) на ПТК, склоност кон губење на јодоавидните својства, и поради тоа резистентност на терапијата [56].

Покрај промени во MAPK патот значајни во онкогенезата се промени и во PI3K-AKT сигнализирачкиот пат кој ја стимулира клеточната пролиферација. Инхибитор на овој пролиферирачки пат е *PTEN* тумор супресорскиот ген (phosphate and tensine homolog), локализиран на 10q23 хромозомот кој е природен ограничувач на клеточната пролиферација, превенирајќи туморозен раст [57]. Опишани се мутации, делеции и стишување на овој ген. TP53 е тумор супресорски ген лоциран на 17 хромозом, а се смета дека на мутациите на овој ген може да се должи појава на дедиференција во еволуцијата на туморите.

Епигенетските промени резултираат со менување на генетската експресија, без алтерација на примарната ДНК секвенца, а може да се резултат на ДНК метилација, хистон модификации и некодирачки рибонуклеински киселини (микроРНКи). Аберантна ДНК метилација е асоцирана со генетската експресија и може да игра значајна улога во туморогенезата. Хипометилацијата води до геномска нестабилност и активација на прото-онкогените преку различни механизими што пак може да допринесе за канцерогенеза или прогресија на болеста. Хиперметилацијата е асоцирана со генско стишување, особено на тумор супресорни гени [58]. Механизмите преку кои се таргетираат гените за хиперметилација не се разјаснети и понатамошното разбирање на тоа како одредени специфични геномски региони се таргетираат за хиперметилација, може потенцијално да резултира во развој на нови терапевтски можности. Друга епигенетска варијација е микроРНК експресискиот профил. Докажани се значајни промени во експресискиот профил на микроРНКи во туморските ткива, во споредба со соодветното здраво ткиво, а за кои се знае дека играат улога во регулацијата на експресијата на други гени вклучени во процесите на транскрипција, клеточна пролиферација и апоптоза. Според тоа промените во микроРНКи можат да влијаат на туморогенеза. Претходни истражувања докажале дека кај одредени типови на ТК има одредени експресиони профили за микроРНКи, така кај ПТК е опишана зголемена експресија на *miR-146*, *miR-221*, *miR-222*, *miR-21* и *miR-181*, споредено со нормални тироидни клетки, а се претпоставува дека таргет за овие микроРНКи е с-KIT, тирозин киназа рецептор со значајна улога во клеточен раст и дедиференцијација. Кај ФТК се опишува намалување на

нивото на експресија за *miR-192*, *miR-197*, *miR-328* and *miR-346*, споредено со бенигните фоликуларни аденоми и нормално тироидно ткиво [58]. Познавањето на овие молекуларни процеси доведе до развој на подлабоко изучување на молекуларната патогенеза на добро диференцираните ТК [51, 59, 60].



Сл.1. Шематски приказ на молекуларните механизми кај добродиференцираните тироидни карциноми, *Превземено од © 2011 Asuragen Inc. White Paper: Molecular Pathogenesis of Thyroid Cancer*

## 1.4 Дијагностички методи

### 1.4.1 Дијагностички алгоритам на тироидни јазли

Дијагностичкиот алгоритам при иницијално иследување на пациенти со тироидни јазли ги вклучува следните методи: клинички преглед со анамнеза и палпација на вратна регија, лабораториски иследувања, ултрасонографски преглед на вратната регија (US), тенкоиглена аспирациона биопсија (*fine needle aspiration biopsy* - ФНАБ), а во одредени индикации технициумски и/или јоден скен на тироидната жлезда, компјутерска томографија на вратна регија и на бели дробови (СТ), магнетна резонанца (MRI), позитронска емисиона томографија со  $^{18}\text{F}$ -флуородеоксиглукоза ( $^{18}\text{FDG}$ -PET), молекуларно тестирање за *BRAF* или панел на мутации.

Бенигната нодозна гушавост е многу чест наод, со особено висока инциденција кај популацијата над 60 години, според податоците од клиничките студии објавени од Американската тироидна асоцијација (ATA), тироидните јазли се јавуваат кај повеќе од 50% од популацијата и според истите истражувања само во 5% од случаите се работело за ТК [26].

Податоците за нодозната гушавост се многу варијабилни во зависност од методологијата на дијагностицирање, но поради широка достапност на ултрасонографскиот скрининг, се почеста е детекцијата на инциденталомии, непалпабилни јазли, лезии со димензии под 10mm. Тоа создаде потреба од прилагодување на препораките во поглед на доиследувањето на јазлите со димензии под 10 mm. Деталниот клинички преглед со внимателно земена анамнеза од која може да се добијат корисни информации за текот на болеста, како времетраењето на симптомите, брзината на раст на јазлите, потешкотии на голтање, промени во гласот, надополнети и со палпаторниот наод, можат веднаш искусниот клиничар да го насочат кон тоа дали можеби се работи за поагресивен тип на промена. Брз раст и тврда, фиксирана промена во тироидна жлезда, како и палпирање на зголемени лимфни јазли укажуваат на можни промени со поагресивна биологија. Предноста во дијагностиката на тироидната жлезда е нејзината достапност за преглед. Познат е фактот дека воведот на ултрасонографијата (US) доведе до значаен пораст во дијагностиката на се помали непалпабилни лезии и инциденталомии.

US на вратна регија е наједноставна, широко достапна, сензитивна, неинвазивна дијагностичка метода со која се детектираат тироидните нодуси. За US преглед на вратна регија се применува линеарна сонда за мали органи со фреквенција од 5 до 12 MHz. Ултрасонографски карактеристики кои е потребно да се опишат во поглед на тироидните нодуси, се димензиите на јазлите, внатрешната содржина и ехогеност, васкуларизација. Не постои единечен ултрасонографски параметар кој со висока сензитивност и специфичност укажува на малигна лезија, но опишани се предиктивни US карактеристики на јазлите суспектни за малигна промена, како присуство на микрокалцификации, поголема централна васкуларизираност, нејасна демаркација на лезијата во смисла на присутни прекини во капсулата или инфилтративни ирегуларни маргини, повисок јазол во однос на ширината [61]. Повеќе студии објавиле различни податоци во поглед на сензитивноста и специфичноста поединечно за секој ехографски параметар, но воглавно во сите се укажува на поголема сензитивност и специфичност на US кога се вклучуваат повеќе параметри [61]. Неколку професионални здруженија и групи на истражувачи предложиле развивање на систем за подобра класификација на ултрасонографските наоди и подобро селектирање на вистински суспектните нодуси за тенкоиглена биопсија како метод со најголема прецизност во дијагностицирање на ТК. Некои од овие системи се именувани како Thyroid Imaging and Reporting Data System (TIRADS), аналогно на системот за лезиите во дојки (BIRADS). Horvat и сор. во 2009 година првично го предложиле US системот на бодување на ризикот за малигнитет на тироидните лезии [62]. Неодамнешна ретроспективна мултицентрична студија укажала дека ехогеноста на јазлите и присуството на преодминатна солидна структура се можни ехографски параметри со предиктивна вредност за малигнитет [63]. Односно истовремено присуство на кој било од суспектните ултрасонографски белези во солиден хипоехоген нодус укажувало на висок ризик за малигнитет (79%), а парцијално

цистичните или изоехогени и хиперехогени нодуси биле асоцирани со интермедиерен ризик (25%)[63, 64].

American College of Radiology (ACR) во предложениот TIRADS систем ги категоризира лезиите во тироидната жлезда на бенигни (TP1), несуспектни лезии (TP2), минимално суспектни (TP3), умерено суспектни (TP4) и високо суспектни за малигнитет (TP5). Во овој систем се користи бодување на секоја од поединечно анализираниите ехографски карактеристики и на крајот се сумира нивниот збир од што може да се одреди дали лезијата припаѓа на TP1 (бенигна лезија) до TP5 (високо суспектна за малигна лезија). Еластосонографијата е една од техниките која може да биде корисна, но поради ограничената можност за нејзина примена не е воведена во системот на бодување (Табела1) [65].

**Табела 1.** ACR-TIRADS систем за бодување на суспектноста на ехографските карактеристики на лезијата во тироидната жлезда за малиген процес; *Tessler FN et al. 2017*

Категорија	Ризик за малигнитет	Бодување на наодот од ЕХО
ARC-TIRADS 1: TP1 0 – бодови	Бенигна лезија	Ехогеност Анехогени – 0, Хиперехогени/Изоехогени – 1, Хипоехогени – 2
ARC-TIRADS 2: TP2 2 - бодови	Несуспектна лезија	Состав Цистични – 0 Мешан состав – 1 Солидни - 2
ARC-TIRADS 3: TP3 3 - бодови	Нискосуспектна лезија	Маргини Јасно ограничени – 0 Ирегуларни – 2 Екстратироидна екстензија – 3
ARC-TIRADS 4: TP4 4 – 6 бодови	Умерено суспектна лезија	Облик Поширок/повисок – 0 Повисок/поширок – 3
ARC-TIRADS 5: TP5 > 7 бодови	Високо суспектна лезија за малигнитет	Калцификати Отсуство на калцификати – 0 Макрокалцификати – 1 Прстенести – 2 Микрокалцификати – 3  ACR-TIRADS Tessler FN et al. 2017

ACR TIRADS системот за бодување се состои од TP1 до TP5 (или 5 категории), TP1 или 0 бодови е веројатност за бенигна лезија, TP2 (2 бодови) се суспектни лезии, TP3 (3 бодови) лесно суспектна лезија, за која важи препораката ако е над 2,5cm да се направи тенкоиглена биопсија, додека помали од 1,5cm се препорачува ултрасонографско следење. TP 4 (4 – 6 бодови), умерено суспектна, ФНАБ кога се работи за лезии над 1,5cm, следење за помали од 1cm и TP5 (повеќе од 7 бодови) се советува ФНАБ и за лезии помали од 1cm, а за оние под 5mm следење. Карактеристиките кои се оценувани е состав, ехогеност, тип на васкуларизација, облик, маргини и калцификации [65].

Кореанското здружение на радиолози во поглед на TIRADS-критериумите направиле ревизија. Според анализата ги препорачуваат следните ултрасонографски карактеристики: димензија на нодусот, секогаш да се опишуваат сите три димензии, освен во мали лезии ( $\leq 5\text{mm}$ ) при што е соодветно само опис на најголемата димензија, внатрешната содржина (предоминантно цистична, ако  $> 50\%$  е цистична содржината на јазолот, предоминантно солидна, ако  $> 50\%$  е солидна или мешани компоненти), ехогеност (оценета споредено со антериорните вратни мускули и со останатиот тироиден паренхим), облик или ориентација на јазолот (лезија повисока отколку широка или поточно поголем антеро-постериорен дијаметар, во однос на кранио-каудален дијаметар на јазолот на лонгитудинален приказ на лобусот на тироидната жлезда е суспектна карактеристика), рабовите на нодусот – добро ограничена лезија, назабени рабови, нејасно ограничена лезија, присуство на калцификати – микрокалцификации, груби калцинации  $> 1\text{mm}$ , прстенеста калцинација, васкуларизираност – тип 1 или отсутна васкуларизација, тип 2 периферна васкуларизација, тип 3 умерена интранодуларна и тип 4 интензивна интранодуларна васкуларизираност и податоци од еластографија. Ултрасонографската еластографија е релативно нова техника и се темели на фактот дека туморското ткиво е поцврсто во споредба со нормално тироидно ткиво и споредено со бенигни аденоми [66].

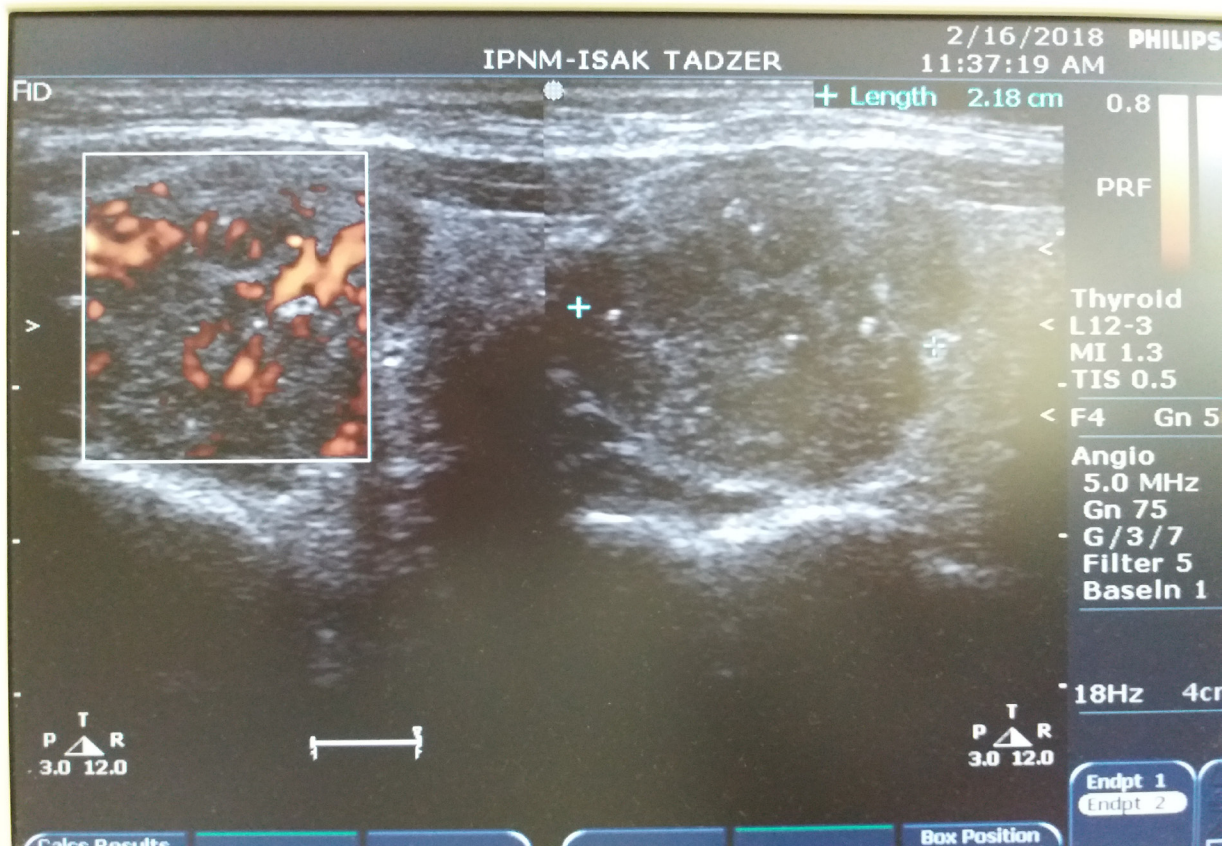
Поради значајната улога на ултрасонографијата во дијагностиката на тироидните заболувања, Европската тироидна асоцијација (ETA), организира панел на интернационални експерти кои со примена на детална анализа на досега објавуваната литература и податоците од Американската асоцијација на клинички ендокринолози и Американската тироидна асоцијација (ATA), како и анализа на Кореанските препораки, го објавува Европскиот систем на бодување на тироидните јазли како бенигни, ниско ризични, јазли со интермедиерен и јазли со висок ризик за малигнитет, односно Eu-TIRADS системот за бодување на ултрасонографските карактеристики на тироидните јазли. Целта на овие системи за бодување е да послужат во секојдневната клиничка пракса во подобрување на интеробсерверската репродукцибилност на тироидната ултрасонографија и да ја поедностават комуникацијата и споредливоста на резултатите од различни институции (Табела 2) [67].



**Табела 2.** Eu-TIRADS систем за бодување на суспектноста на ехографските карактеристики на лезијата во тироидната жлезда за малиген процес; *Gilles Russ et al. 2017*

Категорија	Наод од ЕХО	Ризик за малигнитет
Eu-TIRADS 1: нормален наод	Без јазли	Без ризик
Eu-TIRADS 2: бенигни	Цистични јазли, Јазли со сунѓерест изглед	0%
Eu-TIRADS 3: ниско ризични	Изоехогени/хиперехогени јазли со овоидна форма	2 – 4 % FNAB – само на јазли > 2 cm
Eu-TIRADS 4: интермедијарен ризик	Лесно хипоехогени со овоидна форма јазли, без други суспектни знаци	6 – 17% FNAB – само на јазли > 1,5 cm
Eu-TIRADS 5: високо ризични јазли	Јазли со најмалку 1 суспекна карактеристика: Ирегуларни маргини Ирегуларен облик Микрокалцификати Солидни јазли со нагласена хипоехогеност	26 – 87% FNAB – на јазли > 1 cm, а доколку има присутни зголемени лгл се препорачува FNAB и на јазли < 1cm

Frates и сор., објавиле анализа на поединечни предиктивни карактеристики на ехографските параметри суспектни за тироиден малигном и според оваа студија присуството на микрокалцификации има сензитивност од 26,1% – 59,1%, а специфичност од 85,8% – 95% за малигност во ехографски иследуваната лезија, хипоехогеноста има сензитивност од 26,5% – 87,1%, а специфичност од 43,4% – 94,3%, ирегуларни маргини на лезијата со сензитивност од 17,4% – 77,5% и специфичност 38,9% – 85%, а интранодалната васкуларизација на јазолот се одликува со сензитивност од 54,3% – 74,2%, а специфичност 78,6% – 80,8%. Во една студија на YH Lee и сор., со комплементарна примена на наведените ехографски параметри, јазлите се дијагностицирале соодветно како малигни или бенигни промени со сензитивност од 86%, специфичност 95%, точност на методата од 92% [68, 69].



Сл. 2. Тироиден јазол локализиран во горен пол на десен лобус на тироидната жлезда, со хипоехогена структура, ирегуларни маргини, со микрокалцификации и со преобладавајќо централна васкуларизација, присутни 4 високо ризични ехографски карактеристики (TIRADS – 5), направена ФНАБ и добиен наод V класификациона група, високо суспектна малигна неоплазма, ПТК.

Лабораториските анализи вклучуваат одредување на тироидни хормони, слободен тироксин и тиреотропин (ТСХ). Предоперативно одредување на Тг како тумор маркер не се применува во клиничката рутина, поради ниската специфичност на оваа лабораториска анализа, односно покачување на серумскиот Тг е детектирано и во други тироидни заболувања [70]. Lee EK и сор. го истражувале во својата студија значењето на серумскиот Тг како потенцијален биомаркер во диференцирањето на ТК од бенигни тироидни лезии и со примена на мултиваријантна анализа го истражувале значењето на Тг како независен предиктивен фактор за малигнитет. Нивната анализа покажала дека Тг може да биде предиктивен биомаркер во диференцирање меѓу фоликуларните карциноми и бенигни фоликуларни аденоми [71]. Препораката на АТА е дека нема клинички потврдено значење предоперативното одредување на Тг [26].

Дополнителна дијагностичка метода која се применува во иницијалното доиследување на нодозна струма е технициумски и јоден скен на тироидната жлезда. Технициумскиот скен се изведува со интравенозна апликација на 37 – 74 MBq пертехнетат ( $^{99m}\text{TcO}_4$ ) и по 20 – 30 min од апликацијата се изведува скенирањето во антеро-постериорна



и по потреба латерални позиции на вратна регија со гама камера. Пертехнетатот аналогно на јодот го користи идентичниот активен транспортен механизам во тироцитите, но не се вклучува во понатамошните интраклеточни метаболни патишта. Јодниот скен се изведува со давање на 1,85 MBq Na<sup>131</sup>I, *per os*, а скенирањето се изведува по 24 часа, но поради поголемата енергија на гама зрачењето и поголемата експозициона доза, јодниот скен се применува поретко во иницијално иследување на тироидни нодуси, најчесто кај ретростернална струма или автономно функционирачки јазли, а поголемо значење има во следењето на ТК. Технициумскиот скен е најчестиот тип на иницијално нуклеарно-медицинско скенографско иследување на нодозна струма [10, 26]. Доколку со технициумскиот скен се утврди хиперфиксација на радиофармацевтикот во регија на јазолот (скенски „топол“ или „врел“, јазол), веројатноста за малигност во лезијата е многу ниска и според повеќе автори, како и во препораките на Американската и Британската тироидна асоцијација нема задолжителна индикација за ФНАБ [26, 72]. Детекцијата на лесно зголемени вредности за ТСХ, како и хипофиксантни (скенски „ладни“ јазли) се наоди асоцирани со поголема веројатност за малигност и се дијагностички показатели за потреба од понатамошна евалуација со ФНАБ [26, 72]. Дополнителен нуклеарно-медицински метод кој може да биде применет во евалуација на тироидни јазли е <sup>99m</sup>Tc-MIBI (метокси-изобутил-изонитрил). <sup>99m</sup>Tc-MIBI (метокси-изобутил-изонитрил) е неспецифичен туморотропен радиофармацевтик кој се транспортира со пасивна дифузија и ја отсликува митохондријална активност во ткивото. Радиофармацевтикот се аплицира интравенозно во доза 740 MBq. Скенирање на вратна регија се изведува по 10 min и по 1 час и со скенот се визуелизира метаболната активност во туморското ткиво, која е поинтензивна во малигните лезии, но и кај одредени фоликуларни, Hurthle cell аденоми [73]. Ултрасонографски водена тенкоиглена биопсија (ФНАБ) е стандардизирана и најрелевантна дијагностичка процедура во предоперативната евалуација на тироидните јазли и дијагностицирање на ТК. ФНАБ е едноставна, достапна и безбедна метода, кај која единствена можна несакана реакција е појава на постинтервенциски хематом и болка, а која се карактеризира од друга страна со висока сензитивност и специфичност. Diana S. Gharib во својата публикација „Fine-Needle Aspiration Biopsy of the Thyroid Gland“ од 2015 година, дава податок за сензитивност од 83% (65% – 98%) и специфичност од 92% (72% - 100%) за ФНАБ [74].

Лажно негативната рата на наоди од ФНАБ, односно наоди кои се протолкувани како негативни, бенигни, а всушност се докажало дополнително малигна болест се движат меѓу 1,5% и 11,5% [74]. Според Bethesda-системот за класификација постојат шест типа наоди добиени со ФНАБ (Табела 3 и Табела 4) [74 - 76].

**Табела 3.** Bethesda-класификационен систем за тироидна цитологија  
Edmund S. Cibas и соп. (2009)

I група - недијагностички наоди
II група - бенигни наоди
III група - наоди со клеточна атипичност
IV група - фоликуларни неоплазми или суспектни за фоликуларни неоплазми
V група - наоди суспектни за малигност
VI група - малигни наоди

**Табела 4.** Препораки за претпоставениот ризик за малигност и препораки за постапките во лекување и следење, според Bethesda-класификационен систем за тироидна цитологија; Edmund S. Cibas и соп. (2009)

Bethesda категорија од ФНАБ	Ризик за малигност (%)	Препораки
I недијагностички наоди	1% - 4%	повторување на US водена ФНАБ
II бенигни наоди	0% - 3%	клиничко следење
III наоди со клеточна атипичност	5% - 15%	повторување на ФНАБ
IV фоликуларни неоплазми или суспектни за фоликуларни неоплазми	15% - 30%	Лобектомија
V наоди суспектни за малигност	60% - 75%	тотална тироидектомија или лобектомија
VI малигни наоди	97% - 99%	тотална тироидектомија

Податоците од повеќе студии покажуваат дека и во центрите со големо искуство со ФНАБ, бројката на недијагностичките наоди се движи 15% – 20% [76]. Според податоците на Европската тироидна асоцијација (ETA), како и од други студии е утврдено дека во 2% – 16% од ФНАБ цитологијата е недијагностичка (ацелуларни наоди), а во 5% – 20% наодите се еквивокални, односно неможе да се диференцираат малигни од бенигни промени [77]. Најголемиот недостаток на ФНАБ како дијагностичка метода е во неможноста да се диференцираат бенигните фоликуларни лезии и фоликуларните карциноми, мултинодуларните струми, кај кои најчесто е невозможно да се направи ФНАБ во сите јазли со суспектни ехографски карактеристики и недијагностичките ФНАБ наоди, односно случаите кај кои со биопсијата не се обезбедени потребните квантитативни и квалитативни критериуми за адекватна цитолошка анализа, односно присуство на најмалку шест

групи на фоликуларни клетки, секоја група со најмалку по 10 добро сочувани епителни клетки. Во ваквите случаи постои препорака за повторување на ФНАБ, се советува ребиопсијата да биде по 3 месечен интервал од претходната, за да се избегне влијанието на реактивни/репаративни процеси индуцирани со претходната биопсија [78]. Група автори препорачуваат примена на „core-needle“ биопсија, како и молекуларно тестирање за *BRAF* или панел на мутации [79]. Поради потребата од подобрување на дијагностичките перформанси на ФНАБ се истражува значењето на воведување на „gene expression classifier“ (GEC), истражување на панел генетски мутации или „targeted next generation sequencing“ (tNGS), комбинации од мутациски промени и микроРНК експресија, методи кои ветуваат, но поради отсуството на стандардизацијата на постапките, соодветна калибрација и аналитичка интерпретација, нивната примена сè уште според ЕТА се ограничува само во истражувачки, но не и во рутински клинички цели [77].

Други дијагностички модалитети, како што се СТ, MRI, <sup>18</sup>FDG-PET дијагностиката имаат улога во предоперативната евалуација и во тек на следењето на пациентите, но во строго одредени индикации. Иако сензитивноста и специфичноста на US на вратна регија како самостојна метода е повисока, препораките укажуваат на можна комплементарна улога на СТ во евалуирање на стадиумот на заболувањето пред операција, кога се работи за евалуирање на поголеми тироидни тумори, евалуирање на екстензитетот на проширеност на болеста, инфилтративен раст во околните структури (трахеално, езофагеално инфилтрирање), ретростернална локализација на болеста, како и според одредени студии СТ е метод со поголема сензитивност во евалуирање на лимфни јазли во вратна регија од централниот и латералниот компартман [80].

Препорачана е примена на венски контраст за подобра делинеација на примарниот тумор или метастатските промени од околните ткива, кога се употребува во предоперативната евалуација на пациентите. Јодниот контраст се елиминира од организмот за период од 4 до 8 недели, кај повеќето пациенти, а со тоа не се очекува интерферирање со понатамошната можна примена на радиојодна аблација или потреба од скен на цело тело. MRI и <sup>18</sup>FDG-PET дијагностичките методи немаат рутинска примена во иницијална евалуација на тироидните јазли, но можат да бидат комплементарни методи во дефинирање на иницијалниот стадиум на заболувањето (Сл.3) [26].



Сл. 3 Шематски приказ на дијагностичкиот алгоритам во евалуација на тироидни јазли

#### 1.4.2 Терапија на тироидни карциноми

Терапија од избор за диференцираните тироидни карциноми (ДТК) е хируршка интервенција. Во зависност од стадиумот, проширеноста и степенот на диференцираност на туморот ќе биде и планирањето на екстензитетот на оперативниот зафат. Хируршката интервенција може да варира од лобектомија, во случај на унилатерални микрокарциноми, речиси тотална тироидектомија, тотална тироидектомија кај инвазивни ТК, со или без централна или латерална дисекција на лимфни јазли во вратна регија. Степенот на интервенцијата се одредува според наодите од иницијалната дијагностика и одредениот стадиум на заболувањето од првичните иследувања [81]. Тотална тироидектомија со лимфаденектомија на централен вратен компартман е препорачан иницијален третман и на МТК, а во случај на недиференциран АТК, оперативната интервенција има повеќе палијативен ефект, најчесто поради компресивни ефекти на лезијата со агресивен тек, но не е терапија од прва линија. Во терапија на АТК индициран е онколошки третман, со екстерна ирадијација и хемотераписки протокол, но одговорот на лекувањето е слаб и прогнозата

е неповолна. Покрај оперативното лекување кај ДТК е можна и најчесто се применува адјувантна специфична радиојодна терапија. Перзистентната експресија на натриум јодидниот симпортер (NIS) на мембраната на туморските клетки од диференцираните тироидни карциноми е предусловот за успешноста на специфичната радиојодна ( $^{131}\text{I}$ ) терапија.

$^{131}\text{I}$  е изотоп на јодот со идентични хемиски и фармакокинетички особености како и стабилен јод, но емитува гама и бета зрачење. Гама емисијата е поволна за дијагностичка детекција на дистрибуцијата на радиофармацевтикот и се ползува детекцијата со гама детекторскиот систем во дијагностичкиот скен на целото тело, додека бета емисијата, поради јонизирачкиот ефект во ткивата има терапевски ефект [10, 26, 72]. Според последните препораки на АТА и ЕТА во добро диференцираните тироидни микрокарциноми се препорачува хируршка интервенција, без аблативна радиојодна терапија, додека во останатите стадиуми, а особено во зависност на хистопатолошката подваријанта на ДТК се применува радиојодна аблативна терапија, зависно од големината на остаточното тироидно ткиво во дози 30 – 150 mCi, а основната улога на аблативната терапија е да се уништи остаточното тироидно ткиво [10, 26, 72]. Примената на аблативната доза на радиојод овозможува пропратна дијагностичка информација од дополнителниот скен на целото тело со аблативната доза и значаен беневит е можноста за примена на серумскиот Тг како релевантен тумор маркер [10, 26, 72, 82]. Перзистирање на болеста, локален рецидив, локо-регионални или далечни метастаски депозити се индикација првично за реоперација, а потоа и за повторени радиојодни терапии. Дедиференцирањето на туморот, губење на јодоавидните својства, лошо диференцираните тумори се индикација за онколошки понатамошен терапевски протокол. Во случај на напреднат и дедиференциран ТК, како и кај напреднат МТК може да се примени терапија со тирозин киназа инхибитори (ТКИ). Палијативна терапија на напреднат МТК е примена на  $^{131}\text{I}$ -MIBG (метајодобензил – гванилат) [10, 26, 72, 82]. Хронична терапија е тиреосупресивна терапија со Левотироксин, при што ТСХ вредноста би требало да се одржува под или на долната граница на референтните вредности, во зависност од возраста на пациентот, придружни заболувања (коморбидитет), агресивноста на туморот, екстензитетот на туморот [10, 26, 27, 72, 82].

#### 1.4.3 Дијагностичкиот алгоритам во тек на следење на пациенти со диференцирани тироидни карциноми

Следењето на пациентите по спроведениот соодветен терапевски протокол се состои од примена на контролни прегледи на соодветен временскиот интервал, во зависност од иницијалниот стадиум на болеста и хистопатолошката варијанта, со следните дијагностички методи: US преглед на вратна регија, лабораториски анализи кои вклучуваат одредување на ТСХ, слободен тироксин, серумски Тг, анти Тг антитела (аТг), скен на целото тело со радиојод, а во одредени индикации и СТ, MRI,  $^{18}\text{F}$ FDG-PET дијагностика [10, 26, 72, 82].

US преглед на вратна регија е повторно најдостапна, сензитивна метода за евалуација на локалниот статус во вратна регија, детекција на локален рецидив или суспектни карактеристики на лимфни јазли во вратна регија за секундарни депозити. Наодите од US се евалуираат во корелација со лабораториските наоди, особено значаен тумор маркер е серумскиот Тг, одредуван под тиреосупресивна терапија, како и стимулиран серумски Тг, препорачан од повеќе автори, како посензитивен лабораториски показател за рецидив на болеста [10, 26, 72, 82].

Суспекните локо-регионални промени се достапни за евалуација со ФНАБ, со можност за одредување на Тг во испирокот од иглата за ФНАБ. Пораст на серумскиот Тг, може да иницира потреба од дијагностички радиојоден скен на цело тело, под сомнение за секундарни депозити може да биде корисна примена и на СТ, MRI, <sup>18</sup>FDG-PET (последната метода, особено значајна при сомнение за дедиференцијација и губење на јодоавидните својства на туморот) [26].

Tuttle и сор. воведуваат стратификација на пациентите со ТК според наодите од стандардните лабораториски иследувања на серумските маркери (Тг и аТг), ултрасонографскиот преглед на вратна регија и јоден скен во тек на следењето и според овие анализи може да се групираат на пациенти со одличен одговор: отсуство на клинички, биохемски и морфолошки (структурни) докази за болест; пациенти со биохемски некомплетен одговор: пораст на Тг или на аТг, а во отсуство на морфолошки наод на рецидив на болеста; пациенти со некомплетен морфолошки одговор на терапијата: перзистентна болест или ново дијагностициран локо-регионален рецидив или далечна метастаза; пациенти со неодреден одговор на терапијата: неспецифични биохемски параметри, односно стабилни или опаѓачки вредности за Тг без морфолошки промени или структурни недефинирани промени, без сигурна класификација како бенигни или малигни [10, 26, 83].

Значајно место во мониторирањето на пациентите и одредувањето на ризик стратификацијата има серумскиот тиреоглобулинот. Постојат состојби во кои е намалена сензитивност на Тг како дијагностички тумор маркер, во случај на присутни аТг антитела, кај пациенти кај кои не е спроведена радијодна аблативна терапија, поради големо остаточно тироидно ткиво или во случај на лобектомија како оперативна терапија на микрокарциноми [27, 71, 84, 85].

## 2. МОТИВ ЗА СТУДИЈАТА

Од потребите во секојдневната клиничка пракса произлезе и нашиот мотив за спроведување на студија во која ќе направиме детална анализа на регистрираните ТК и би ја тестирале можноста за примена на молекуларните генетски методи за одредување на циркулирачки туморски клетки во периферна крв преку детектирање на експресијата на информативна РНК (mRNK) за тумор специфични гени. Амплификација на тумор специфични mRNK транскрипти во периферна крв за детекција на микрометастази е метода која е веќе позната и применувана во дијагностика на колоректален карцином, карцином на дојка, карцином на простата и невробластом, а постојат и повеќе студии во кои се опишува амплификација на mRNK за тумор специфични гени и кај пациентите со ТК, но со различни резултати, кои варираат во зависност од повеќе фактори, како што се изборот на прајмери, бројот на циклуси во процесот на полимераза верижна реакција и сл. [86-88].

1. Првиот мотивот на истражувањето е да се спроведе детална анализа на клиничките и епидемиолошки карактеристики на дијагностицираните ТК во периодот од 1999 до 2015 година, што ќе даде подобар увид во преваленцијата на тироидните неоплазми во Р. Македонија, биолошкото однесување, проценка на терапевска ефикасност, морталитетна стапка и сл. Фактот што оваа категорија на малигноми кај возрасната популација од територијата на целата држава се дијагностицираат и се лекуваат главно на Тироидниот оддел при Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина за соодветниот период, е фактор кој укажува на тоа дека можеме да сметаме дека анализираниот примерок е репрезентативен за целата популација во Р. Македонија.
2. Вториот мотив е да се воведат и истражи значењето на молекуларни генетски техники во детекција на циркулирачки туморски клетки, поради потребата од сензитивни, едноставни и неинвазивни дијагностички анализи во мониторирањето и дијагностицирањето на болеста, особено во категоријата на пациенти со некомплетен биохемиски или структурен одговор на терапијата (некомплетна тироидектомија, предоперативно присутни покачени аТг).

### 3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

1. Да се анализираат епидемиолошките, лабораториски и клинички параметри на дијагностицираните пациенти со тироидни карциноми на Институтот за периодот од 1999 до 2015 и да се формира регионален регистар од податоците;
2. Да се направи споредба меѓу епидемиолошките и клиничките карактеристики на тироидните карциноми од претходните студии на Институтот за периодот од 1966 до 1988 година, кога се спроведувала првичната јодна профилакса со 10 мг KJ/1кг сол, со податоците од нашето истражување кои се однесуваат за периодот од 1999 до 2015 година, по спроведувањето на јодната профилакса со 20 – 30 мг KJO<sub>3</sub>/1 кг сол.
3. Да се воведат методата на одредување на експресија на транскрипти за тумор специфични гени, со детекција на *mRNK-Tg* и *mRNK-TSHR*;
4. Да се воведат постапката, која се базира на молекуларни биолошки техники, а што ќе овозможи понатамошно инкорпорирање на истата и во други научно-истражувачки студии и проекти на поголема бројка на пациенти со тироидни карциноми;
5. Да се анализираат резултатите од дијагностичката метода и да се компарираат меѓу здравите контроли и пациентите со тироиден карцином, како и да се споредат наодите од анализата меѓу различните групи на тироидни пациенти, одредени според вредностите за серумскиот Тг, јоден скен на цело тело и ултрасонографија на вратна регија.



## 4. ХИПОТЕЗИ

Ги постулиравме следните работни хипотези:

- Постои пораст на инциденцијата и преваленцијата на ТК споредено со податоците од претходниот анализиран период од 1966 до 1988 година;
- Порастот се должи на детекција на мали тироидни тумори и микрокарциноми (примарни тумори < 15 mm);
- Постои значајна корелација меѓу бројот на радиојодни терапии и иницијалната ризик стратификација на пациентите;
- Постои значајна разлика во инциденцијата на ТК во територијалните региони во Р. Македонија;

Во поглед на наодите од одредувањето на транскрипти за тиреоглобулин и ТСХ рецептор, ги поставивме следните претпоставки како работни хипотези:

- Анализата на релативната квантификација на експресијата на *mRNK-Tg* покажува статистички значајна разлика во експресијата на транскриптите во периферна крв кај пациентите со ТК со биохемиски и структурен некомплетен одговор на терапијата, споредено со здравите контроли;
- Анализата на релативната квантификација на експресијата *mRNK-TSHR*, покажува статистички значајна разлика во експресијата на транскриптите во периферна крв кај пациентите со ТК со биохемиски и структурен некомплетен одговор на терапијата, споредено со здравите контроли.

## 5. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

### 5.1 Дизајн на истражувањето

Истражувањето се состои од две посебни студии со различен дизајн. Првичниот дел од истражувањето е ретроспективна дескриптивна епидемиолошка студија на дијагностицираните 422 пациенти со ТК на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина и пациенти од Одделот за нуклеарна медицина во Клиничка болница во Битола за периодот од 1999 до 2015, а втората студија е проспективна аналитичка експериментална случаи – контроли (case-control) студија на примерок од 59 испитаници, 2 здрави испитанци беа исклучени поради детекција на јазли во тироидната жлезда и во анализата без вклучени вкупно 57, од кои 17 здрави контроли и 40 селектирани случаи на пациенти со добро диференциран ТК.

### 5.2 Материјал

А) За првата студија се спроведе ретроспективна анализа на достапната медицинска документација на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина при Медицинскиот факултет во Скопје и Одделот за нуклеарна медицина при Клиничката болница во Битола, за периодот 1999 - 2015 година и се селектираа вкупно 422 пациенти со дијагностициран ТК во соодветниот период.

1. Вклучувачки критериум за пациентите со ТК во првата студија
  - Новодијагностициран ТК во соодветната година.
2. Исклучувачки критериум за пациентите со ТК во првата студија
  - Пациенти со ТК кои се странски државјани и се јавиле на институтот само за примање на радиојодна терапија, без понатамошно следење.

Од добиените податоци се спроведе анализа со споредба со постоечките резултати од претходни студии спроведени на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, Медицински факултет, УКИМ, Скопје, за периодот 1966 - 1988 година.

Б) За втората студија се спроведе проспективна анализа на одредување на експресијата на *mRNK-Tg* и *mRNK-TSHR* на вкупно 57 испитаници, од кои 40 пациенти со лекуван добро диференциран ТК (група 1, 2 и 3) и 17 здрави испитаници, без тироидно заболување (група 4).

Пациентите со ТК, според одговорот на терапија ги поделивме во три групи. Групите на пациенти се оформени слично на ризик стратификацијата опишана од Tuttle и сор., а базирано на наодите од стандардните лабораториски иследувања на серумските маркери (Тг и аТг), ултрасонографскиот преглед на вратна регија и јоден скен во тек на следењето [83, 89, 90].

Според овие критериуми пациентите со тироиден карцином беа групирани на:

- Група 1 - Пациенти со некомплетен морфолошки одговор на терапијата: перзистентен или ново дијагностициран локо-регионален рецидив или далечна метастаза, во која беа вклучени 22 пациенти;
- Група 2 - Пациенти со биохемиски некомплетен одговор: пораст на Тг или на аТг антитела, а во отсуство на локален морфолошки наод на рецидив на болеста, со вкупно 6 пациенти;
- Група 3 - Пациенти со одличен одговор: отсуство на клинички, биохемски и морфолошки (структурни) докази за болест, во која група беа вклучени 12 пациенти.

Во истражувањето беа вклучени и здрави контроли:

- Група 4 - 17 здрави испитаници.

Испитаниците беа вклучени во студијата по претходно потпишана писмена согласност за учество во истражувањето на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина.

Критериуми за испитаниците во втората студија беа:

1. Вклучувачки критериуми за пациентите со ТК во втората студија
  - Дијагностициран добро диференциран ТК (папиларен или фоликуларен карцином).
2. Вклучувачки критериуми за здравите испитаници во втората студија
  - Отсуство на тироидно заболување, ехографски нормално голема тироидна жлезда со изоехогена структура, отсуство на нодуси, лабораториски нормални вредности за тироидните хормони (слободен тироксин и тиреотропин) и негативни анти tiroидни антитела.
  - Негативна фамилијарна анамнеза за ТК.
3. Исклучувачки критериуми за пациентите со ТК во втората студија
  - Спроведена радиојодна терапија во последните 6 месеци;
  - Тенкоиглена аспирациона биопсија во последните 7 дена;
  - Ехографски преглед на денот на земање на примерокот на крв за анализата.
4. Исклучувачки критериуми за здравите испитаници во втората студија
  - Ехографски детектиран нодус во тироидна жлезда или нехомогена структура суспектна за автоимуно тироидно заболување;
  - Лабораториски вредности за слободен тироксин и тиреотропин надвор од зададените референтни вредности на лабораторијата при Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина;
  - Лабораториски детектирано присуство на покачен титар на анти tiroидни антитела.

Студијата е одобрена од Етичкиот комитет при Универзитетот „Св Кирил и Методиј“ Скопје и од сите испитаници кои беа вклучени во истражувањето е обезбедена информирана писмена согласност.

## 5.3 Методи

### 5.3.1 Методи на регистрирање и систематизирање на податоците

Во првата студија применивме ретроспективна анализа на податоците од достапната медицинска документација во архивот на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина за периодот од 1999 до 2015 година и се селектираат само Историите на болести на дијагностицираните ТК за соодветниот период за пациенти од Р. Македонија. Анализирани се податоците од базата за аплицирана радиојодна терапија од која исто така се издвоија пациентите кои се со дијагностициран ТК во зададениот временски период. Потоа се креира база од податоците од редовните контроли.

Протоколот на работа се состоеше во регистрирање на следните параметри:

- Демографски параметри
  - возраст на пациентите при дијагностицирање на болеста;
  - полот;
  - националност;
  - региони на потекло на пациентите.
- Ризик-фактори:
  - фамилијарна анамнеза и
  - преегзистирачка бенигна тироидна болест.
- Параметри при иницијален преглед на пациентот:
  - палпаторен наод;
  - големина на примарниот тумор детектирана на ехографскиот преглед, ехографски карактеристики на јазолот (ехогеност, присуство на калцинации),
  - проширеност на заболувањето во регионалните вратни лимфни јазли на иницијален преглед;
  - присуство на секундарни депозити во скелет и бели дробови на иницијален преглед;
  - предоперативни скенографски карактеристики на јазолот/јазлите од технициумски скен;
  - ФНАБ наоди.
- Параметри во тек на следење:
  - тип на оперативна интервенција;
  - хистопатолошкиот наод од оперативната интервенција;
  - постоперативни компликации;
  - број на радиојодни терапии применувани кај пациентите (аблативна и терапевска);
  - појава на локо-регионален рецидив на болеста;
  - појава на секундарни депозити;

- време на следење;
- преживување.

Од регистрираните податоци се спроведе статистичка анализа за секој од спомнатите атрибутивни и нумерички податоци. Со употреба на податоците од Републичкиот завод за статистика ја пресметавме вкупната преваленција на ТК во Р. Македонија како и преваленцијата по пол и годишната инциденција. Според официјалните податоци од Републичкиот завод за статистика, според последната евиденција од 2009 година, територијата на Македонија е поделена на 8 региони (Вардарски, Источен, Југозападен, Југоисточен, Пелагониски, Полошки, Северноисточен и Скопски) се одреди регионалната преваленција на ТК по статистичките региони и се одреди регионалната фреквенцијата на ТК по пол и по возрастни групи. Анализа се спроведе на иницијалните ехографски карактеристики, како големината на примарниот тумор, ехогеноста на лезијата, присуство на калцинации. Евалуација на примарниот наод од технициумски скен на тироидната жлезда. Анализа на иницијалниот стадиум на болеста (проширеност во вратни лимфни јазли, бели дробови, скелет, мозок на прв преглед) и корелација со терапискиот пристап, како бројот на применетите радиојодни терапии и прогностичките карактеристики, како должината на следење на пациентите. Корелација се направи и меѓу статистичките параметри на регистрираните пациенти во анализираниот период од 1999 до 2015 година, со податоците за пациентите во периодот од 1966 до 1988 година, а кои се претходно објавувани за да се утврди евентуално влијание на надворешни фактори, како што е разликата во спроведуваната јодна профилакса. Во собирањето на податоците се употребуваа податоци од редовни контроли од медицинската документација и телефонско интервју.

### 5.3.2 Молекуларни лабораториски методи

Во втората студија се примени молекуларна генетска техника реверзна транскриптна полимераза верижна реакција (РТ-ПВР) во примерок од периферна крв за одредување на експресијата на транскрипти за тумор специфични гени (*Tg* и *TSHR*) на пациентите со дијагностициран ТК и на контролна група од здрави испитаници, кај кои по детален преглед се исклучи тироидно морфолошко и функционално заболување. На сите испитаници кои се вклучија во истражувањето се направи ултрасонографски преглед на вратна регија со линеарна сонда за мали органи со фреквенција од 7.5 до 10 MHz (LN 12-3, Philips HD6) за да се констатира дали постојат морфолошки промени во структурата на тироидната жлезда кај здравите испитаници и да се евалуира локалниот наод во вратна регија. Наод на структурна промена во тироидната жлезда или во локалните лимфни јазли кај потенцијалните здрави контролни испитаници беше исклучувачки критериум. Ултрасонографски преглед се направи и кај пациентите кои се вклучија во истражувањето за иследување на локалниот статус во вратна регија, можен локален рецидив на болеста или појава на зголемени лимфни жлезди во вратна регија (Ia, Ib, IIa, IIb, III, IV, Va, Vb

и VI регион) кај пациентите со добро диференциран ТК (фоликуларен или папиларен). Потоа на сите пациенти со ТК со венепункција беше земен примерок на крв за анализа на тироидни хормони (слободен тироксин и ТСХ), кои се одредуваа во лабораторијата на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина со имунохемилуминисцентна метода на Immulite 2000, како и одредување на нивото на тиреоглобулин (Тг) и на антитиреоглобулински антитела (аТг) во серум, кај пациентите со дијагностициран ТК. По најмалку 1 недела од US прегледот и по претходно потпишана писмена согласност, се зема 6 mL примерок на периферна крв со венепункција во вакумтајнер со EDTA од пациентите и здравите испитаници. Кај пациентите кај кои беше спроведена аблативна радиојодна терапија, според стандардниот протокол се направи радиојоден скен на целото тело, а одлучивме во нашето истражување да има најмалку 6 месеци поминат временски период од аплицираната аблативна радиојодна терапија до моментот на земање на крвта за анализата. Примероците на крв се чуваа во сад со мраз и во најкраток рок (најдоцна до 30 мин од земањето на крв поради високата застапеност на РНази) беа префрлени во лабораторијата за генетски анализи при Институтот за судска медицина, каде што се изведе изолација на тотална циркулирачка РНК од примероците на периферна крв и потоа изолираната РНК се употреби во понатамошните анализи за реверзна транскрипна полимераза верижна реакција (РТ- ПВР).

#### 5.3.2.1 Изолација на тотална РНК

Во најкраток можен рок по земањето на примероците крв, поради високата застапеност на инаку убиквитарно присутни стабилни ензими РНази, се пристапи кон изолација на тоталната РНК. Изолацијата на РНК се изведе со користење на GenElute™ RNB 100 (Sigma – Aldrich) кит за изолација на тотална РНК според соодветниот протокол. Изолацијата се базира на спин колона хроматографија со примена на соодветна смола како сепарационен матрикс во колоните. На овој начин ја изолиравме РНК од останатите клеточни компоненти како што се протеините без употреба на фенол или хлороформ. Процесот влучува прво лизирање на клетките со примена на обезбеден во китот Buffer RL (реагенс кој содржи гванидиниумови соли), а на кој претходно му додадовме  $\beta$  – mercapthoethanol 10  $\mu$ l на 1 ml Buffer RL.  $\beta$  – mercapthoethanol го додадовме за подобро лизирање на клетките, особено за ткива за кои се знае дека имаат голема содржина на РНази и кога е потребно да се изолира РНК за понатамошни сензитивни апликации. Во микроцентрифугирачки колонки обезбедени со соодветниот кит за изолација додадовме не повеќе од 100  $\mu$ l полна некоагулирана крв. Потоа во истите се доде 350  $\mu$ l од подготвениот Buffer RL и се меша содржината на вортекс 15 s. Откако содржината во колонката стана транспарентна, додадовме 200  $\mu$ l 96% - 100% етанол во лизатот и на вортекс се меша содржината уште 10 s. Наредниот чекор се состоеше од спојување на колонката со собирна тубичка и лизатот со додадениот етанол го центрифугиравме за време од 1 минута на 6000 rpm. Притоа со центрифугирањето беше потребно целиот волумен на лизатот да мине

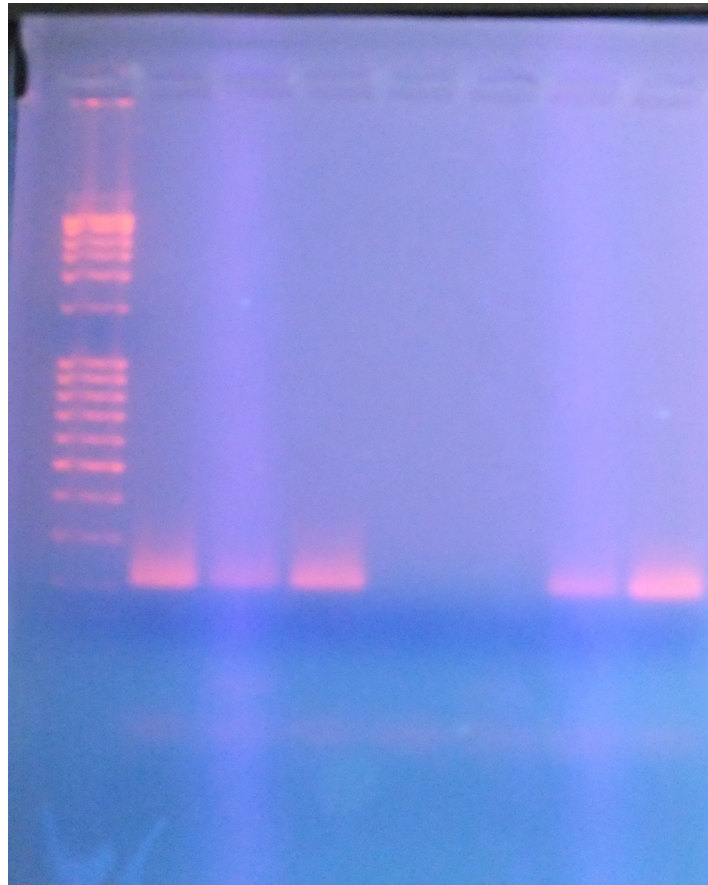
низ колонките во собирните тубички и по потреба центрифугиравме уште дополнителна 1 минута на 14000 rpm. Во наредниот чекор ја исплакнувавме содржината на колонките со Wash Solution A, содржината од собирните тубички се исфрла, истата процедура ја повторувавме уште два пати, а потоа колонките ги центрифугиравме уште 2 минути за да се исуши смолата. Последниот чекор од постапката на изолација се состоеше од РНК елуција со 50 µl од Elution Solution A во елуциони тубички од 1,7 ml кои се надоврзуваа на микроцентрифугирачките колонки и се центрифугираа 2 минути на 2 000 rpm, а потоа уште 1 минута на 14 000 rpm. Значајно е притоа целиот волумен од 50 µl да се елуирал, а во спротивно се повторуваше центрифугирањето на 14 000 rpm. Во 3 рандом одбрани примероци (2, 3 и 10) се одреди количината на тотално изолираната РНК со примена на Fluorometer (Qubit 3,0) и измерените вредности изнесуваа 11,2 ng/mL, 9,96 ng/mL и 11 ng/mL (или просечна количина од 10,72 ng/mL). Количина од 2 µl од изолираниот елуат, кој ја содржи вкупната изолирана РНК се примени во наредната етапа од анализата, односно во реверзна транскриптна полимераза верижна реакција (РТ-ПВР).

#### 5.3.2.2 Реверзна транскриптна полимераза верижна реакција

По изолацијата на тоталната РНК, се изведе РТ-ПВР во два чекори со примена на ReadyScript™ cDNA Synthesis Mix (Sigma-Aldrich). Китот ги содржи потребните пуфери, олигонуклеотиди (dNTPs), MgCl<sub>2</sub>, реверзна транскриптаза ензим изолиран од Moloney – вирусот на глувчешката леукемија (M-MLV), неспецифични прајмери, РНaza инхибиторен протеин, стабилизатори. Вкупната изолирана РНК од периферна крв се примени за синтеза на комплементарна ДНК (cDNK). Во 0,2 ml микротубички додадовме од ReadyScript™ cDNK Synthesis Mix 4 µl, потоа се додаде 2 µl од примерокот на изолираната РНК и Rnase/Dnase-free вода до вкупен волумен од 20 µl. Се центрифугираа кратко за да се соберат компонентите на дното од реакционата тубичка и потоа се инкубираа 5 мин на 25°C, 30 мин на 42°C и 5 мин на 85°C. По завршување на чекорот на синтеза на комплементарната ДНК, следувааше амплификацијата на *TSHR* и *Tg* специфичните ампликони со примена на соодветни специфични прајмери *TSHR-F* 5'-GCT TTT CAG GGA CTA TGC AAT GAA – 3' и *TSHR-R* 5'-AAG GGC AGT GAC ACT GGT TTG AGA-3', таргетиран за амплификација на сегментот кој ги опфаќа 6. – 9. егзон (555 – 767 нуклеотид 212 bp) и *Tg-F* 5'-AGG GAA ACG GCC TTT CTG AA-3' и *Tg-R* 5'-GTG GAG AAG ACG ACG ATT TC-3' таргетиран за сегментот на 1. – 5. егзон (112 – 519 нуклеотид 407 bp) [76]. За контрола се употреби *GAPDH* ген со убиквитарна експресија, со *GAPDH-F* 5'-TTC GTC ATG GGT GTG AAC C – 3' и *GAPDH-R* 5'-GAT GAT GTT CTG GAG AGC CC – 3' за да се потврди успешноста на РНК екстракцијата со РТ-ПВР. За полимераза верижната реакција во реално време се употреби Hot FirePol Eva Green qPCR Mix Plus (Rox) како ПВР мастер микс. Реакционата мешавина беше инкубирана за иницијална активација на 95°C 15 min – 1 циклус, а потоа денатурација на 95°C 15 s, анилирање 62°C 20 s и елонгација 72°C 20 s – во тек на 38 циклуси за *TSHR* и *Tg* генот, додека за *GAPDH* денатурација на 95°C 15 s,



анилирање  $57^{\circ}\text{C}$  20 s и елонгација  $72^{\circ}\text{C}$  20 s – во тек на 38 циклуси. Анилирањето е најделикатната фаза за оптимизирање на ПВР реакцијата, а приближно оптималната температура за анилирање се пресмета преку секвенците на олигонуклеотидните прајмери и од тука се одредени различната температурна точка за фазата на анилирање за референтниот ген (*GAPDH*) и за таргет гените. Анализата се изведе во трипликат. За да се осигура амплификацијата на продуктот со соодветна големина, се изведе и електрофореза на агароза гел на анализираните примероци (Сл. 1).



Сл.1 Електрофореза на агароза гел на анализираните примероци за TSHR (555 – 767 нуклеотид 212 bp) за испитаник 1 – 8

### 5.3.2.3 Релативна квантификација на резултатите со употреба на $2^{-\Delta\Delta C_t}$ метод

Анализата на добиените податоци се изрази со релативна квантификација на експресијата на анализираните гени за *Tg* и *TSHR* нормализирани со убиквитарниот ген *GAPDH* со примена на  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  методот.  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  пресметката се однесува на промена на експресијата на таргет гените нормализирани во однос на ендогениот референтен ген и потоа пресметана разлика на средните вредности помеѓу групите на пациенти и контролната група, а добиената вредност се изразува како *fold change* или степен на промена на таргет гените меѓу различните групи. За таа цел го одредивме праговниот циклус „threshold cycle“ ( $C_t$ ) за секој ген. Методологијата на пресметување се базира на експоненцијалната амплификација при ПВР, која може да се опише со следното равенство:

$$X_n = X_0 \cdot (1 + E_x)^n$$

$X_n$  – е бројот на молекулите во  $n$  циклус од реакцијата

$X_0$  – е иницијалниот број на таргет молекули

$E_x$  – е амплификационата ефикасност

Тогаш во праговниот циклус  $C_t$  за таргет генот ќе важи следното равенство:

$$X_t = X_0 \cdot (1 + E_x)^{C_{t,x}} = K_x$$

$X_t$  – е бројот на молекулите во  $C_t$  од реакцијата

$K_x$  – е константа.

За референтниот ген ќе важи следното равенство:

$$R_t = R_0 \cdot (1 + E_R)^{C_{t,R}} = K_R$$

$R_t$  – е бројот на молекули на референтниот ген во праговниот циклус

$R_0$  – е иницијалниот број на молекули на референтниот ген

$E_R$  – е амплификационата ефикасност на референтниот ген

$K_R$  – е константа.

Со употреба на претходните формули може да претставиме дека:

$$[X_t = X_0 \cdot (1 + E_x)^{C_{t,x}}] / [R_t = R_0 \cdot (1 + E_R)^{C_{t,R}}] = K_x / K_R = K$$

Ако претпоставиме дека ефикасноста на амплификација е иста за референтниот и таргет генот, односно  $E_x = E_R = E$ , тогаш

$$X_0/R_0 \cdot (1 + E)^{C_{t,x} - C_{t,R}} = K$$

$X_0/R_0 = X_n$  – е нормализираната количина на таргет генот во однос на референтниот ген

$$C_{t,x} - C_{t,R} = \Delta C_t$$

$$X_n \cdot (1 + E)^{\Delta C_t} = K, \text{ односно}$$

$$X_n = K \cdot (1 + E)^{-\Delta C_t}$$

Ако сакаме да ги споредиме експесиите на таргет гените помеѓу различните групи, на пример пациенти со тироиден карцином (ТК) и здравите контроли (К), тогаш ќе ги замениме во формулата следните вредности:

$$X_{n,TK} / X_{n,K} = K \cdot (1 + E)^{-\Delta C_{t,TK}} / K \cdot (1 + E)^{-\Delta C_{t,K}} = (1 + E)^{-\Delta \Delta C_t}$$

$$-\Delta \Delta C_t = -(-\Delta C_{t,TK} - \Delta C_{t,K})$$

$(1 + E)^{-\Delta \Delta C_t}$ , ако претпоставиме дека  $E$  – ефикасноста на амплификација е блиску до 1, од соодветната претпоставка произлегува

$$2^{-\Delta \Delta C_t} \text{ изразот за пресметување.}$$

Во нашата анализа ја пресметавме разликата на праговните циклуси  $\Delta C_t$  за двата таргет гени, нормализирани за референтниот, а потоа разликата на просечните вредности за  $C_t$  меѓу здравите контроли и трите групи на пациенти ( $\Delta \Delta C_t$ ) и релативната експесија со примена на  $2^{-\Delta \Delta C_t}$  методот, каде што  $\Delta \Delta C_t = (\text{average } C_t \text{ TCXP/или Tg} - \text{average } C_t \text{ GAPDH})$  и  $2^{-\Delta \Delta C_t} = [\Delta C_t(\text{TK}) - \Delta C_t(\text{здрави контроли})]$  [91, 92, 93].

Од добиените резултати се спроведе статистичка анализа за утврдување на постоење на статистички сигнификантна разлика помеѓу здравите контроли и пациентите со тироидни карциноми.

## 6. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА

Податоците добиени со истражувањето беа обработени во соодветни статистички програми (Statistica for Windows 7,0 и SPSS верзија 14), и прикажани табеларно и графички.

Инциденцијата и преваленцијата е употребена за утврдување на новите и вкупните случаи на ТК по години и за вкупниот период.

Развојната тенденција на бројот на ТК за анализираните периоди е претставена со тренд. Анализата на атрибутивните (квалитативни) серии беше правена преку одредување на коефициент на односи, пропорции и стапки. Нумеричките (квантитативни) серии беа анализирани со употреба на мерките на централна тенденција и мерки на дисперзија (стандардна девијација и стандардна грешка). Chi square, Fischer exact test и Fisher-Freeman-Halton exact test беа користени за компарирање на одредени белези меѓу двете групи на испитаници како и за утврдување на асоцијацијата меѓу одредени белези во групата испитаници.

Spearman Rang Order Correlation се употреби за утврдување на корелацијата меѓу две варијабли, односно во анализата на корелацијата на димензијата на туморот и присуството на секундарни депозити во вратните лимфни јазли, корелација меѓу присуството на секундарни депозити во вратните лимфни јазли и број на радиојодни терапии и вкупна доза на радиојодна терапија, корелација меѓу асоцираноста на хистопатолошките типови на ТК со присуство на далечни метастази и присуство на далечни метастази и вкупна радиојодна терапија, корелација на временскиот период до аблативна терапија и последниот ултрасонографски наод, како и за анализа на корелацијата на  $\Delta C_t$  вредноста за *TSHR* и *Tg*, со повеќе варијабли како стадиум на болеста, *Tg*, радиојодна терапија.

Кај нумеричките серии со неправилна дистрибуција, за споредба на просечните вредности беше користен непараметарски тест за независни примероци Mann Whitney U test, односно соодветната статистичка анализа ја применивме во интергрупната споредба во однос на просечната вредност за  $\Delta C_t$  вредноста за *TSHR* и *Tg*.

Одредена е позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност, сензитивноста и специфичноста на ФНАБ во однос на хистопатолошкиот наод како златен стандард.

Пресметувањето на ризиците се одредуваше со помош на стапки на предимство (Odd ratio – OR). Униваријантна и мултипла логистичка регресиона анализа беше употребена за одредување и квантифицирање на независните значајни предиктори за далечни метастази. Униваријантна и мултипла линеарна регресиона анализа беше употребена за одредување и квантифицирање на независните значајни предиктори за вкупна доза на радиојодна терапија.

Преживувањето е одредувано со примена на Kaplan-Meier методот, поединечно за секој хистопатолошки тип на ТК.

Униваријантен Cox Proportional model е користен за пресметување на влијанието на одредени параметри на времето на преживување.

За утврдување на статистичка значајност беше користено ниво на сигнификантност од  $p < 0,05$ .

## 7. РЕЗУЛТАТИ

Истражувањето беше составено од две целини кои се однесуваат на две посебни студии со различен дизајн. Првиот дел од истражувањето беше ретроспективна студија на дијагностицирани пациенти со ТК на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина „Академик Исак Таџер“, Медицински факултет, УКИМ во Скопје како и на одделот за нуклеарна медицина во Клиничка болница „Д-р Трифун Пановски“ во Битола за периодот од 17 години (1999 - 2015). Вториот дел од истражувањето преставуваше аналитичка проспективна „case-control“ студија за одредување на експресија на транскрипти за тумор специфични гени, со детекција на информативна РНК (mRNA) за тиреоглобулин (*Tg*) и ТСХ рецептор генот (*TSHR*). Овој дел од истражувањето беше спроведуван на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина и во Генетската лабораторија при Институтот за судска медицина при Медицински факултет, УКИМ во Скопје во периодот 2016/2017 година.

За исполнување на целите на истражувањето беше користена постоечката медицинска документација и телефонско интервју и се примени принципот на почитување на анонимноста на идентитетот на пациентите.

### 7.1 Анализа на појава на ТК (1966 - 2015 година)

Во првиот дел од истражувањето беа направени анализи на динамиката на појавата (секуларните варијации) на ТК во три временски периоди, и тоа: а) 1966 до 1988 година, при што ги применивме податоците од претходно објавени студии [94, 95]; б) за 1989 до 1998 година статистички проценет тренд, односно претпоставен број на случаи, според фреквенцијата на дијагностицирани случаи од претходниот 23-годишен период; и в) последниот период е анализата која ја спроведовме на дијагностицираните случаи на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина во Скопје и на одделот за нуклеарна медицина во Битола од 1999 до 2015 година. Секој од посочените периоди беше анализиран поединечно со сумарна анализа на развојната тенденција на појавата на ТК за целиот период од 50 години.

#### 7.1.1 Динамика на појава на ТК (1999 - 2015 година)

За анализираниот временски период (1999 - 2015 година), истражувањето се однесуваше на анализата на постоечката медицинска документација за бројот на ТК дијагностицирани на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, Медицински факултет, УКИМ во Скопје и пациенти од Одделот за нуклеарна медицина при Клиничка болница во Битола.

Во временскиот период од 17 години (1999 - 2015) биле дијагностицирани вкупно 422 (100%) пациенти со ТК (Табела 1). Најголем број на дијагностицирани пациенти со ТК имало во 2015 година, и тоа 55 (13%), во 2014 година биле регистрирани 45 (10,7%) случаи и 2013 година со 33 (7,8%) случаи. Најмал број на случаи со ТК во испитуваниот период, и тоа со по 14 (3,3%), биле регистрирани во 1999, 2001, 2003 и 2005 година, а потоа во 2002 и 2004 година со консеквентно 17 (4%) vs 18 (4,3%) случаи.

**Табела 1.** Дијагностицирани случаи со тироиден карцином по години (1999 - 2015)

Реден Број	Година	Дијагностицирани случаи со тироиден карцином	
		Број	%
1	1999	14	3,32
2	2000	22	5,21
3	2001	14	3,33
4	2002	17	4,03
5	2003	14	3,32
6	2004	18	4,26
7	2005	14	3,32
8	2006	26	6,16
9	2007	22	5,21
10	2008	26	6,16
11	2009	27	6,40
12	2010	24	5,69
13	2011	24	5,69
14	2012	27	6,40
15	2013	33	7,82
16	2014	45	10,66
17	2015	55	13,03
Вкупно		422	100%

На график 1 прикажан е линискиот дијаграм на варијациите на дијагностицираните ТК во периодот 1999 - 2015 година. Истовремено на графикот е дадена и развојната тенденција (трендот) на појавата на ТК во испитуваниот период. Добиениот тренд укажува на тенденција на растење на бројот на дијагностицирани ТК во периодот 1999 - 2015 година (График 1).

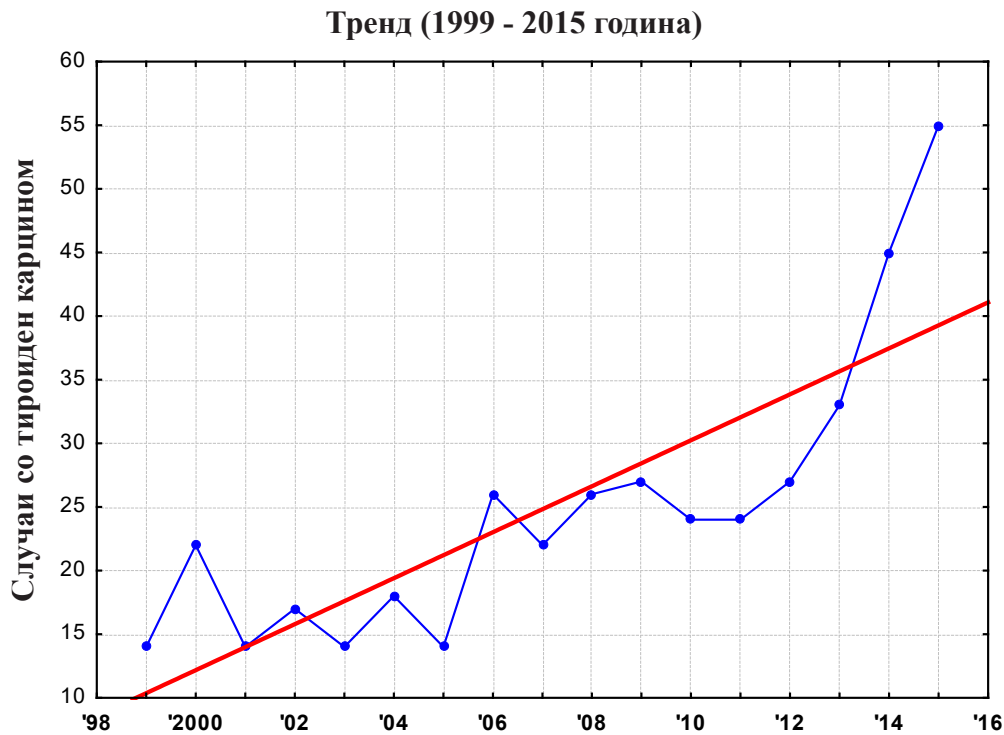


График 1. Тренд на случаи со тироиден карцином (1999 - 2015)

#### 7.1.2 Динамика на појава на ТК (1966 - 1988 година)

Податоците се превземени за анализа од претходниот временски период (1966 - 1988 година) за споредба со последната анализирана декада. Истражувањето се однесуваше на анализа на постоечка литература - публикувани студии за бројот на ТК дијагностицирани на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, Медицински факултет, УКИМ во Скопје [94, 95].

Во временскиот период од 23 години (1966 - 1988) биле дијагностицирани вкупно 323 пациенти со ТК (Табела 2). Најмал број на дијагностицирани пациенти со ТК имало во 1968 и 1972 година, и тоа по 3 случаи, додека најголем број, и тоа 25 биле регистрирани во 1984 година. Бројот на дијагностицирани случаи по години укажува на постојана тенденција на зголемување со стабилизација во последните години (1984 - 1988) кога бројот на случаи се движи од минимум 20 (1987 година) до максимум 25 (1984 и 1986 година) [94, 95].



Табела 2. Дијагностицирани случаи со тироиден карцином по години (1966 - 1988)

Реден Број	Година	Број на дијагностицирани случаи со тироиден карцином
1	1966	7
2	1967	6
3	1968	3
4	1969	6
5	1970	7
6	1971	6
7	1972	3
8	1973	7
9	1974	11
10	1975	9
11	1976	9
12	1977	13
13	1978	20
14	1979	19
15	1980	18
16	1981	20
17	1982	27
18	1983	18
19	1984	25
20	1985	22
21	1986	25
22	1987	20
23	1988	22
Вкупно		323

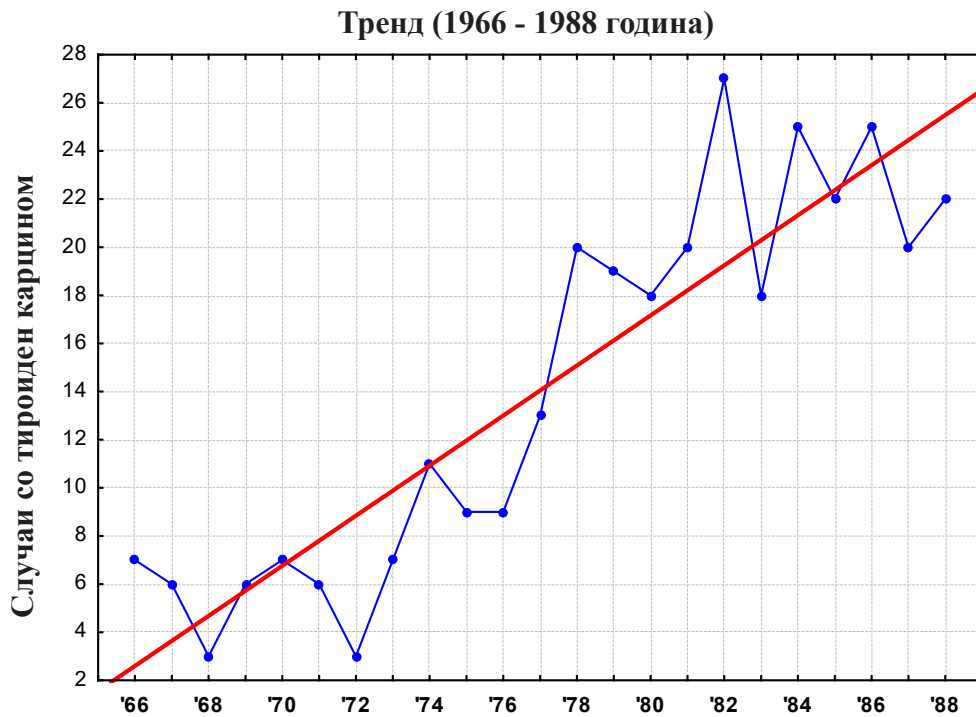


График 2. Тренд на случаи со тироиден карцином (1966 - 1988)

На график 2 прикажан е линискиот дијаграм на варијациите на дијагностицираните ТК за периодот 1966 - 1988 година. Истовремено на графикот е дадена и развојната тенденција (трендот) на појавата ТК во испитуваниот период. Добиениот тренд укажува на тенденција на растење на бројот на дијагностицираните ТК во периодот од 1966 до 1988 година (График 2).

### 7.1.3 Проценка на очекуваната динамика на појава на ТК (1989 - 1998 година)

За временскиот период 1989 - 1998 година поради отсуство на прецизни податоци за бројот на новорегистрирани случаи, се спроведе статистичка анализа за естимација на бројката на ТК. Бројот на случаи со ТК за овој период е утврден со користење на модел на прогнозирачки тренд, чие предвидување е базирано на бројот на дијагностицирани случаи на ТК во претходните години.

Во временскиот период од 10 години (1989 - 1998) предвидениот број на случаи со ТК пресметавме дека би требало да изнесува околу 321 (Табела 3). Според трендот од претходниот период предвидениот број на случаи по години (1989 - 1998) укажува на постојана тенденција на зголемување.

**Табела 3.** Статистички претпоставен број на случаи со тироиден карцином по години (1989 - 1998)

Реден Број	Година	Предвиден број на случаи со тироиден карцином
1	1989	26,52
2	1990	28,01
3	1991	29,41
4	1992	30,49
5	1993	31,76
6	1994	33,04
7	1995	34,16
8	1996	34,86
9	1997	35,71
10	1998	36,76
Вкупно		320,72

На график 3 е прикажан предвидениот линиски дијаграм на варијациите на појавата на ТК за периодот 1989 - 1998 година. Истовремено на графикот е прикажана и прогнозирачката развојната тенденција (прогнозирачки тренд) на појавата на ТК во испитуваниот период. Добиениот тренд укажува на претпоставена тенденција на растење на појавата на ТК во периодот од 1989 до 1998 година (График 3).

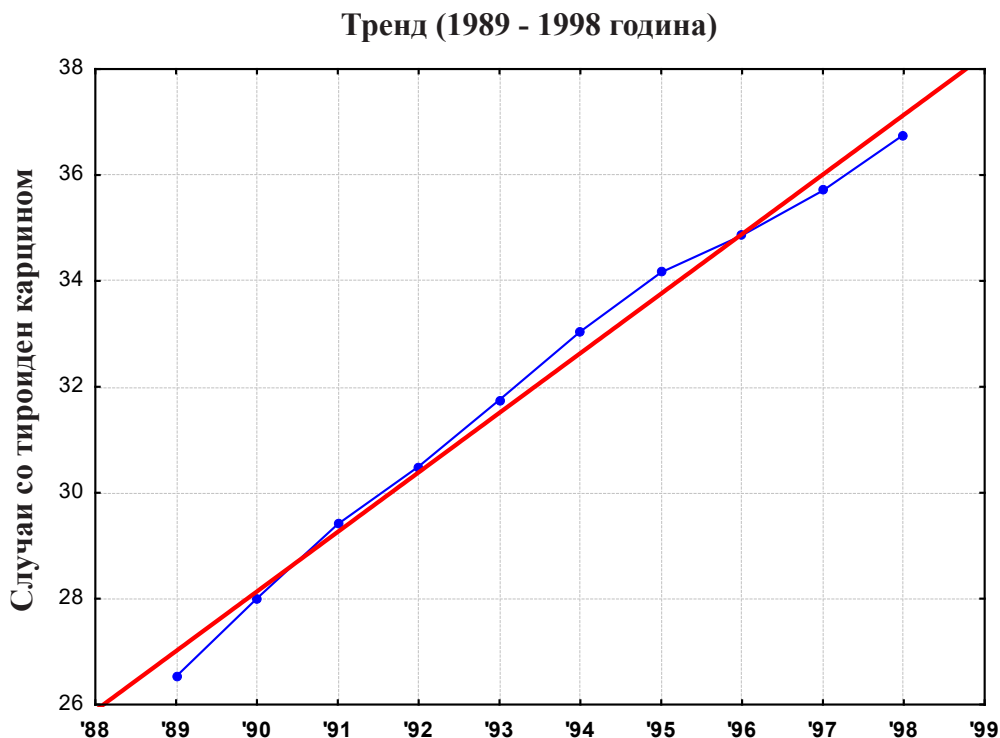


График 3. Прогнозирачки тренд на случаи со тироиден карцином (1989 - 1998)

#### 7.1.4 Динамика на појава на ТК (1966 - 2015 година)

Во трите анализирани периоди: а) 1966 до 1988 година; б) 1989 до 1998 година; и в) 1999 до 2015 година биле регистрирани консеквентно 244 vs 321 vs 422 случаи со ТК. Анализата укажува дека во текот на периодот од 50 години (1966 - 2015 година) вкупниот број на случаи со ТК во Р. Македонија е проценето дека изнесувал околу 987.

На график 4 е прикажан линискиот дијаграм на варијациите на бројот на ТК во периодот 1966 - 2015 година. Графикот ја прикажува и развојната тенденција (трендот) на појавата на ТК во испитуваниот период од педесет години. Добиениот тренд укажува на континуирана тенденција на растење на појавата на ТК во периодот од 1966 до 2015 година (График 4).

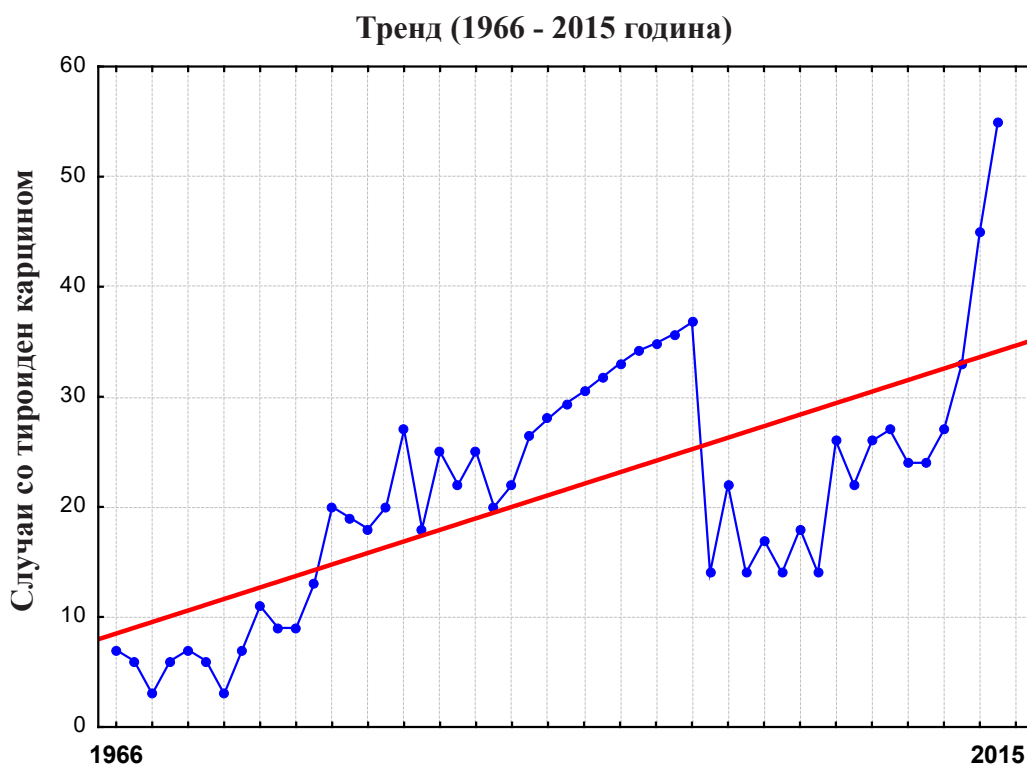


График 4. Тренд на случаи со тироиден карцином (1966 - 2015)

#### 7.2 Инциденција и преваленција на ТК (1999 - 2015 година)

Во рамките на согледувањето на епидемиолошките карактеристики на примерокот на ТК за периодот од 1999 до 2015 година, беше направена анализа на инциденцијата и преваленцијата според одредени демографски параметри. Пресметувањата за инциденцијата беа калкулирани во согласност со проценките за бројот на вкупното население и проценките според демографските варијабли добиени од Државниот завод за статистика на Р. Македонија, и тоа: а) за периодот од 1999 до 2001 според проценките за население од 1994 година (1.945.932 жители); б) за периодот од 2002 до 2011 според проценката за население

од 2002 година (2.020.157 жители); и в) за периодот од 2012 - 2015 според проценката за население од 2012 година (2.061.044 жители). Пресметувањето на преваленцијата беа правени во согласност со пописот на населението од 2002 година (2.020.157 жители) [96].

#### 7.2.1 Инциденција на ТК по години (1999 - 2015 година)

Инциденцијата на ТК за периодот од 1999 до 2015 година е пресметувана на 100.000 жители ( $10^5$ ) земајќи ги во предвид проценките за бројот на население според Државниот завод за статистика споменати погоре во текстот. Анализата се однесува на примерокот од 422 (100%) дијагностицирани ТК на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, Медицински факултет, УКИМ во Скопје и Одделот за нуклеарна медицина при Клиничка болница во Битола.

Анализата по години (1999 - 2015) укажала на континуирано зголемување на инциденцијата на регистрираните ТК со незначителни мали падови во поедини последователни години. Поединечно по години, најниска инциденција на ТК од  $0,69/10^5$  е регистрирана во 2003 и 2005 година, потоа со  $0,72/10^5$  во 1999 и 2001 (Табела 4 и График 5). Највисока инциденција на ТК од  $2,67/10^5$  е регистрирана во 2015 година, потоа со  $2,18/10^5$  во 2014 година и  $1,60/10^5$  во 2013 година.

**Табела 4.** Инциденција на тироиден карцином по години (1999 - 2015) на 100.000 жители

Година	Број на ТК	Инциденција на ТК на $10^5$ жители	Просечна инциденција на ТК на $10^5$ жители (три периоди)	Просечна инциденција на ТК на $10^5$ жители
1999	14	0,72	0,83	1,22
2000	22	1,13		
2001	14	0,72		
2002	17	0,84		
2003	14	0,69		
2004	18	0,89		
2005	14	0,69	1,15	
2006	26	1,29		
2007	22	1,09		
2008	26	1,29		
2009	27	1,34		
2010	24	1,19		
2011	24	1,19	1,79	
2012	27	1,31		
2013	33	1,60		
2014	45	2,18		
2015	55	2,67		

Графичкиот приказ на инциденцијата на ТК по години (1999 - 2015) на 100.000 жители е прикажана на график 5 подолу во текстот.

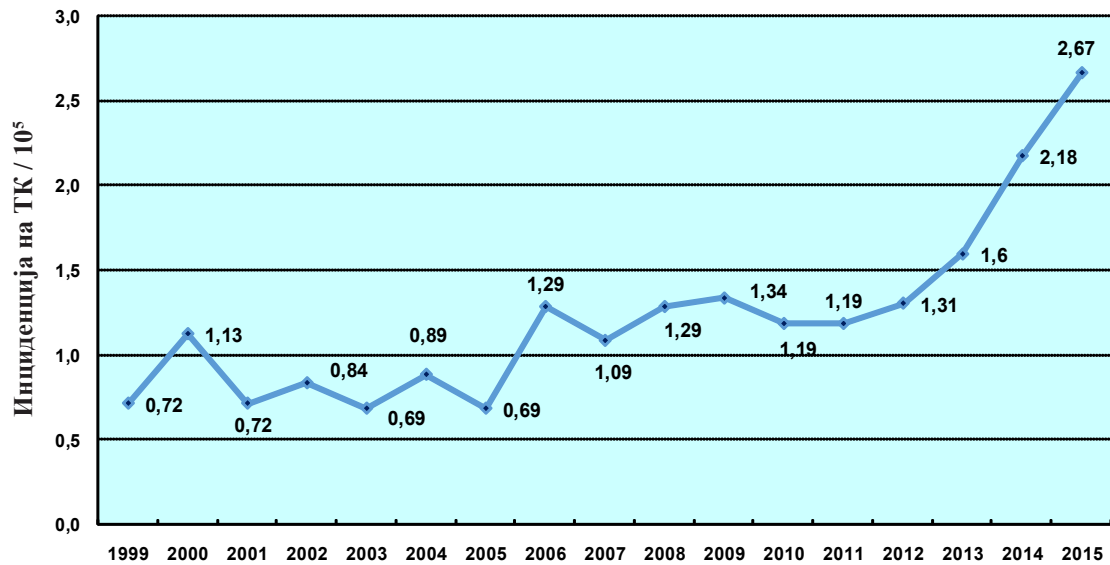


График 5. Инциденција на тироиден карцином по години (1999 - 2015) на 100.000 жители

Просечната инциденција на ТК во испитуваниот период од 17 години (1999 - 2015) изнесувала  $1,22/10^5$  жители. Во трите анализирани временски периоди: 1999 - 2004, 2005-2010 и 2011 - 2015 просечната инциденција на ТК изнесувала консеквентно  $0,83/10^5$  vs  $1,15/10^5$  vs  $1,79/10^5$  (Табела 4 и График 6). Анализата укажува на зголемување на просечната инциденција на ТК, и тоа: а) во периодот 2005 - 2010 во однос на периодот 1999 - 2004 за 27,8% ; б) во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 2005 - 2010 за 35,8%, а во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 1999 - 2004 за 52,8% (Табела 4 и График 6).

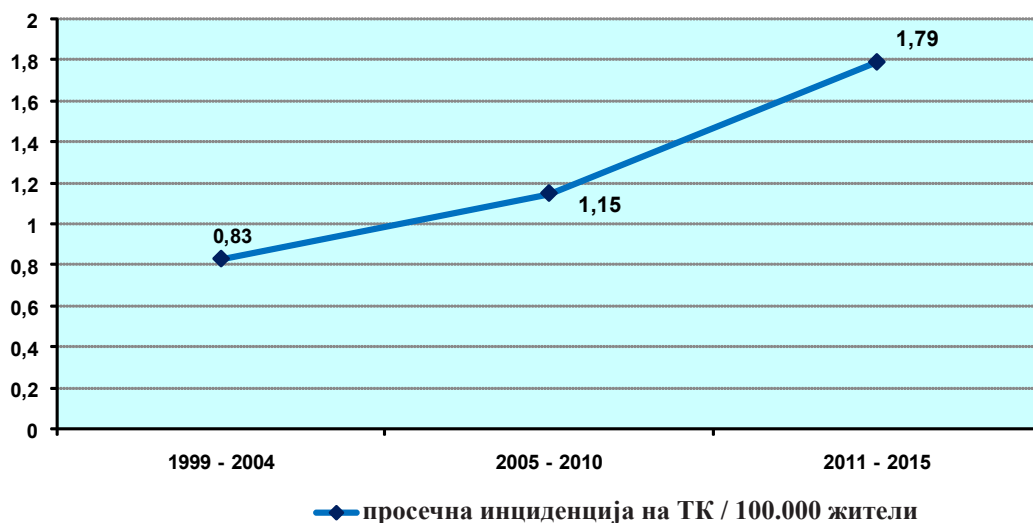


График 6. Просечна инциденција на ТК за три временски периоди на 100.000 жители

## 7.2.2 Годишна инциденција на ТК по региони (1999 - 2015 година)

Во рамките на истражувањето направена е дополнителна анализа на примерокот во однос на инциденцијата на ТК за периодот од 1999 до 2015 година според осум статистички региони (Вардарски, Источен, Југозападен, Југоисточен, Пелагониски, Полошки, Североисточен, и Скопски). Пресметувањето беше направено на 10.000 жители ( $10^4$ ) земајќи ги во предвид проценките за бројот на население според Државниот завод за статистика споменати погоре во текстот [96].

Табела 5. Ициденција на ТК по региони и години (1999 - 2015) на 10.000 жители

Години	<sup>1</sup> Вардар.		<sup>2</sup> Источен		<sup>3</sup> Југозап.		<sup>4</sup> Југоист.		<sup>5</sup> Пелагон.		<sup>6</sup> Полош.		<sup>7</sup> Северои.		<sup>8</sup> Скопски	
	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>	Број	*И/10 <sup>4</sup>
1999	0	0	1	0,05	3	0,14	1	0,06	2	0,08	1	0,04	2	0,12	4	0,07
2000	3	0,23	2	0,1	3	0,14	0	0	2	0,08	0	0	3	0,18	4	0,07
2001	3	0,23	0	0	0	0	0	0	1	0,04	2	0,07	2	0,12	6	0,11
2002	1	0,08	0	0	2	0,09	0	0	3	0,13	3	0,1	1	0,06	7	0,12
2003	0	0	3	0,15	1	0,05	3	0,18	0	0	0	0	1	0,06	5	0,09
2004	1	0,08	4	0,2	1	0,05	0	0	2	0,08	1	0,03	2	0,12	6	0,1
2005	0	0	3	0,15	2	0,09	1	0,06	0	0	0	0	2	0,12	6	0,1
2006	0	0	3	0,15	3	0,14	2	0,12	2	0,08	0	0	5	0,29	10	0,17
2007	1	0,08	3	0,15	2	0,09	2	0,12	1	0,04	2	0,07	1	0,06	10	0,17
2008	1	0,08	5	0,25	0	0	0	0	1	0,04	2	0,07	2	0,12	15	0,26
2009	3	0,23	1	0,05	4	0,18	1	0,06	3	0,13	3	0,1	2	0,12	10	0,17
2010	4	0,3	4	0,2	3	0,14	1	0,06	0	0	1	0,03	2	0,12	9	0,16
2011	1	0,08	6	0,3	2	0,09	2	0,12	1	0,04	4	0,13	4	0,23	2	0,03
2012	1	0,07	1	0,06	3	0,14	3	0,17	1	0,04	2	0,06	2	0,11	13	0,21
2013	3	0,2	3	0,17	2	0,09	1	0,06	3	0,13	0	0	3	0,17	16	0,26
2014	3	0,2	3	0,17	7	0,32	3	0,17	5	0,21	5	0,16	2	0,11	17	0,28
2015	3	0,2	3	0,17	5	0,23	1	0,06	9	0,39	4	0,13	3	0,17	27	0,44

<sup>1</sup>Вардарски, <sup>2</sup>Источен, <sup>3</sup>Југозападен, <sup>4</sup>Југоисточен, <sup>5</sup>Пелагониски, <sup>6</sup>Полошки, <sup>7</sup>Североисточен, <sup>8</sup>Скопски  
\*ициденција/10<sup>4</sup>

Од вкупниот примерок на 422 (100%) регистрирани случаи со ТК за 13 (3,1%) случаи нема податок за регионот во кој живеат. Анализата на останатите испитаници во примерокот укажа дека највисока односно најниска инциденција на 10.000 жители по



региони и години имало консеквентно во: а) Вардарски -  $0,23/10^4$  (2000 и 2001) vs  $0/10^4$  (1999, 2003, 2005 и 2006); б) Источен -  $0,3/10^4$  (2011) vs  $0/10^4$  (2001 и 2001); в) Југозападен -  $0,18/10^4$  (2009) vs  $0/10^4$  (2001 и 2008); г) Југоисточен -  $0,18/10^4$  (2003) vs  $0/10^4$  (2000, 2001, 2002, 2004 и 2008); д) Пелагониски -  $0,39/10^4$  (2015) vs  $0/10^4$  (2003, 2005 и 2010); е) Полошки -  $0,16/10^4$  (2014) vs  $0/10^4$  (2000, 2003, 2005, 2006 и 2013); е) Североисточен -  $0,29/10^4$  (2006) vs  $0,06/10^4$  (2002, 2003 и 2006); и ж) Скопски -  $0,44/10^4$  (2015) vs  $0,03/10^4$  (2011). Во 17-годишниот период на анализа највисока инциденција е регистрирана во Скопскиот Регион -  $0,44/10^4$  (2015). Регион во кој најголем број на години не е регистриран ТК е Југоисточниот, и тоа пет години (2000, 2001, 2002, 2004 и 2008). Табеларниот и графичкиот приказ на инциденцијата на ТК по региони и години (1999 - 2015) на 10.000 жители е даден во табела 5 и график 7.

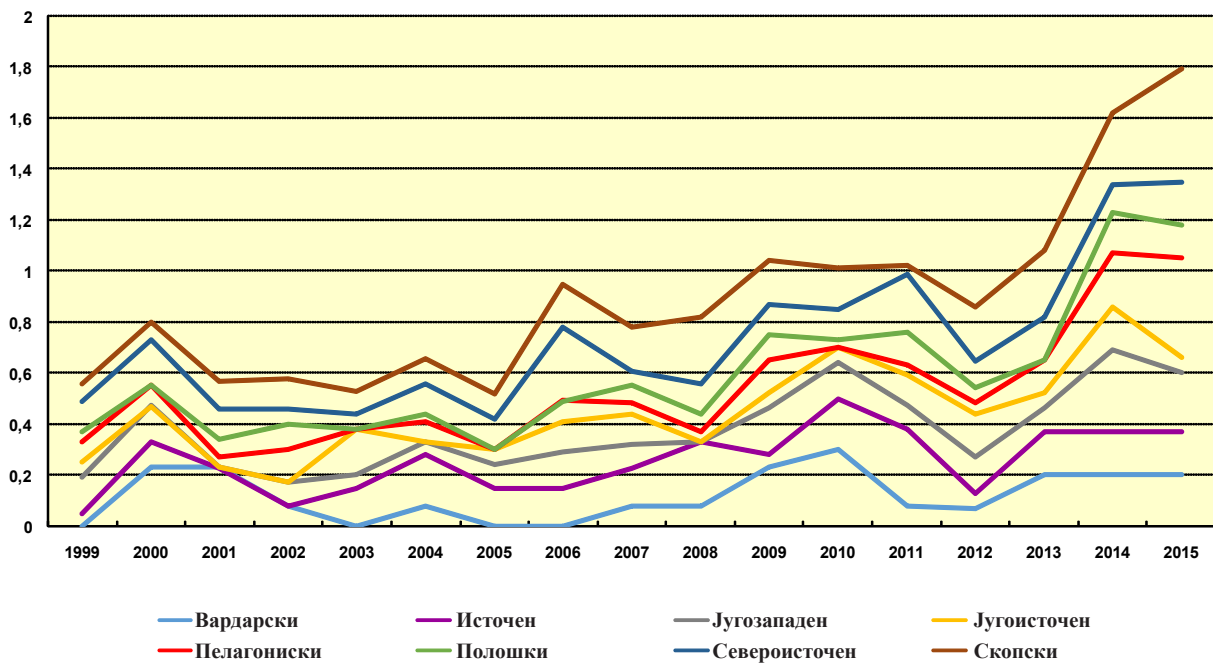


График 7. Ициденција на ТК по региони и години (1999 - 2015) на 10.000 жители

Во рамките на истражувањето направена е дополнителна анализа на просечната инциденција на ТК по региони во три анализирани временски периоди, и тоа: 1999 - 2004, 2005 - 2010 и 2011 - 2015 (Табела 6 и График 8). Во секој нареден временски период согледано е растење на просечната инциденција на ТК. Исклучок е Пелагонискиот Регион каде што се забележува намалување на просечната инциденција во периодот 2005 - 2010 споредено со периодот 1999 - 2004 за консеквентно  $0,05/10^4$  vs  $0,07/10^4$  или намалување за 28,6%.

Во периодот 1999 - 2004 највисока просечна инциденција на ТК имало во Североисточниот Регион  $0,11/10^4$ , потоа во Вардарскиот со  $0,1/10^4$ . Во периодот 2005 - 2010 година највисока просечна инциденција на ТК имало во Скопскиот Регион, и тоа  $0,17/10^4$  и во Источниот Регион каде што таа изнесувала  $0,16/10^4$ . Во периодот 2011 - 2015 година

највисока просечна инциденција на ТК имало во Скопскиот Регион  $0,24/10^4$ , понатаму во Источниот и Југозападниот Регион каде што таа изнесувала по  $0,17/10^4$ . Во Полошкиот Регион просечната инциденција на ТК во периодите 1999 - 2004 и 2005 - 2010 останала непроменета и изнесува  $0,04/10^4$ . Најголемо зголемување на просечната инциденција на ТК било регистрирано во Скопскиот Регион, од  $0,09/10^4$  за периодот 1999 - 2004 на  $0,24/10^4$  за периодот 2011 - 2015 година, со зголемување за 62,5% (Табела 6 и График 8).

Табела 6. Просечна инциденција на ТК за три периоди на 10.000 жители по региони

Временски Период	Просечна инциденција на 10.000 жители по региони							
	<sup>1</sup> Вардар.	<sup>2</sup> Источен	<sup>3</sup> Југозап.	<sup>4</sup> Југоист.	<sup>5</sup> Пелагон.	<sup>6</sup> Полош.	<sup>7</sup> Северои.	<sup>8</sup> Скопски
1999 - 2004	0,10	0,08	0,08	0,04	0,07	0,04	0,11	0,09
2005 - 2010	0,11	0,16	0,11	0,07	0,05	0,04	0,14	0,17
2011 - 2015	0,15	0,17	0,17	0,12	0,16	0,10	0,16	0,24

<sup>1</sup>Вардарски, <sup>2</sup>Источен, <sup>3</sup>Југозападен, <sup>4</sup>Југоисточен, <sup>5</sup>Пелагониски, <sup>6</sup>Полошки, <sup>7</sup>Североисточен, и <sup>8</sup>Скопски

Графичкиот приказ на просечна инциденција на тироидни карциноми за три периоди на 10.000 жители по региони е даден на график 8 подолу во текстот.

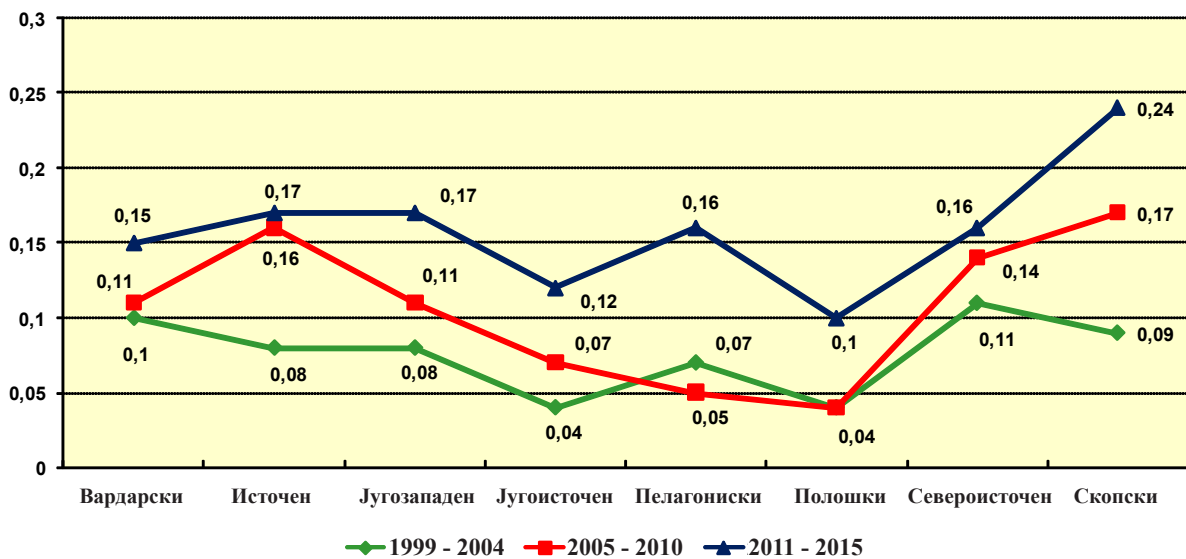


График 8. Просечна инциденција на ТК за три периоди на 10.000 жители по региони

## 7.2.3 Годишна инциденција на ТК по пол (1999 - 2015 година)

Годишна инциденцијата по пол е пресметувана на 10.000 жители ( $10^4$ ) земајќи ги во предвид проценките за бројот на население според Државниот завод за статистика споменати погоре во текстот [96].

Анализата на пациентите од женски пол по години (1999 - 2015) укажала дека најниска инциденција на ТК од  $0,08/10^4$  е регистрирана во 1999 година, следено со  $0,09/10^4$  во 2005 и  $0,11/10^4$  во 2003 (Табела 7 и График 9). Највисока инциденција на ТК кај женскиот пол е регистрирана во 2015 година -  $0,42/10^4$ , односно со  $0,38/10^4$  во 2014 година и  $0,24/10^4$  во 2013 година.

**Табела 7.** Инциденција на тироиден карцином по пол и години (1999 - 2015) на 10.000 жители

Година	Пол					
	жени	Инциденција на ТК на $10^4$ жени	Просечна инциденција на ТК на $10^4$ жени	мажи	Инциденција на ТК на $10^4$ мажи	Просечна инциденција на ТК на $10^4$ Мажи
1999	8	0,08	0,13	6	0,06	0,04
2000	19	0,20		3	0,03	
2001	12	0,12		2	0,02	
2002	12	0,12		5	0,05	
2003	11	0,11		3	0,03	
2004	13	0,13		5	0,05	
2005	9	0,09	0,18	5	0,05	0,05
2006	19	0,19		7	0,07	
2007	15	0,15		7	0,07	
2008	22	0,22		4	0,04	
2009	21	0,22		6	0,06	
2010	22	0,22		2	0,02	
2011	17	0,17	0,28	7	0,07	0,08
2012	21	0,20		6	0,06	
2013	25	0,24		8	0,08	
2014	39	0,38		6	0,06	
2015	43	0,42		12	0,12	
Вкупна просечна инциденција			0,19	Вкупна просечна инциденција		0,05

Кај испитаниците од машки пол, по години (1999 - 2015) укажала дека најниска инциденција на ТК од  $0,02/10^4$  е регистрирана во 2001 и 2010 година, следено со  $0,03/10^4$  во 2000 и 2003 година и  $0,04/10^4$  во 2008 (Табела 7 и График 9). Највисока инциденција на ТК кај машкиот пол е регистрирана во 2015 година -  $0,12/10^4$ , по која следи  $0,08/10^4$  во 2014 година и  $0,07/10^4$  во 2006, 2007 и 2011 година.

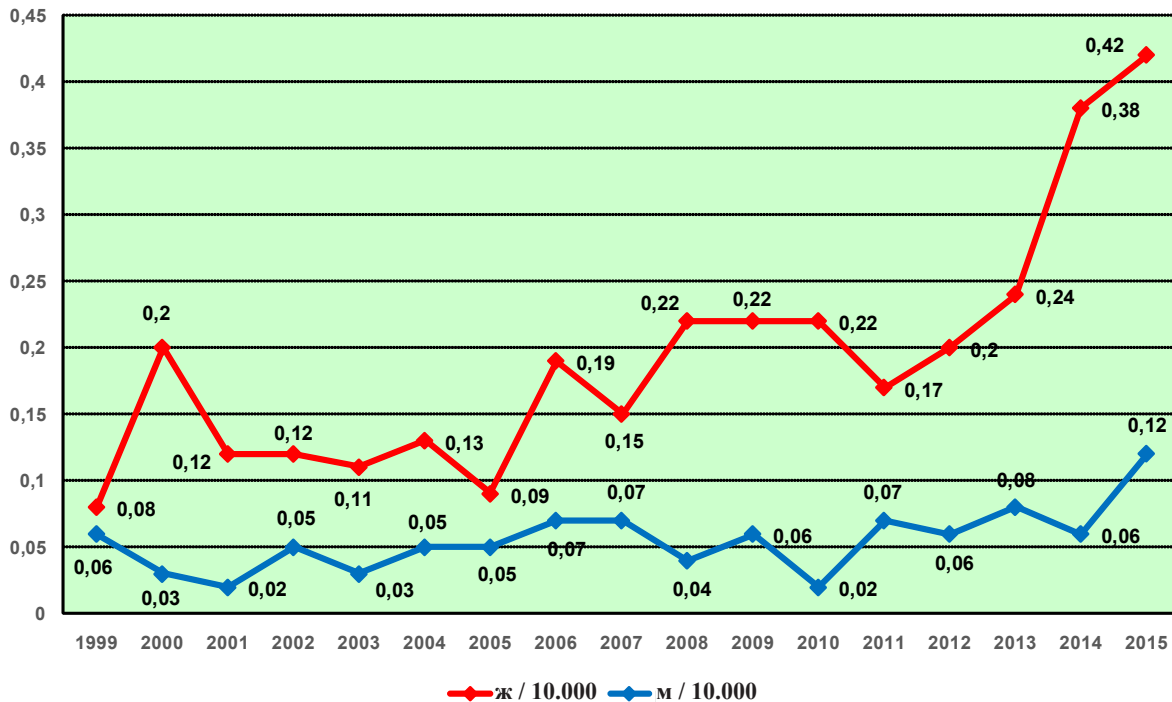


График 9. Годишна инциденција на тироиден карцином по пол (1999 - 2015) на 10.000 жители

Просечната инциденција на пациентите од женски пол, за испитуваниот период 1999 - 2015, е поголема и изнесува  $0,19/10^4$  во споредба со пациентите од машкиот пол кај коишто изнесува  $0,05/10^4$ . Односот на просечната инциденција на ТК кај жените споредено со мажите изнесува 3,9:1. Графичкиот приказ на просечна инциденција на тироидни карциноми за три временски периоди на 10.000 жители по пол е даден во табела 7 на график 10.

Во трите периоди, и тоа 1999 - 2004, 2005 - 2010 и 2011 - 2015 година просечна инциденција на ТК кај жените односно кај мажите изнесува консеквентно  $0,13/10^4$  vs  $0,04/10^4$ ,  $0,18/10^4$  vs  $0,05/10^4$  и  $0,28/10^4$  vs  $0,08/10^4$ . И кај двата пола просечната инциденција на регистрираните ТК расте во секој нареден временски период (Табела 7 и График 10).

Во периодот 2005 - 2010 споредено со периодот 1999 - 2004 просечната инциденција на ТК кај жените се зголемила за 27,8%, додека во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 2005 - 2010 таа се зголемила за 35,7%. Просечната инциденција на ТК кај мажите во периодот 2005 - 2010 споредено со периодот 1999 - 2004 се зголемила за 20% додека во 2011 - 2015 во однос на периодот 2005 - 2010 таа се зголемила за 37,5%. Анализата

во трите временски периоди укажала на приближно исто процентуално зголемување на просечната инциденција на ТК и кај двата пола (Табела 7 и График 10).

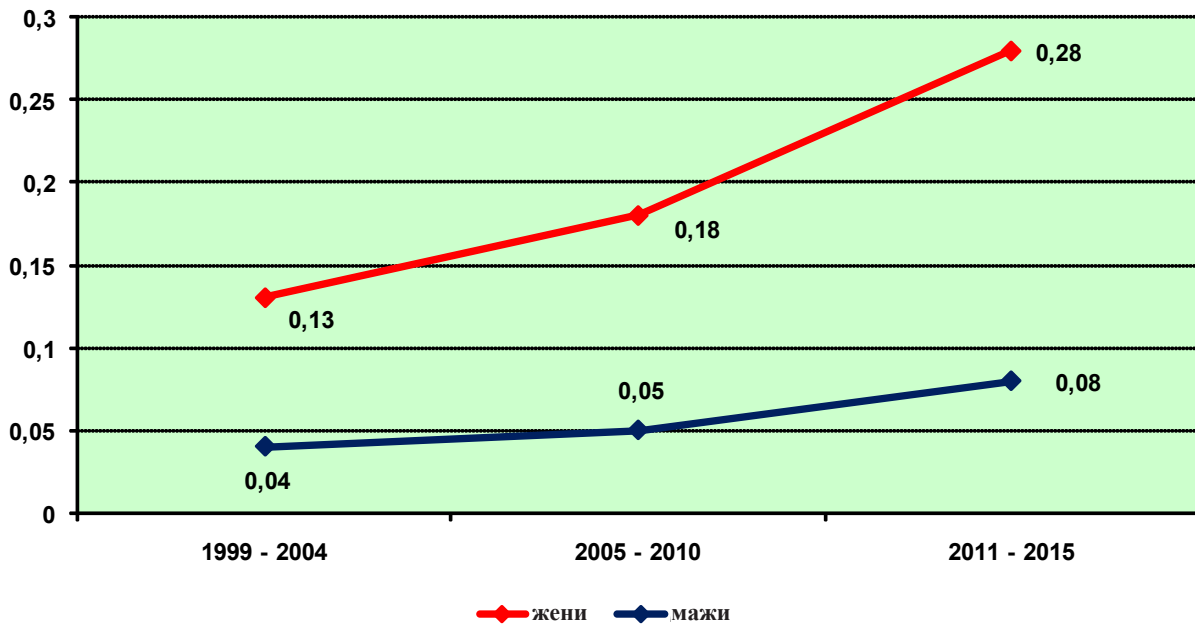


График 10. Просечна инциденција на ТК за три периоди на 10.000 жители по пол

#### 7.2.4 Преваленција на ТК по пол и региони (1999 - 2015 година)

Преваленцијата на ТК за периодот од 1999 до 2015 година е пресметувана според пописот на населението од 2002 година (2.020.157 жители) добиени од Државниот завод за статистика на Р. Македонија [96]. Вкупната преваленција беше пресметувана на 100.000 жители ( $10^5$ ) додека преваленцијата по пол, региони и возрасни групи беше пресметувана на 10.000 жители ( $10^4$ ). Анализата се однесува на примерокот од 422 (100%) дијагностицирани ТК на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина, Медицински факултет, УКИМ во Скопје и Одделот за нуклеарна медицина при Клиничката болница во Битола.

Вкупната преваленција на регистрираните ТК за периодот од 17 години (1999 - 2015) изнесува  $20,89/10^5$ . Анализата на вкупната преваленција кај женскиот пол изнесува  $32,61/10^4$  додека кај испитаниците од машки пол таа изнесува  $9,27/10^4$  што укажува на однос 3,52:1.

Преваленцијата кај женскиот пол по региони, е највисока во Скопскиот Регион  $4,5/10^4$  следена со Вардарскиот  $4,1/10^4$ , а најниска во Полошкиот  $1,7/10^4$  следена со Југоисточниот  $1,9/10^4$ . Кај машкиот пол вкупната преваленција е највисока во Источниот и Скопскиот Регион за консеквентно  $1,4/10^4$  vs  $0,3/10^4$ , а најниска во Вардарскиот и Полошкиот Регион за консеквентно  $0,1/10^4$  vs  $0,3/10^4$ .

Табела 8. Преваленција на ТК по региони и пол (1999 - 2015)

Пол	<sup>1</sup> Вардар.		<sup>2</sup> Источен		<sup>3</sup> Југозап.		<sup>4</sup> Југоист.		<sup>5</sup> Пелагон.		<sup>6</sup> Полош.		<sup>7</sup> Северои.		<sup>8</sup> Скопски	
	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>	Број	* П/10 <sup>4</sup>
Жени	27	4,1	31	3,1	30	2,7	16	1,9	27	2,3	26	1,7	32	3,8	130	4,5
Преваленција за жени = 32,61/ 10 <sup>5</sup>																
Мажи	1	0,1	14	1,4	13	1,2	5	0,6	9	0,7	4	0,3	7	0,8	37	1,3
Преваленција за мажи = 9,27/ 10 <sup>5</sup>																
Преваленција = 20,89/ 10 <sup>5</sup>																

<sup>1</sup>Вардарски, <sup>2</sup>Источен, <sup>3</sup>Југозападен, <sup>4</sup>Југоисточен, <sup>5</sup>Пелагониски, <sup>6</sup>Полошки, <sup>7</sup>Североисточен, и <sup>8</sup>Скопски  
\*преваленција/10<sup>4</sup>

Графичкиот приказ на преваленцијата на ТК по региони и пол за периодот 1999 - 2015 година на 10.000 жители е даден на график 11.

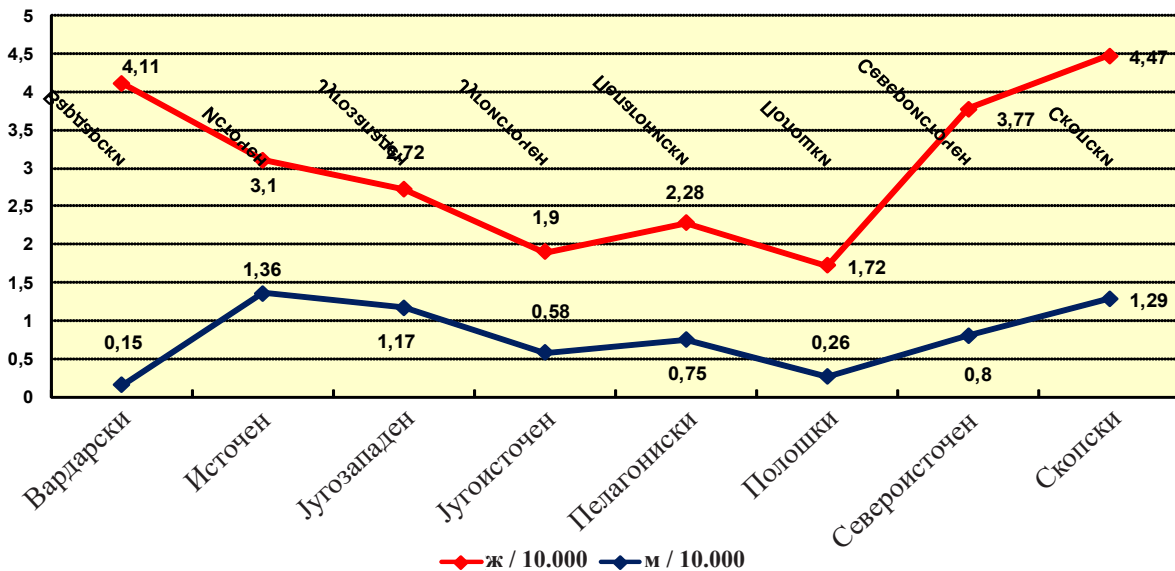


График 11. Преваленција на ТК по региони и пол (1999 - 2015) на 10.000 жители

## 7.2.5 Преваленција на ТК по возрастни групи и по пол (1999 - 2015 година)

Во рамките на истражувањето направена е анализа на вкупната преваленција на регистрираните ТК за периодот од 1999 до 2015 година според четири возрастни групи, и тоа: а) 0 – 19; б) 20 – 44; в) 45 – 64; и г) над 65 години. Вкупната преваленција на ТК е најголема во возрастната група од 45-64 години ( $3,96/10^4$ ) следено со над 65 години ( $2,79/10^4$ ), а најниската е кај популацијата на возраст од 0 - 19 години ( $0,32/10^4$ ) (Табела 9 и График 12).

Анализата укажа дека, во сите три возрастни групи, преваленцијата на ТК кај жените е повисока споредено со истата кај мажите. Највисока преваленција на ТК има кај жените во возрастната група од 45-64 години и тоа  $5,82/10^4$ , по која следи возрастната група над 65 години во којашто преваленцијата изнесува  $3,70/10^4$  и возрастната група 20 - 44 со преваленција од  $3,66/10^4$ . Најниска преваленција на ТК имаат жените во возрастната група 0 - 19 години и тоа  $0,55/10^4$  (Табела 9 и График 12).

Табела 9. Преваленција на ТК по возрастни групи и пол (1999 - 2015)

Пол	Возрасни групи (години)							
	0 - 19		20 - 44		45 - 64		> 65	
	Број	*П/10 <sup>4</sup>	Број	*П/10 <sup>4</sup>	Број	*П/10 <sup>4</sup>	Број	*П/10 <sup>4</sup>
Жени	16	0,55	136	3,66	133	5,82	43	3,70
Мажи	3	0,10	29	0,75	46	2,05	16	1,67
Вкупно	19	0,32	165	2,17	179	3,96	59	2,79

\*преваленција/10<sup>4</sup>

Највисока преваленција на ТК има кај мажите во возрастната група од 45 - 64 години, и тоа  $2,05/10^4$ , по која следи возрастната група над 65 години кај којашто преваленцијата изнесува  $1,67/10^4$  и возрастната група 20 - 44 со преваленција од  $0,75/10^4$ . Најниска преваленција на ТК имаат мажите во возрастната група 0 - 19 години -  $0,10/10^4$  (Табела 9 и График 12).

Дополнителната анализа укажа дека во возрастната група од 45 до 64 години, во којашто преваленцијата на ТК е најголема и кај двата пола, односот на преваленцијата на жените во однос на мажите изнесува 2,84:1 (Табела 9 и График 12). Најголема разлика во преваленцијата на ТК на жените во однос на мажите има во возрастната група 0 - 19 години и изнесува 5,5:1 следена со групата од 20 - 44 години во којашто изнесува 4,88:1. Најмала разлика во овој однос има во возрастната група над 65 години во којашто односот изнесува 2,21:1.



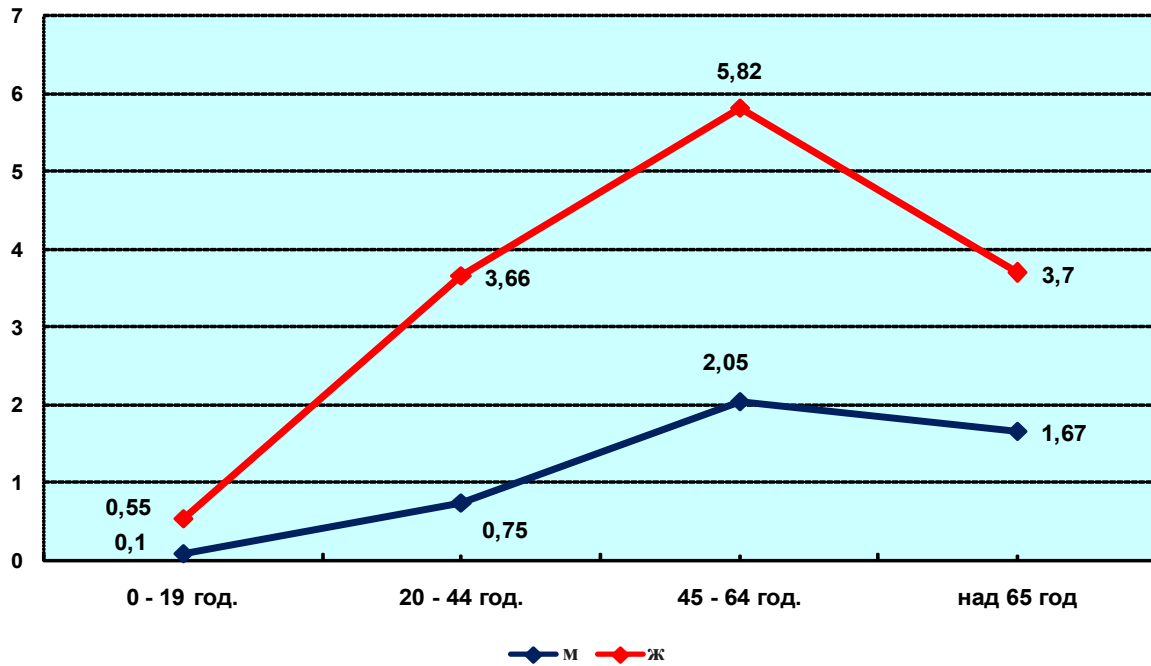


График 12. Преваленција на ТК по возрастни групи и пол (1999 - 2015)

### 7.3 Генерални демографски карактеристики на ТК според хистопатолошки типови на ТК (1999 - 2015 година)

Во рамките на истражувањето на генерални карактеристики на примерокот на ТК за периодот 1999 - 2015 година, беа опфтени следните варијабли: година на регистрирање на ТК, возраст, пол и националност. Сите овие варијабли беа анализирани во однос на пет големи групи на типови на ТК според хистопатолошки наод, и тоа: (1) Ca anaplasticum, (2) Ca folliculare (во која е вклучен и Hurtle cell Ca), (3) Ca papillare (во која се вклучени Ca papillare typicum, Ca papillare - follicular variant, Ca papillare - with giant osteoclast like cells, Ca papillare - fasciitis nodosa, и Ca papillare - Warthin like); (4) Ca medullare и (5) други поретки типови (во која се вклучени секундарни депозити во тироидна жлезда, интратироиден лимфом, интратироиден сарком и лошо диференциран инсуларен тип на ТК – Ca insular).

#### 7.3.1 Анализа на ТК според одредени генерални карактеристики

##### 7.3.1.1 Анализа на хистопатолошките типови на ТК според три временски периоди

Примерокот од 422 (100%) пациенти со дијагностициран ТК за периодот 1999 до 2015 година е анализиран според три временски периоди и пет големи групи на типови на ТК според хистопатолошкиот наод (Табела 10 и График 13). Од целиот примерок со податок за хистолошкиот тип на ТК биле 386 (60,44%) од случаите.

Анализата укажа дека во сите три временски периоди (1999 - 2004, 2005 - 2010 и 2011 - 2015) најзастапен хистопатолошки тип на ТК бил *Ca papillare*, и тоа консеквентно со 61 (75,3%) vs 99 (79,8%) vs 147 (81,2%). Втори по застапеност во периодот 1999 - 2004 биле *Ca folliculare* и *Ca medullare* застапени со по 7 (8,6%) случаи следен со *Ca anaplasticum* кај 4 (4,9%) и други поретки типови кај 2 (2,5%). Во периодот 2005 - 2010 година втори по застапеност биле *Ca folliculare* кај 16 (12,9%), следено со *Ca medullare* и други поретки типови застапени со по 4 (3,2%) случаи и *Ca anaplasticum* застапен само кај 1 (0,8%) случај. Во периодот 2011 - 2015 година, втори по застапеност биле *Ca folliculare* кај 19 (10,5%) следен со *Ca anaplasticum* кај 7 (3,9%), *Ca medullare* застапен со 5 (2,8%) и други поретки типови застапени најмалку или со само 3 (1,7%) случаи. Анализата утврди дека нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу типот на ТК според хистопатолошки наод и трите временски периоди на анализа (Pearson Chi-square test: 10,257,  $df=8$ ,  $p=0,2475$ ).

Табеларниот и графичкиот приказ на дескриптивната анализа според временски периоди и типови на хистолошки наод е даден во табела 10 и график 13.

**Табела 10.** Анализа на ТК по временски периоди и хистопатолошки типови

Групи на типови на ТК според хистопатолошки наод		Временски периоди (години)			Вкупно
		1999 - 2004	2005 - 2010	2011 - 2015	
<b>Ca anaplasticum</b>	<b>Број</b>	4	1	7	12
	<b>%</b>	4,94%	0,81%	3,87%	3,11%
<b>Ca folliculare</b>	<b>Број</b>	7	16	19	42
	<b>%</b>	8,64%	12,90%	10,50%	10,88%
<b>Ca papillare</b>	<b>Број</b>	61	99	147	307
	<b>%</b>	75,31%	79,84%	81,22%	79,53%
<b>Ca medullare</b>	<b>Број</b>	7	4	5	16
	<b>%</b>	8,64%	3,23%	2,76%	4,15%
<b>други поретки типови</b>	<b>Број</b>	2	4	3	9
	<b>%</b>	2,47%	3,23%	1,66%	2,33%
<b>Вкупно</b>	<b>Број</b>	81	124	181	386
	<b>%</b>	20,98%	32,12%	46,89%	100%

Pearson Chi-square test: 10,257,  $df=8$ ,  $p=0,2475$

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

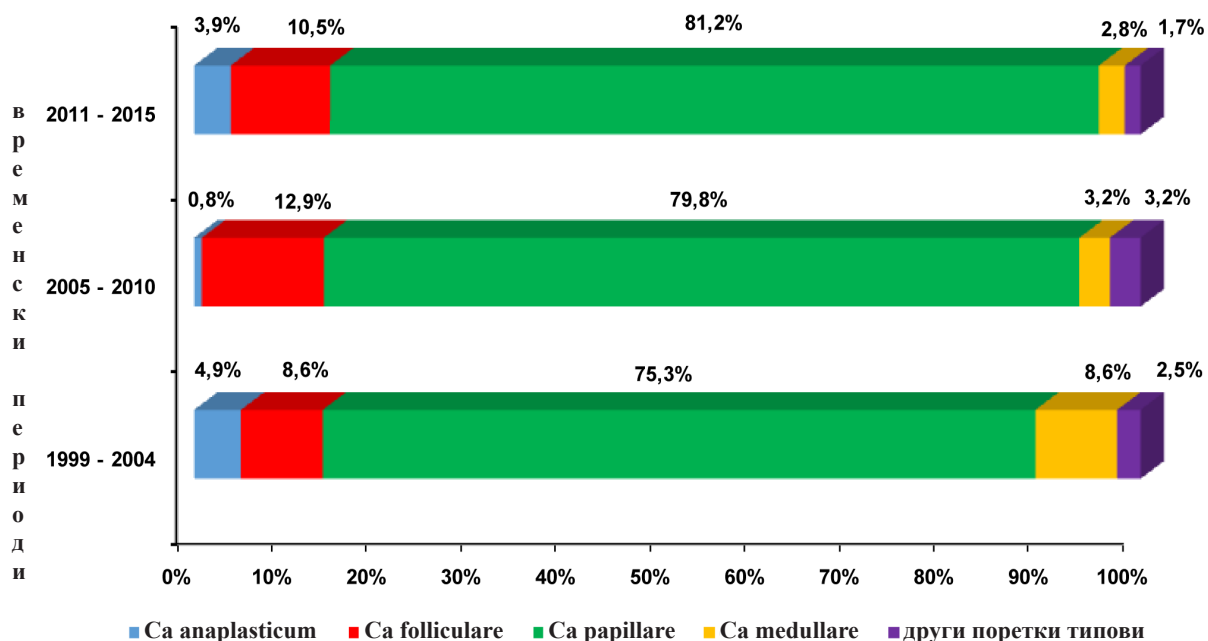


График 13. Анализа по временски периоди и застапеност на хистопатолошки типови на ТК

Дескриптивната анализата на целиот примерок 386 (100%), за целиот анализиран временски период 1999 - 2015 година, во однос на петте типа на хистопатолошки наод на ТК укажа дека најзастапен е Ca papillare кај 307 (79,5%), следен со Ca folliculare кај 42 (10,9%), Ca medullare кај 16 (4,1%), Ca anaplasticum кај 12 (3,1%) и други поретки типови застапени со 9 (2,3%) (Табела 10 и График 14).

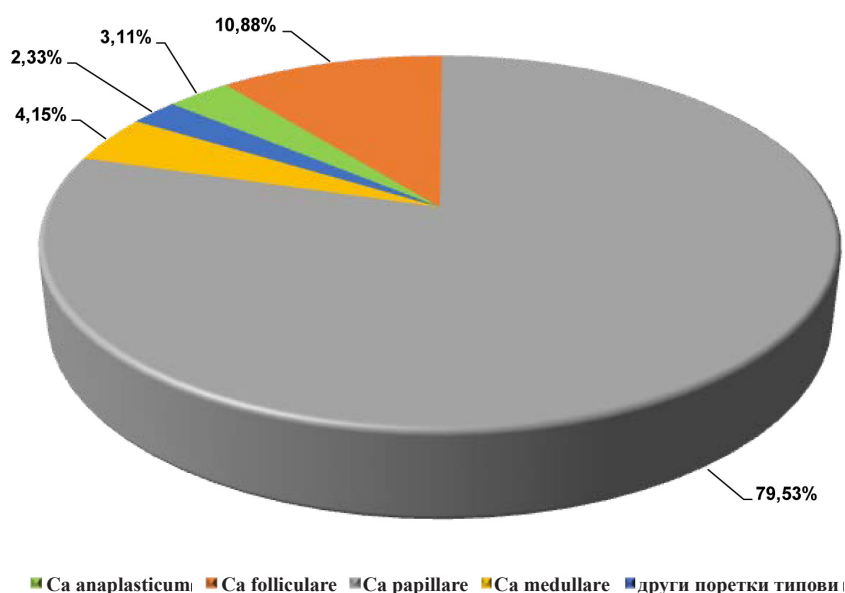


График 14. Анализа на вкупната процентуална застапеност на ТК по хистопатолошки типови (1999 - 2015)

## 7.3.1.2 Анализа според временски периоди и поттипови на хистопатолошки наод

Дополнително направена е анализа според хистопатолошки поттипови на ТК во трите временски периоди (1999 - 2004, 2005 - 2010 и 2011 - 2015) (Табела 11).

Табела 11. Анализа на примерок на ТК по временски периоди и хистопатолошки типови

Хистопатолошки поттипови на ТК		Временски периоди (години)			Вкупно
		1999 - 2004	2005 - 2010	2011 - 2015	
Ca anaplasticum	Број	4	1	7	12
	%	4,94%	0,81%	3,87%	3,11%
Ca folliculare	Број	6	12	14	32
	%	7,41%	9,68%	7,73%	8,29%
Ca papillare typicum	Број	52	71	115	238
	%	64,20%	57,26%	63,54%	61,66%
Ca medullar	Број	7	4	5	16
	%	8,64%	3,23%	2,76%	4,15%
Hurtle cell Ca	Број	1	4	5	10
	%	1,23%	3,23%	2,76%	2,59%
Ms	Број	0	3	2	5
	%	0%	2,42%	1,10%	1,30%
Lymphoma	Број	2	0	1	3
	%	2,47%	0%	0,55%	0,78%
Sarcoma	Број	0	1	0	1
	%	0%	0,81%	0%	0,26%
Ca insular	Број	0	0	1	1
	%	0%	0%	0,55%	0,26%
Ca papillare (cysta)	Број	0	0	1	1
	%	0%	0%	0,55%	0,26%
Ca papillare cysta colli mediana / ducti thyreoglossy	Број	0	0	2	2
	%	0%	0%	1,10%	0,52%
Ca papillare - follicular variant	Број	9	23	26	58
	%	11,11%	18,55%	14,36%	15,03%
Ca papillare - with giant osteoclast like cells	Број	0	4	0	4
	%	0%	3,23%	0%	1,04%
Ca papillare - fasciitis nodosa	Број	0	1	1	2
	%	0%	0,81%	0,55%	0,52%
Ca papillare - Warthin like	Број	0	0	1	1
	%	0%	0%	0,55%	0,26%
Вкупно	Број	81	124	181	386
	%	20,98%	32,12%	46,89%	100%

Согледана е застапеност на 15 различни хистопатолошки поттипови на ТК. За целиот период (1999 - 2015) најзастапен хистопатолошки наод е Ca papillare typicum кај 238 (61,7%) од случаите следен со Ca papillare – follicular variant кај 58 (15%), Ca folliculare кај 32 (8,3%) и Ca anaplasticum кај 12 (3,1%) од случаите.

Процентуалната разлика помеѓу застапеноста на Ca papillare typicum во однос на сите останати хистопатолошки наоди во целиот испитуван период е статистички сигнификантна ( $p < 0,05$ ) (Difference test: Difference 23,34% [(16,23-29,98) CI 95%]; Chi-square=41,93 df=1  $p < 0.0001$ ) во прилог на сигнификантно поголема застапеност на Ca papillare typicum (Табела 11).

Процентуалната разлика помеѓу застапеноста на Ca papillare typicum во однос на сите останати хистопатолошки наоди поединично во секој од трите испитувани периоди е: а) статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  во периодот 1999 - 2004 (Difference test: Difference 28,40% [(13,03-41,94) CI 95%]; Chi-square=12,99 df=1  $p < 0.0003$ ) во прилог на сигнификантно поголема застапеност на Ca papillare typicum; б) статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  во периодот 2005 - 2010 (Difference test: Difference 14,52% [(2,08-26,34) CI 95%]; Chi-square=5,208 df=1  $p < 0.0225$ ) во прилог на сигнификантно поголема застапеност на Ca papillare typicum; и в) статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  во периодот 2011-2015 (Difference test: Difference 27,08% [(16,86-36,50) CI 95%]; Chi-square=26,47 df=1  $p < 0.0001$ ) во прилог на сигнификантно поголема застапеност на Ca papillare typicum (Табела 11).

### 7.3.1.3 Анализа на дистрибуцијата на хистопатолошките типови на ТК според пол

Од испитаниците во истражувањето, 328 (77,72%) биле жени и 93 (23,04%) мажи (3,5:1). Процентуалната разлика во застапеноста на половите е во прилог на сигнификантно поголема застапеност на женскиот пол (Difference test: Difference 54,68% [(48,69-59,97) CI 95%]; Chi-square=251,46 df=1  $p < 0.0001$ ).

Во однос на хистопатолошките типови на ТК, и кај машкиот и кај женскиот пол најзастапен е Ca papillare, и тоа за консеквентно 60 (71,4%) vs 246 (81,7%). Најмалку застапен кај машкиот пол е Ca anaplasticum со само 3 (3,6%), а кај женскиот пол најмалку застапена е категоријата на други поретки типови со 3 (1%) случаи (Табела 12 и График 15). Утврдена е сигнификантна асоцијација ( $p < 0,05$ ) меѓу полот на испитаниците и хистопатолошкиот тип на ТК (Fisher exact test:  $p = 0,001$ ).

Направените вкрстени анализи за причината за оваа сигнификантност укажаа дека се должи исклучиво на значајната асоцијација на полот на испитаниците со појавата на Ca papillare во однос на други поретки типови на ТК (Fisher exact test:  $p = 0,002$ , статистички сигнификантно за  $p < 0,05$ ) во прилог на поголема асоцијација на испитаниците од машки пол за категоријата други поретки типови на ТК, во кои се вклучени интратироидните лимфоми, интратироидни саркоми, секундарни депозити во тироидна жлезда и ЛДТК (Табела 12).

Табеларниот и графичкиот приказ на анализата на примерокот според пол и хистопатолошки типови на ТК е даден во табела 12 и график 15.

**Табела 12.** Анализа на ТК според пол и групи на типови на хистопатолошки наод

Хистопатолошки типови на ТК		Пол		Вкупно
		Мажи	Жени	
Ca anaplasticum	Број	3	9	12
	%	3,57%	2,99%	3,12%
Ca folliculare	Број	11	31	42
	%	13,10%	10,30%	10,91%
Ca papillare	Број	60	246	306
	%	71,43%	81,73%	79,48%
Ca medullare	Број	4	12	16
	%	4,76%	3,99%	4,16%
Други поретки типови	Број	6	3	9
	%	7,14%	1%	2,34%
Вкупно	Број	84	301	385
	%	21,82%	78,18%	100%

Fisher exact test: p=1,000	Ca anaplasticum / Ca folliculare
Fisher exact test: p=0,928	Ca anaplasticum / Ca papillare
Fisher exact test: p=1,000	Ca anaplasticum / Ca medullare
Fisher exact test: p=0,087	Ca anaplasticum / други типови
Pearson Chi-square=0,985, df=4, p=0,321	Ca folliculare / Ca papillare
Fisher exact test: p=0,808	Ca folliculare / Ca medullare
Fisher exact test: p=0,051	Ca folliculare / други типови
Fisher exact test: p=0,106	Ca medullare / други типови
Fisher exact test: p=0,002*	Ca papillare / други типови

Fisher exact test: p=0,001\*

\* сигнификантно за p<0,05

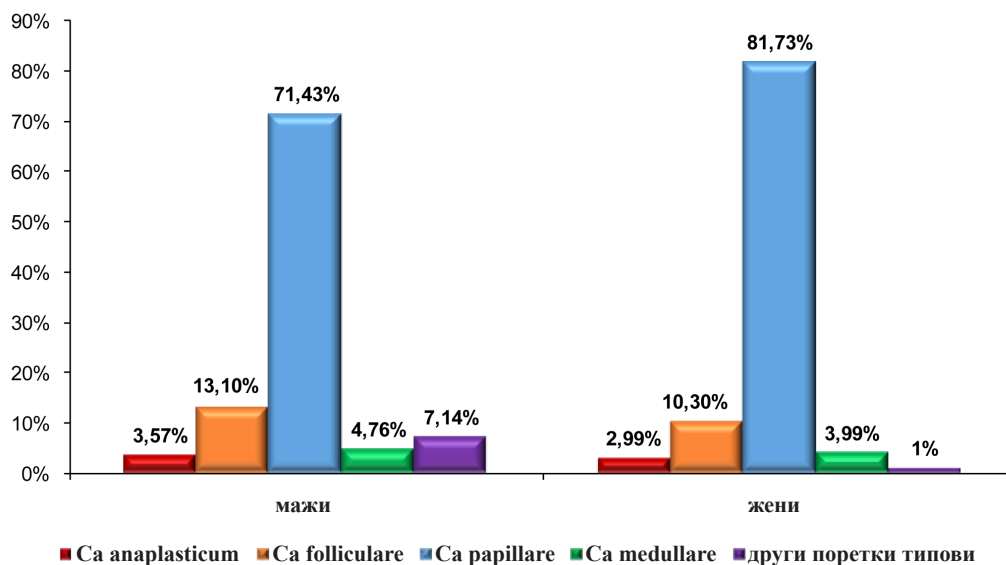


График 15. Анализа на ТК според пол и хистопатолошки наод

### 7.3.1.4 Анализа на дистрибуцијата на хистопатолошките типови на ТК според возраст

Во рамките на истражувањето направена е анализа на примерокот според возраст при дијагноза и хистопатолошки типови на ТК (Табела 13 и График 16). Просечната возраст на испитаниците во истражувањето изнесува  $45,8 \pm 15,5$  години со минимална возраст од 7 и максимална возраст од 80 години (Табела 13). Во групата на Ca anaplasticum просечната возраст изнесува  $63,7 \pm 11,8$  години, со минимална односно максимална возраст од 40 vs 77 години и 50% испитаници помлади од 68 години. Во групата на Ca folliculare просечната возраст изнесува  $51 \pm 13,1$  години, со минимална односно максимална возраст од 21 vs 75 години и 50% испитаници помлади од 54 години. Во групата на Ca papillare просечната возраст изнесува  $44 \pm 15,4$  години, со минимална односно максимална возраст од 7 vs 80 години и 50% испитаници помлади од 45 години. Просечната возраст во групата со Ca medullare изнесува  $46 \pm 18$  години, со минимална односно максимална возраст од 19 vs 75 години и 50% испитаници помлади од 41 година. Кај другите поретки тумори, просечната возраст на испитаниците изнесува  $57,7 \pm 11,1$  година, со минимална односно максимална возраст од 45 vs 77 години и 50% испитаници помлади од 56 години.

**Табела 13.** Анализа на ТК според возраст и хистопатолошки наод

Хистопатолошки типови на ТК	Просек	Број (N)	Стандардна девијација	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> (Median)	75 <sup>th</sup>
Ca anaplasticum	63,7	12	11,8	40	77	56,5	68	73
Ca folliculare	51	42	13,1	21	75	39	54	61
Ca papillare	44	307	15,4	7	80	32	45	56
Ca medullare	46	16	18,0	19	75	33,5	41	64,5
други поретки типови	57,7	9	11,1	45	77	46	56	67
Вкупно	45,8	386	15,5	7	80	34	46	58

Kruskal-Wallis H test: Chi-square= 28,507; df=4 p=0,0001

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Тестираната разлика, укажа на сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) меѓу просечната возраст на пациентите во петте групи (Kruskal-Wallis H test: Chi-square=28,507; df=4  $p=0,0001$ ).



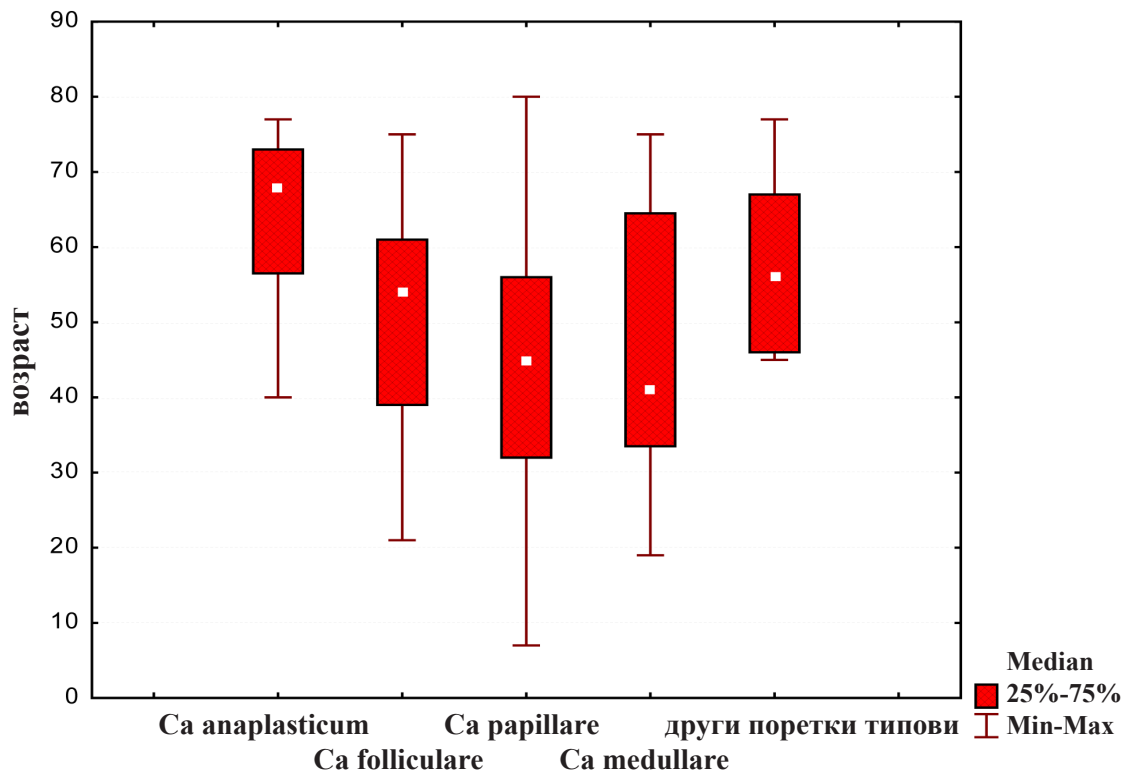


График 16. Анализа според возраст и хистопатолошки типови на ТК

Направена е дополнителна анализа меѓу хистопатолошките типови на ТК во однос на просечната возраст на испитаниците при дијагноза на ТК (Табела 14). Согледана е сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) во просечната возраст помеѓу групите: а) Ca anaplasticum/ Ca folliculare (Mann Whitney U test:  $Z=2,871$   $p=0,004$ ) во прилог поголема возраст во групата со Ca anaplasticum; б) Ca anaplasticum/ Ca papillare (Mann Whitney U test:  $Z=4,092$   $p=0,00001$ ) во прилог на групата со Ca anaplasticum; в) Ca anaplasticum/ Ca medullare (Mann Whitney U test:  $Z=2,553$   $p=0,011$ ), во прилог на групата со Ca anaplasticum; г) Ca folliculare/ Ca papillare (Mann Whitney U test:  $Z=2,861$   $p=0,004$ ) во прилог на групата со Ca folliculare; д) Ca papillare/ други поретки типови (Mann Whitney U test:  $Z=-2,489$   $p=0,013$ ) во прилог на групата со други поретки типови.

Табела 14. Споредба на хистопатолошките типови на ТК според просечна возраст

Mann-Whitney U test	A/Б	A/В	A/Г	A/Д	Б/В	Б/Г	Б/Д	В/Г	В/Д	Г/Д
Z	2,871	4,092	2,553	1,172	2,861	0,800	(0,963)	(0,324)	(2,489)	(1,812)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,004*	0,00001*	0,011*	0,241	0,004*	0,423	0,335	0,745	0,013*	0,070

Варијабли: А = Ca anaplasticum, Б = Ca folliculare, В = Ca papillare,  
Г = Ca medullare и Д = други поретки типови

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

## 7.3.1.5 Анализа на хистопатолошките типови на ТК според возраст и пол

Просечната возраст на испитаниците од **машки пол** при дијагноза на ТК изнесува  $48,06 \pm 15,2$  години со минимална возраст од 7 и максимална возраст од 79 години (Табела 15). Најголема просечна возраст имаат испитаниците од групата со Ca anaplasticum, во којашто просечната возраст изнесува  $67 \pm 7,1$  години, со минимална односно максимална возраст од 60 vs 74 години. Најниска просечна возраст имаат испитаниците од групата со Ca medullare, во којашто просечната возраст изнесува  $44,2 \pm 21,2$  години, со минимална односно максимална возраст од 19 vs 65 години. Анализата укажа на статистички сигнификантна разлика меѓу просечната возраст на мажите во петте групи на ТК (Kruskal-Wallis H test: Chi-square=14,077; df=4 p=0,0071) (p<0,05).

Табеларниот и графичкиот приказ на анализата на ТК според возраст и според хистопатолошки типови на ТК кај мажи е даден на табела 15 и график 17.

**Табела 15.** Анализа на ТК според возраст и хистопатолошки типови на ТК кај мажи

Хистопатолошки типови на ТК	Просек	Број (N)	Стандардна девијација	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> (Median)	75 <sup>th</sup>
Ca anaplasticum	67,67	3	7,09	60	74	60	69,0	74
Ca folliculare	52,73	11	14,78	21	73	53	55	61
Ca papillare	45,08	60	14,55	7	79	35	45,5	56,5
Ca medullare	44,25	4	21,16	19	65	27	46,5	61,5
други поретки типови	62,00	6	12,02	46	77	52	62,5	72
<b>Вкупно</b>	48,06	84	15,52	7	79	37	50,50	58,5

Kruskal-Wallis H test: Chi-square= 14,077; df=4 p=0,0071\*

\* сигнификантно за p<0,05

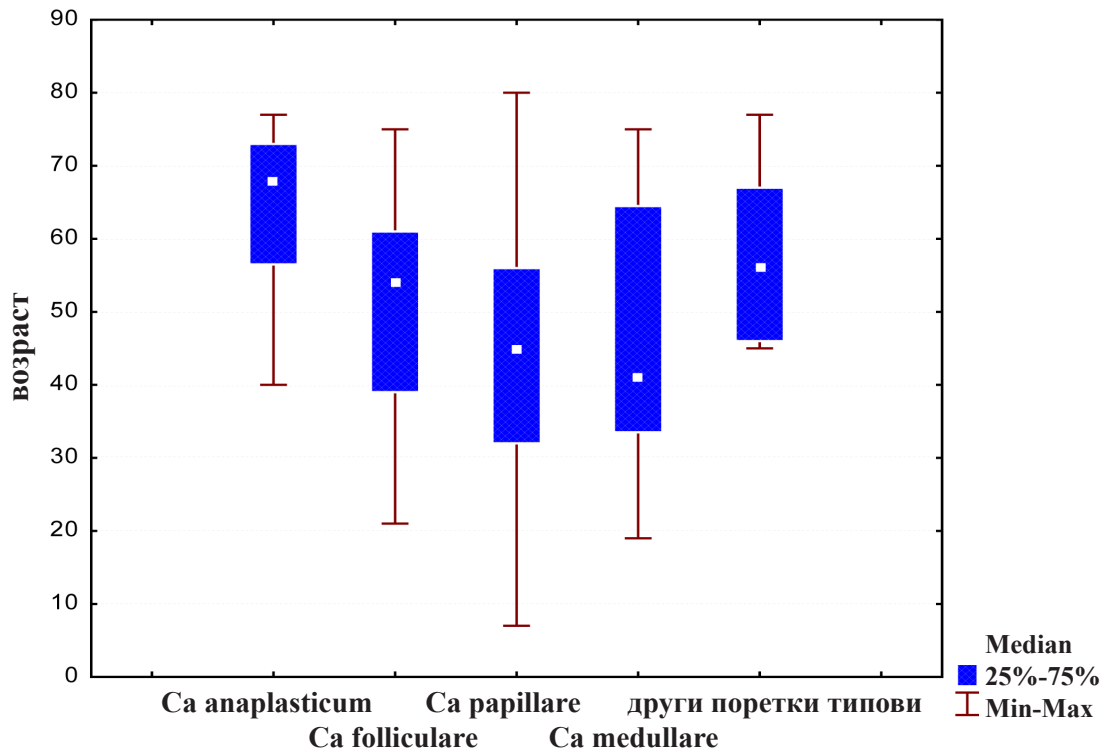


График 17. Анализа на ТК според возраст и хистопатолошки типови на ТК кај мажи

Просечната возраст на испитаниците од **женски пол** при дијагноза на ТК изнесува  $45,2 \pm 15,4$  години со минимална возраст од 9 и максимална возраст од 80 години (Табела 16). Исто како и кај машкиот, и кај женскиот пол најголема просечна возраст имаат испитаниците од групата со Ca anaplasticum, во којашто просечната возраст изнесува  $62,3 \pm 13,1$  години, со минимална односно максимална возраст од 40 vs 77 години.

Најниска просечна возраст имаат испитаниците од групата со Ca papillare, во којашто просечната возраст изнесува  $43,8 \pm 15,3$  години, со минимална односно максимална возраст од 9 vs 80 години. Исто како и кај машкиот пол и кај женските пациенти се утврди сигнификантна разлика меѓу просечната возраст на жените во петте групи на ТК (Kruskal-Wallis H test: Chi-square=15,466; df=4 p=0,0038) ( $p < 0,05$ ). Табеларниот и графичкиот приказ на анализата на ТК според возраст и хистопатолошки типови кај испитаниците од женски пол е даден на табела 16 и график 18.

Табела 16. Анализа на ТК според возраст и хистопатолошки типови на ТК кај жени

Хистопатолошки типови на ТК	Просек	Број (N)	Стандардна девијација	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> (Median)	75 <sup>th</sup>
Ca anaplasticum	62,33	9	13,12	40	77	53	67	72
Ca folliculare	50,39	31	13,09	23	75	38	54	61
Ca papillare	43,79	248	15,29	9	80	32	44,5	56
Ca medullare	46,58	12	18,26	24	75	34	41	66
други поретки типови	49,00	3	6,08	45	56	45	46	56
Вкупно	45,18	303	15,45	9	80	33	46	58

Kruskal-Wallis H test: Chi-square= 15,466; df=4 p=0,0038\*

\* сигнификантно за p<0,05

Дополнителната анализа, не укажа на статистички сигнификантна разлика ( $p>0,05$ ) во просечната возраст на испитаниците со ТК од машки односно женски пол (Difference between the two means:  $p=0,1318$ ) (Табела 15 и Табела 16). Нема сигнификантна разлика ( $p>0,05$ ) и во просечната возраст кај испитаниците од двата пола дијагностицирани со најчестиот ТК - Ca papillare (Difference between the two means:  $p=0,5544$ ) (Табела 15 и Табела 16).

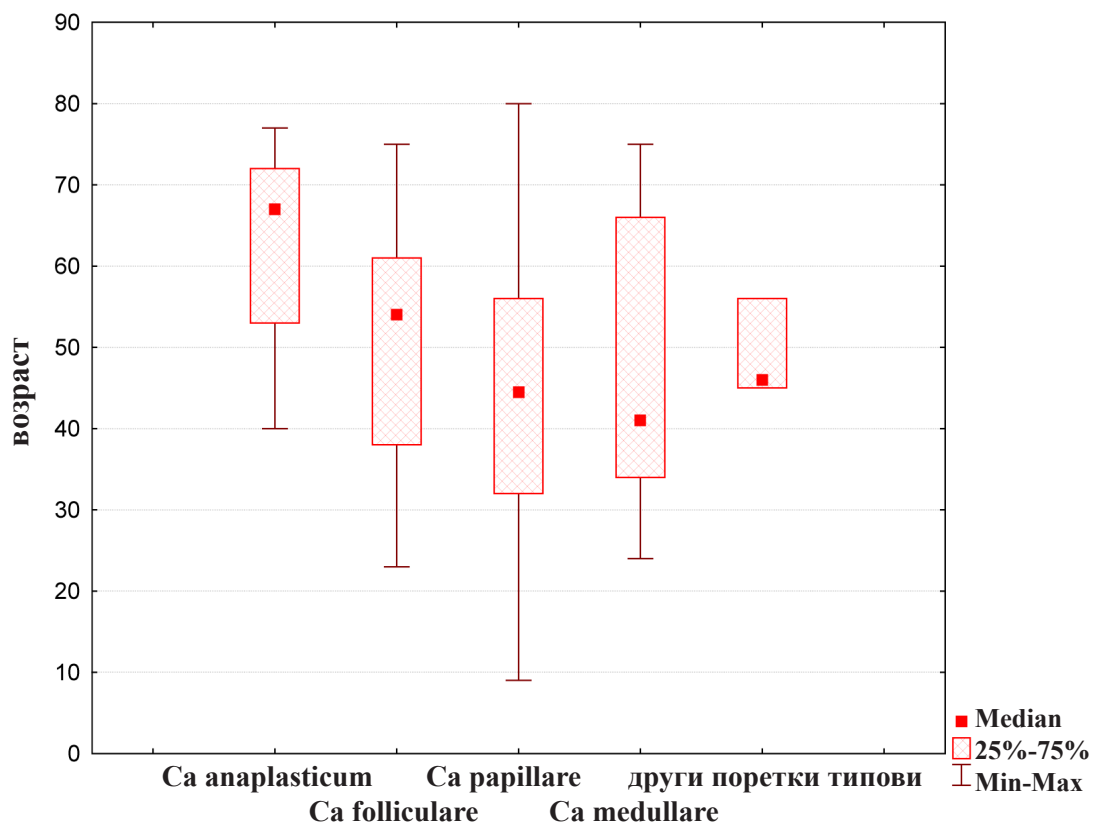


График 18. Анализа на ТК според возраст и хистопатолошки типови на ТК кај жени

### 7.3.1.6 Анализа на дистрибуција на хистопатолошки типови на ТК по националност

Во однос на националноста испитаниците се поделени на три групи: а) Македонци; б) Албанци и в) други. Анализата на ТК по националност и по хистопатолошки типови се прикажани на табела 17 и график 19.

Во однос на типовите на хистопатолошки наод, најзастапен кај анализираните националности (Македонци, Албанци и други) е *Ca papillare* и тоа за консеквентно 210 (80,5%) vs 54 (79,4%) vs 42 (75%). Најмалку застапен кај сите три националности се групата на други поретки типови на ТК и тоа консеквентно 7 (2,7%) vs 1 (1,5%) vs 1(1,5%). Утврдена е сигнификантна асоцијација ( $p < 0,05$ ), меѓу националноста на испитаниците и групата на типови на хистолошки наод (Pearson Chi-square=6,917  $df=8$   $p=0,5456$ ). Направените вкрстени анализи укажаа дека постои значајната асоцијација ( $p < 0,05$ ) на националната припадност на испитаниците со појавата на *Ca anaplasticum* / *Ca papillare* (Fisher exact test:  $p=0,001$ ) во прилог на поголема асоцијација на испитаниците од македонска националност за *Ca anaplasticum*, како и значајната асоцијација на националната припадност на испитаниците со појавата на *Ca papillare*/ други поретки типови на ТК (Fisher exact test:  $p=0,001$ ) во прилог на поголема асоцијација на испитаниците од македонска националност за други поретки типови на ТК (Табела 17).

Табеларниот и графичкиот приказ на анализата според национална припадност и типови на хистолошки наод е даден во табела 17 и график 19.

Табела 17. Анализа на ТК по националност и според хистопатолошки типови

Хистопатолошки типови на ТК		Националност			Вкупно
		Македонци	Албанци	Други	
Ca anaplasticum	Број	9	2	1	12
	%	3,45%	2,94%	1,79%	3,12%
Ca folliculare	Број	23	8	11	42
	%	8,81%	11,76%	19,64%	10,91%
Ca papillare	Број	210	54	42	306
	%	80,46%	79,41%	75%	79,48%
Ca medullare	Број	12	3	1	16
	%	4,60%	4,41%	1,79%	4,16%
други поретки типови	Број	7	1	1	9
	%	2,68%	1,47%	1,79%	2,34%
Вкупно	Број	261	68	56	385
	%	67,79%	17,66%	14,55%	100%

Fisher exact test: p=0,435 Ca anaplasticum/ Ca folliculare  
 Fisher exact test: p=0,001\* Ca anaplasticum/ Ca papillare  
 Fisher exact test: p=1,000 Ca anaplasticum/ Ca medullare  
 Fisher exact test: p=1,000 Ca anaplasticum/ други типови  
 Pearson Chi-square=4,969, df=2, p=0,088 Ca folliculare / Ca papillare  
 Fisher exact test: p=0,253 Ca folliculare / Ca medullare  
 Fisher exact test: p=0,596 Ca folliculare / други типови  
 Fisher exact test: p=1,000 Ca medullare / други типови  
 Fisher exact test: p=0,001\* Ca papillare / други типови

Pearson Chi-square=6,917 df=8 p=0,5456

\* сигнификантно за p&lt;0,05

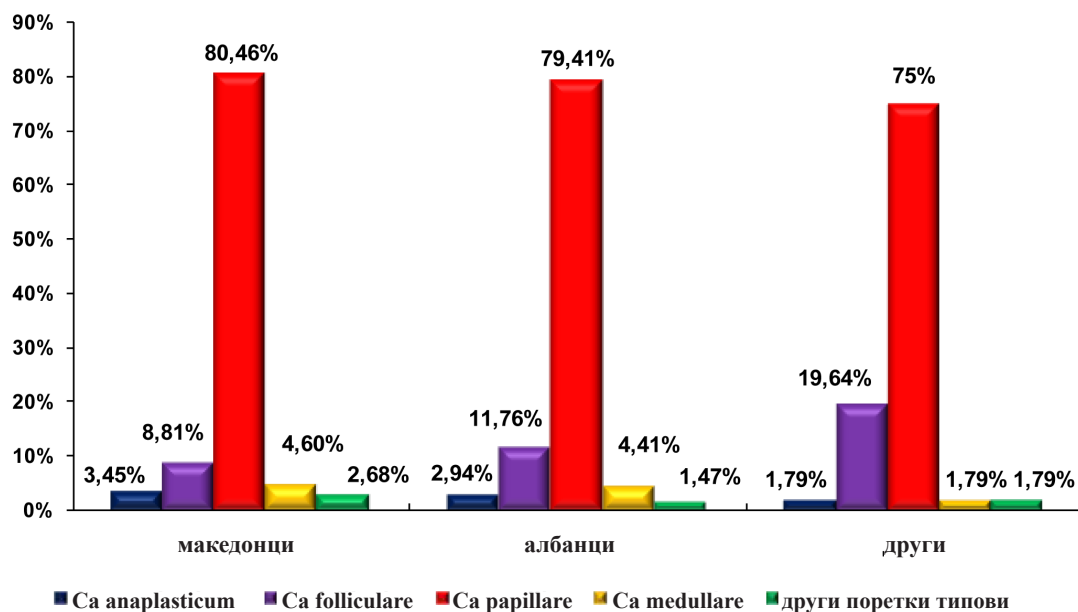


График 19. Анализа на ТК по националност и според хистопатолошки типови

### 7.3.1.7 Анализа по фамилијарна историја

Испитаниците во истражувањето биле прашани за постоење на фамилијарна историја на тироидно заболување, при што истата ја потврдиле 80 (22,5%) од испитаниците (Табела 18 и График 20). Изјава за постоење на малигно заболување на тироидна жлезда во прво колено дале само 4 (1,39%) од испитаниците со Ca papillare.

Од оние кои имаат позитивна фамилијарна историја за тироидно заболување најмногубројни или 71 (88,7%) се со Ca papillare, следено со 6 (7,5%) случаи со Ca folliculare. Во останатите типови на ТК има само по 1 (1,2%) случај со потврдена фамилијарна историја за тироидно заболување (Табела 18). Анализата не укажа на статистички сигнификантна поврзаност на фамилијарната анамнеза (нема/има фамилијарна историја за тироидно заболување) и хистопатолошкиот тип на ТК на кои им припаѓаат испитаниците (Pearson Chi-square: 4,941, df=4, p=0,2934) (p<0,05).

Анализата на ТК според фамилијарна историја за тироидно заболување и групи на типови на хистолошки наод е прикажана во табела 18 и график 20.

**Табела 18.** Анализа на ТК по фамилијарна историја за тироидно заболување и хистопатолошки типови на ТК

Хистопатолошки типови на ТК		Фамилијарна историја		Вкупно
		нема	има	
Ca anaplasticum	Број	11	1	12
	%	4,00%	1,25%	3,38%
Ca folliculare	Број	29	6	35
	%	10,55%	7,50%	9,86%
Ca papillare	Број	216	71	287
	%	78,55%	88,75%	80,85%
Ca medullare	Број	13	1	14
	%	4,73%	1,25%	3,94%
други поретки типови	Број	6	1	7
	%	2,18%	1,25%	1,97%
Вкупно	Број	275	80	355
	%	77,46%	22,54%	100%

Pearson Chi-square: 4,941, df=4, p=0,2934

\* сигнификантно за p<0,05



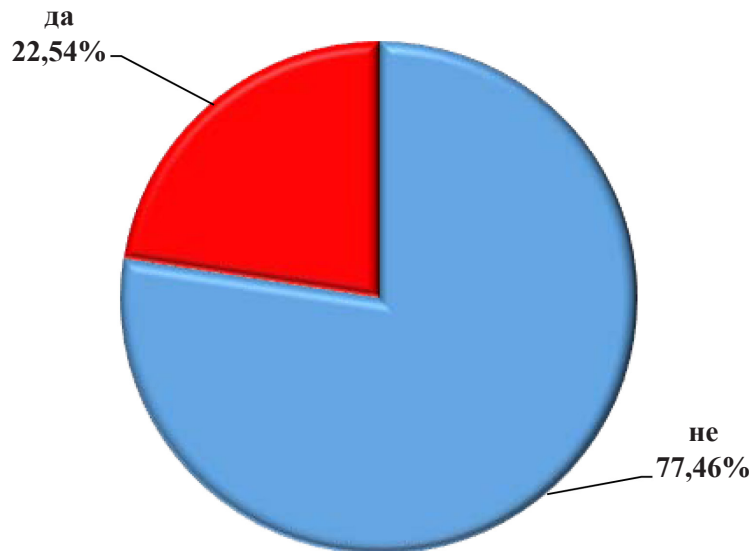


График 20. Анализа на примерок на ТК по фамилијарна историја за тироидно заболување

#### 7.3.1.8 Анализа според статистички региони

Дистрибуцијата на примерокот на испитаници со ТК по осум статистички региони на национално ниво и според хистопатолошки типови е прикажана на табела 19. Во секој од регионите најзастапена е групата на *Ca papillare*, и тоа во: а) Вардарски – 21 (80,8%); б) Источен – 33 (76,7%); в) Југозападен – 37 (92,5%); Југоисточен – 11 (64,7%); Пелагониски – 29 (85,3%); Полошки – 24 (82,8%); Североисточен – 28 (77,8%) и Скопски – 122 (79,2%). Втора по застапеност е групата на *Ca folliculare* и тоа во: Вардарскиот 2 (7,7%); Источниот 4 (9,3); Југозападен 2 (5%); Југоисточен 2 (11,8%); Пелагониски 2 (5,9%); Полошки 3 (10,3%); Северен 4 (11,1%) и Скопски 20 (13%). Нема статистички сигнификантна ( $p > 0,05$ ) асоцијација меѓу *Ca papillare*/сите останати групи на ТК според хистопатолошки наод и осумте статистички региони (Pearson Chi-square: 8,52,  $df=7$ ,  $p=0,289$ ).

Табела 19. Дистрибуција на ТК по региони и хистопатолошки типови

Хистопатолошки типови на ТК		Региони во Р. Македонија							
		<sup>1</sup> Вард.	<sup>2</sup> Источ.	<sup>3</sup> Југоз.	<sup>4</sup> Југои.	<sup>5</sup> Пелаг.	<sup>6</sup> Полош.	<sup>7</sup> Север.	<sup>8</sup> Скоп.
Са anaplasticum	Број	1	2	0	2	1	2	1	3
	%	3,85%	4,65%	0%	11,76%	2,94%	6,90%	2,78%	1,95%
Са folliculare	Број	2	4	2	2	2	3	4	20
	%	7,69%	9,30%	5%	11,76%	5,88%	10,34%	11,11%	12,99%
Са papillare	Број	21	33	37	11	29	24	28	122
	%	80,77%	76,74%	92,5%	64,71%	85,29%	82,76%	77,78%	79,22%
Са medullare	Број	2	3	0	2	2	0	3	4
	%	7,69%	6,98%	0%	11,76%	5,88%	0,00%	8,33%	2,60%
други поретки типови	Број	0	1	1	0	0	0	0	5
	%	0%	2,33%	2,50%	0%	0%	0%	0%	3,25%
Вкупно	Број	26	43	40	17	34	29	36	154
	%	6,86%	11,35%	10,55%	4,49%	8,97%	7,65%	9,50%	40,63%

<sup>1</sup>Вардарски, <sup>2</sup>Источен, <sup>3</sup>Југозападен, <sup>4</sup>Југоисточен, <sup>5</sup>Пелагониски, <sup>6</sup>Полошки, <sup>7</sup>Североисточен, и <sup>8</sup>Скопски

Графичкиот приказ на дистрибуцијата на примерокот на испитаници со ТК по осум статистички региони на национално ниво и според хистопатолошки типови е прикажана на график 21 подолу во текстот.

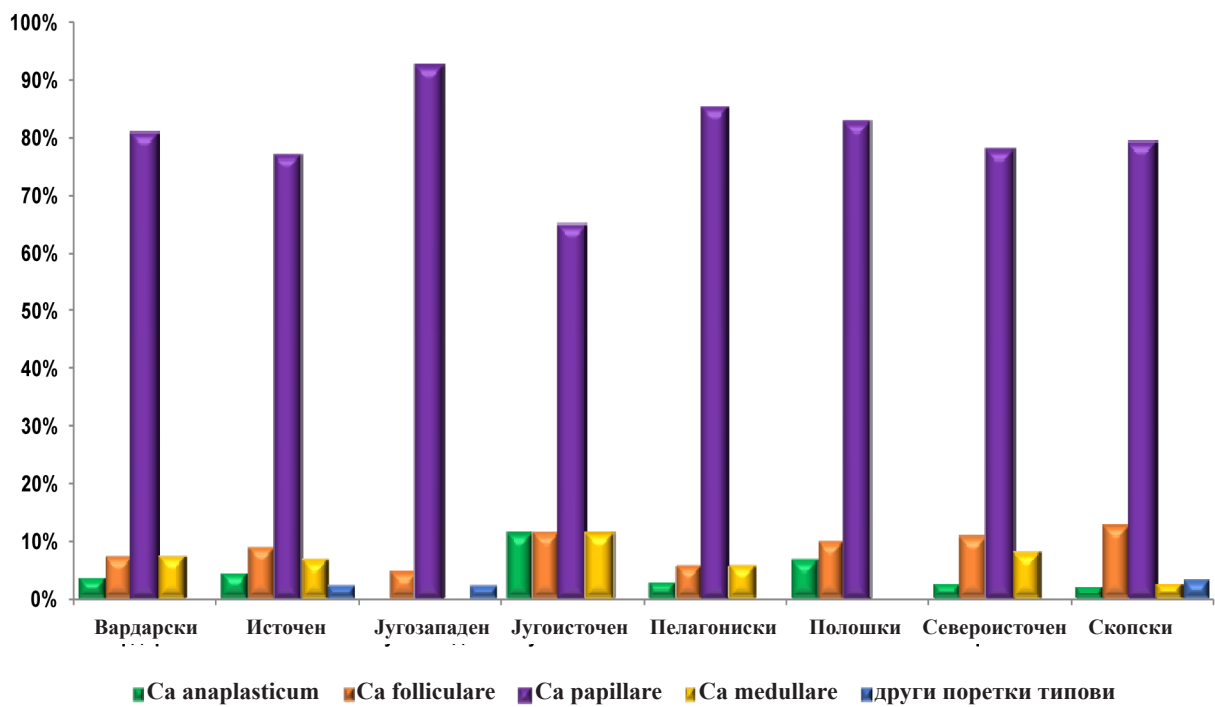


График 21. Дистрибуција на хистопатолошки типови на ТК по региони

## 7.4 Клинички карактеристики на ТК (1999 - 2015 година)

Во рамките на истражувањето на клиничките карактеристики на примерокот на ТК за периодот 1999 - 2015 година, беа опфтени повеќе варијабли како: преегзстирачка нодозна струма, број на јазли на ултрасонографски (US) преглед, ехогеност на јазолот, калцинација, димензија на US, позиција, палпаторен наод, тироиден хормонален статус на иницијален преглед, присуство на зголемени лимфни јазли во вратна регија на иницијален стадиум, детектирани далечни метастази на иницијален преглед, наод на <sup>99m</sup>Tc-пертехнетатен скен на тироидна жлезда, наод од тенкоиглена аспирациона биопсија (ФНАБ), хистопатолошки наод од оперативниот материјал, постоперативни компликации.

### 7.4.1 Анализа на ултрасонографските карактеристики според хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.1.1 Анализа на ултрасонографскиот изглед на тироидната жлезда на прв преглед во поглед на присуство и број на јазли

Примерокот од 422 (100%) пациенти со дијагностициран ТК е анализиран според присуство и број на детектирани јазли во тироидната жлезда на првичниот преглед. Присуството на јазол/јазли било утврдено кај 314 (96,3%) од пациентите, додека само кај 12 (3,7%), не била опишана диференцирана лезија на ултрасонографскиот наод и се групирани како окултни јазли. Согласно табела 20, отсуство на диференцирана лезија во тироидната жлезда, односно опис за окултен јазол имало само кај 10 (3,9%) од пациентите во групата со *Ca papillare* и 2 (22,2%) од групата со други поретки типови на ТК.

**Табела 20.** Анализа на хистопатолошки типови на ТК според присуство на јазол/јазли на US

Групи на типови на ТК според хистопатолошки наод		Присуство на јазли		Вкупно
		Не	Да	
<i>Ca anaplasticum</i>	Број	0	10	10
	%	0%	100%	
<i>Ca folliculare</i>	Број	0	37	37
	%	0%	100%	
<i>Ca papillare</i>	Број	10	248	258
	%	3,88%	96,12%	
<i>Ca medullare</i>	Број	0	12	12
	%	0%	100%	
други поретки типови	Број	2	7	9
	%	22,22%	77,78%	
Вкупно	Број	12	314	326
	%	3,68%	96,32%	100%

Анализата во однос на бројот на јазли била направена базирано на две опции: а) присуство на еден јазол (*Struma nodosa eutyreotica*) и б) присуство на повеќе јазли (*Struma multinodosa eutyreotica*) (Табела 21). Согласно табела 20, присуство на еден јазол бил утврден кај 188 (60,4%) од испитаниците со ТК додека кај 123 (39,5%) било утврдено присуство на повеќе јазли. Кај сите пет групи на типови на ТК според хистопатолошки наод доминира присуството на само на еден јазол (Табела 21). Нема статистички сигнификантна ( $p > 0,05$ ) асоцијација меѓу еден/повеќе јазли и хистопатолошките типови на ТК (Pearson Chi-square: 3,647,  $df=4$ ,  $p=0,4558$ ).

Анализата на ТК според присуството на еден/повеќе јазли и хистопатолошки типови на ТК е прикажана во табела 21 и график 22.

**Табела 21.** Анализа по број на јазли (SNE / SMNE) и хистопатолошки типови на ТК

Групи на типови на ТК според хистопатолошки наод		Број на јазли		Вкупно
		SNE <sup>1</sup>	SMNE <sup>2</sup>	
Ca anaplasticum	Број	6	4	10
	%	60%	40%	
Ca folliculare	Број	22	12	34
	%	64,71%	35,29%	
Ca papillare	Број	145	103	248
	%	58,47%	41,53%	
Ca medullare	Број	10	2	12
	%	83,33%	16,67%	
други поретки типови	Број	5	2	7
	%	71,43%	28,57%	
Вкупно	Број	188	123	311
	%	60,45%	39,55%	100%

<sup>1</sup>SNE=Struma nodosa eutyreotica  
Pearson Chi-square: 3,647,  $df=4$ ,  $p=0,4558$

<sup>2</sup>SMNE= Struma multinodosa eutyreotica  
\* сигнификантно за  $p < 0,05$

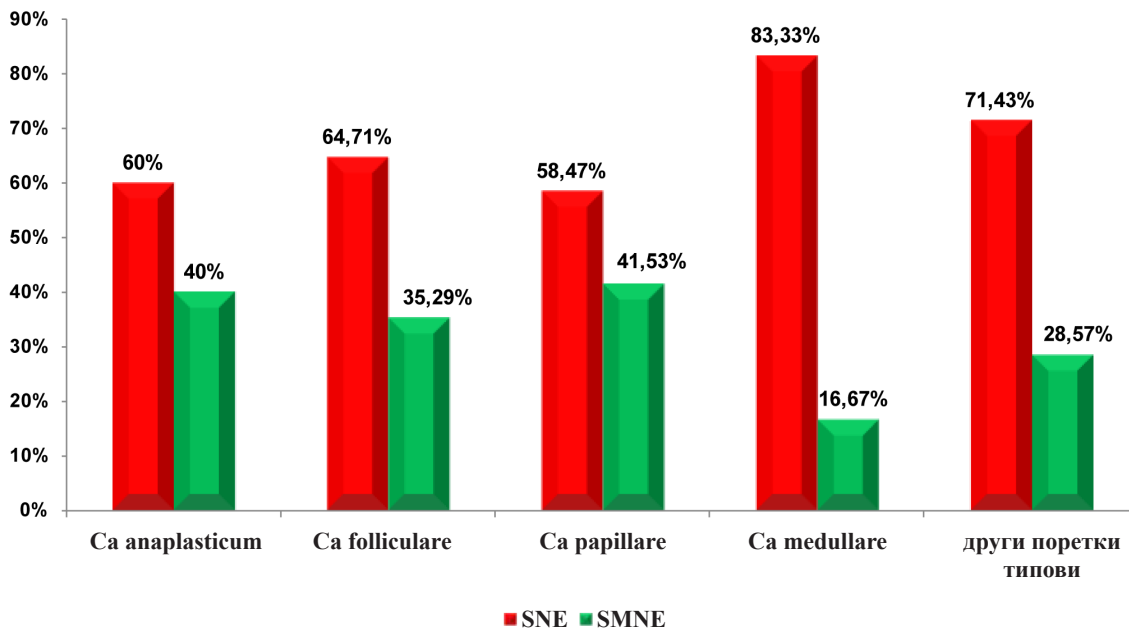


График 22. Анализа на ТК по број на јазли и хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.1.2 Анализа на хистопатолошки типови на ТК според ехогеност на јазолот

Ехогеноста на јазолот е утврдувана врз основа на 5 градации, и тоа: а) анехоген; б) хиперехоген; в) хипоехоген; г) изоехоген; и д) нехомоген. Во четири анализирани групи според хистопатолошки наод доминира присуството на хипоехогените и нехомогените јазли и тоа консеквентно кај: а) Ca anaplasticum – 4 (44,4%) vs 4 (44,4%); б) Ca folliculare – 12 (40%) vs 15 (50%); в) Ca papillare – 95 (47,3%) vs 71 (35,3%); и г) Ca medullare – 7 (70%) vs 2 (20%) (Табела 21). Кај други поретки типови хипоехогените и изоехогените биле застапени со по 2 (22,2%) додека нехомогените биле застапени со 4 (44,4%) (Табела 21).

Нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу хипогеност/останатите ехогености на јазли и хистопатолошкиот тип на ТК на кој и припаѓа испитаникот (Pearson Chi-square: 4,924,  $df=4$ ,  $p=0,295$ ). Анализата укажа дека, за  $p > 0,05$ , нема сигнификантна асоцијација меѓу нехомогеност/ останатите ехогености на јазли и хистопатолошкиот тип на ТК на кој и припаѓа испитаникот (Pearson Chi-square: 4,082,  $df=4$ ,  $p=0,395$ ). Нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) ниту меѓу хипогеност/ нехомогеност на јазлите и хистопатолошкиот тип на ТК на кој и припаѓа испитаникот (Fisher Fridman Halton exact test:  $p=0,337$ ).

Анализата на ТК според ехогеност на јазли и хистопатолошки типови на ТК е прикажана во табела 22 и график 23.

Табела 22. Анализа на ТК по ехогеност на јазли и хистопатолошки типови на ТК

Групи на типови на ТК според хистопатолошки наод		Ехогеност на јазолот					Вкупно
		<sup>1</sup> анехо	<sup>2</sup> хипер	<sup>3</sup> хипо	<sup>4</sup> изоехо	<sup>5</sup> нехомо	
Ca anaplasticum	Број	0	0	4	1	4	9
	%	0%	0%	44,44%	11,11%	44,44%	
Ca folliculare	Број	1	1	12	1	15	30
	%	3,33%	3,33%	40%	3,33%	50%	
Ca papillare	Број	9	17	95	9	71	201
	%	4,48%	8,46%	47,26%	4,48%	35,32%	
Ca medullare	Број	1	0	7	0	2	10
	%	10%	0%	70%	0%	20%	
други поретки типови	Број	1	0	2	2	4	9
	%	11,11%	0%	22,22%	22,22%	44,44%	
Вкупно	Број	12	18	120	13	96	259
	%	4,63%	6,95%	46,33%	5,02%	37,07%	100%

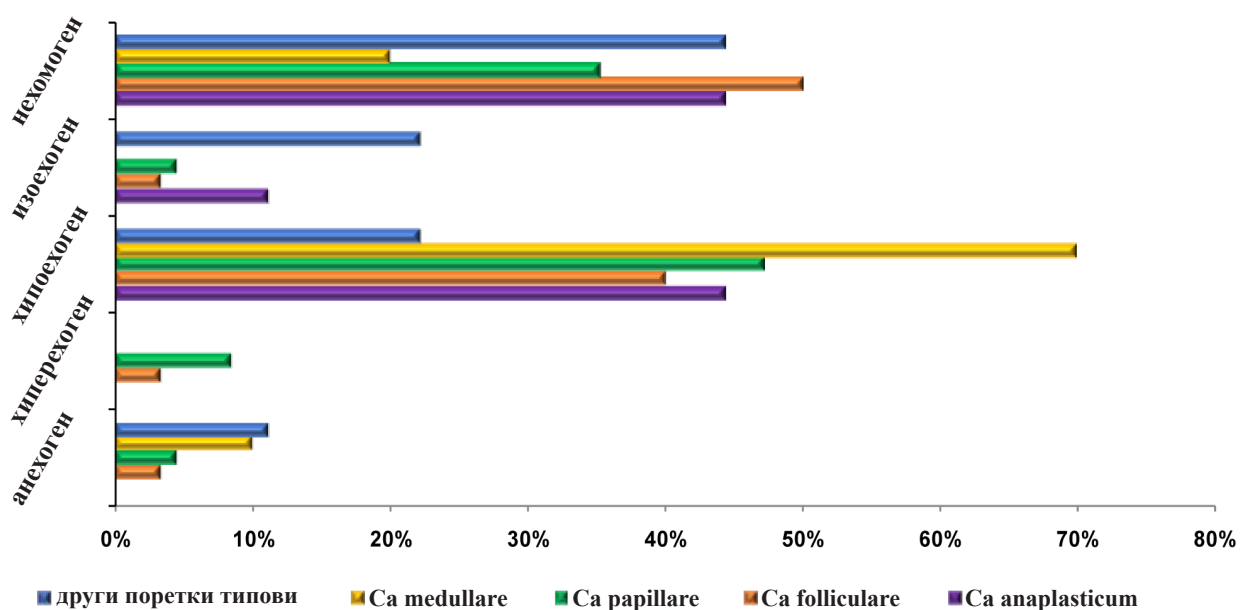
<sup>1</sup>анехоген; <sup>2</sup>хиперехоген; <sup>3</sup>хипоехоген; <sup>4</sup>изоехоген; <sup>5</sup>нехомоген\* сигнификантно за  $p < 0,05$ 

График 23. Анализа на ТК по ехогеност на јазли и хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.1.3 Анализа на хистопатолошки типови на ТК според присуството на калцинација во описот на иницијалниот ехографски наод

Примерокот на испитаници со ТК е анализиран во однос на присуство/отсуство на калцинација во туморот од ехо наодот. Калцинација била најдена кај 93 (33,6%) од пациентите (Табела 23 и График 24). Во рамките на секоја од петте групи според хистопатолошки наод, доминира отсуство на калцинација споредено со присуство со исклучок во групата на Ca anaplasticum, во којашто доминира присуството на калцинација. Нема сигнификантна асоцијација ( $p < 0,05$ ) меѓу хистопатолошкиот тип на ТК на кој припаѓа испитаникот и присуството на калцинација (Pearson Chi-square: 9,3149,  $df=4$ ,  $p=0,0537$ ).

**Табела 23.** Анализа на присуство на калцинација на ехографскиот наод и хистопатолошки типови на ТК

Хистопатолошки типови на ТК		Калцинација		Вкупно
		не	Да	
Ca anaplasticum	Број	3	6	9
	%	33,33%	66,67%	
Ca folliculare	Број	19	12	31
	%	61,29%	38,71%	
Ca papillare	Број	145	73	218
	%	66,51%	33,49%	
Ca medullare	Број	9	1	10
	%	90%	10%	
други поретки типови	Број	8	1	9
	%	88,89%	11,11%	
Вкупно	Број	184	93	277
	%	66,43%	33,57%	100%

Pearson Chi-square: 9,3149,  $df=4$ ,  $p=0,0537$

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Нема сигнификантна ( $p > 0,05$ ) процентуалната разлика во нема/има калцинација кај две од петте групи на хистопатолошки наод (Ca anaplasticum и Ca folliculare). Сигнификантна процентуалната разлика ( $p < 0,05$ ) во нема/има калцинација била согледана



кај: а) Ca papillare (Difference test: Difference 28% [(18,7-36,6) CI 95%]; Chi-square=34,19 df=1 p<0.0001); б) Ca medullare (Difference test: Difference 80% [(36,9-91,6) CI 95%]; Chi-square=12,160 df=1 p<0.0005); и в) други поретки типови (Difference test: Difference 77,8% [(31,9-90,7) CI 95%]; Chi-square=10,29 df=1 p<0.0013). Меѓугрупната споредба, укажа на сигнификантна процентуалната разлика (p<0,05) во присуството на калцинација помеѓу: а) Ca anaplasticum и Ca medullare (Difference test: Difference 56,7% [(13,1-79,5) CI 95%]; Chi-square=6,193 df=1 p<0.0128); и б) Ca anaplasticum и други поретки типови (Difference test: Difference 56,7% [(11,7-79,5) CI 95%]; Chi-square=5,774 df=1 p<0.0163).

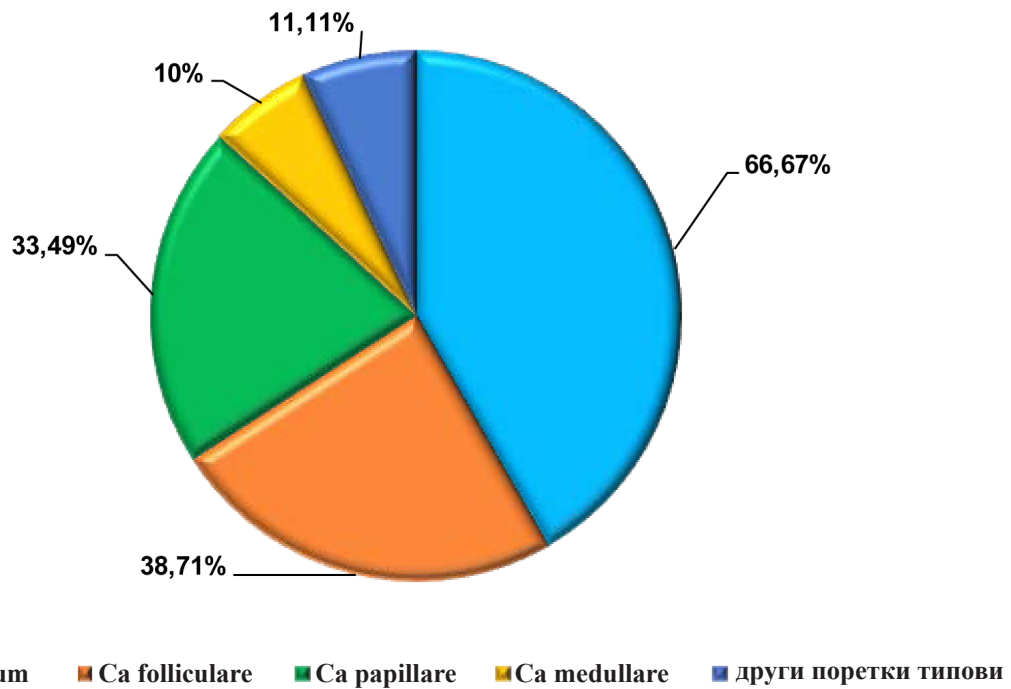


График 24. Анализа на присуство на калцинација и хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.1.4 Анализа на хистопатолошки типови на ТК според предоперативниот наод од ( $^{99m}\text{Tc}$ ) пертехнетатен скен на тироидната жлезда

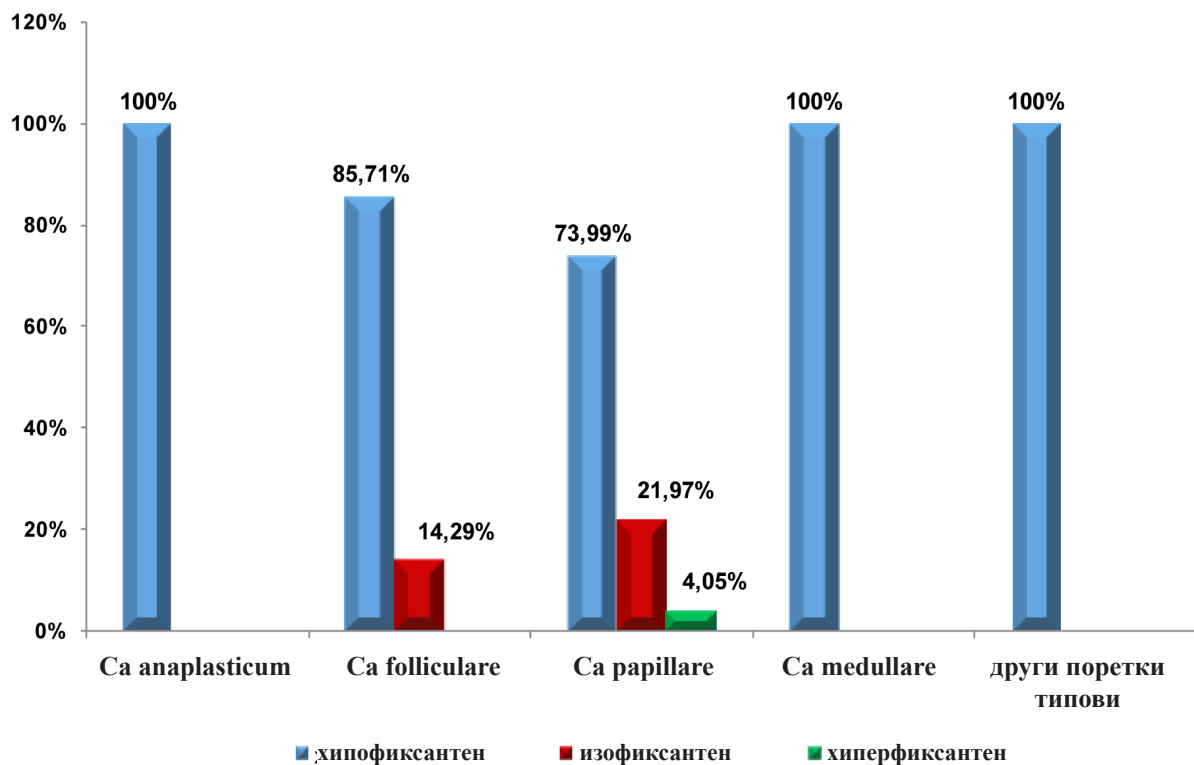
Во рамките на истражувањето направена е анализа на хистопатолошки типови на ТК во однос на предоперативниот наод на технициумски скен на тироидна жлезда на прв преглед ( $^{99m}\text{Tc}$ -скен) дефиниран како: а) хипофиксантен; б) изофиксантен; и в) хиперфиксантен. Согласно табела 24 и график 25, кај најголемиот дел од испитаниците, од сите пет групи хистопатолошки типови на ТК, имале хипофиксантен наод и тоа: а) Ca anaplasticum – 7 (100%); б) Ca folliculare – 24 (85,7%); в) Ca papillare – 128 (74%); г) Ca medullare – 7 (100%) и д) други поретки типови – 7 (100%). Изофиксантен наод од ( $^{99m}\text{Tc}$ )-пертехнетатен скен бил опишан кај Ca folliculare и Ca papillare во консеквентно 4 (14,3%) и 38 случаи (22%). Хиперфиксантен наод на ( $^{99m}\text{Tc}$ )-пертехнетатен скен бил регистриран само кај 7 (4,1%) од случаите со Ca papillare.

**Табела 24.** Анализа на наодите од  $^{99m}\text{Tc}$  - пертехнетатен скен според хистопатолошки типови на ТК

Хистопатолошки типови на ТК		Технициумски скен на тироидна жлезда			Вкупно
		Хипофиксантен	Изофиксантен	Хиперфиксантен	
Ca anaplasticum	Број	7	0	0	7
	%	100%	0%	0%	
Ca folliculare	Број	24	4	0	28
	%	85,71%	14,29%	0%	
Ca papillare	Број	128	38	7	173
	%	73,99%	21,97%	4,05%	
Ca medullare	Број	7	0	0	7
	%	100%	0%	0%	
Други поретки типови	Број	7	0	0	7
	%	100%	0%	0%	
Вкупно	Број	173	42	7	222
	%	77,93%	18,92%	3,15%	100%

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Нема сигнификантна ( $p > 0,05$ ) процентуална разлика помеѓу хистопатолошките типови на ТК во однос на хипофиксантниот наод на  $^{99m}\text{Tc}$ - пертехнетатен скен.



**График 25.** Анализа на ТК според  $^{99m}\text{Tc}$ -пертехнетатен скен и хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.1.5 Анализа на хистопатолошки типови на ТК според тироиден хормонален статус

Во рамките на истражувањето направена е анализа на хистопатолошки типови на ТК според тироиден хормонален статус на примарна презентација дефиниран како: а) еутироидна; б) хипотироидна; в) хипертироидна; г) супклинички хипертироидна и д) супклинички хипотироидна (Табела 25 и График 26).

**Табела 25.** Анализа на хистопатолошки типови на ТК според тироиден хормонален статус

Хистопатолошки типови на ТК		Хормонален статус					Вкупно
		<sup>1</sup> ЕУ	<sup>2</sup> ХИПО	<sup>3</sup> ХИПЕР	<sup>4</sup> СХИПЕР	<sup>5</sup> СХИПО	
Ca anaplasticum	Број	7	1	0	1	1	10
	%	70%	10%	0%	10%	10%	
Ca folliculare	Број	26	0	2	1	4	33
	%	78,79%	0%	6,06%	3,03%	12,12%	
Ca papillare	Број	193	2	14	8	16	233
	%	82,83%	0,86%	6,01%	3,43%	6,87%	
Ca medullare	Број	11	0	0	0	0	11
	%	100%	0%	0%	0%	0%	
други поретки типови	Број	4	1	0	0	2	7
	%	57,14%	14,29%	0%	0%	28,57%	
Вкупно	Број	241	4	16	10	23	294
	%	81,97%	1,36%	5,44%	3,40%	7,82%	100%

<sup>1</sup>еутироидна-ЕУ; <sup>2</sup>хипотироидна-ХИПО; <sup>3</sup> хипертироидна-ХИПЕР;

<sup>4</sup>супклинички хипотироидна-СХИПО; <sup>5</sup>супклинички хипертироидна-СХИПЕР

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Во сите групи на хистопатолошки типови на ТК најдоминантен хормонален статус бил еутироидниот застапен кај: а) Ca anaplasticum – 7 (70%); б) Ca folliculare – 26 (78,8%); в) Ca papillare – 193 (82,9%); г) Ca medullare – 11 (100%) и д) други поретки типови – 4 (57,1%). Нема сигнификантна ( $p > 0,05$ ) процентуална разлика помеѓу хистопатолошките типови на ТК во однос на еутироидниот хормонален статус. Втор по застапеност бил супклинички хипотироидниот стаус застапен кај: а) Ca anaplasticum – 1 (10%); б) Ca

folliculare – 4 (12,1%); в) Ca papillare – 16 (6,9%) и г) други поретки типови – 2 (28,6%). Хипотироидниот статус бил застапен најмалку и тоа само кај Ca papillare и Ca medullare со консеквентно 2 (0,9%) vs 1 (14,3%) со сигнификантна процентуална разлика за  $p < 0,05$  (Difference test: Difference 13,4% [(1,5-50,7) CI 95%]; Chi-square=9,875 df=1  $p < 0.0017$ ) во прилог на групата на други поретки типови.

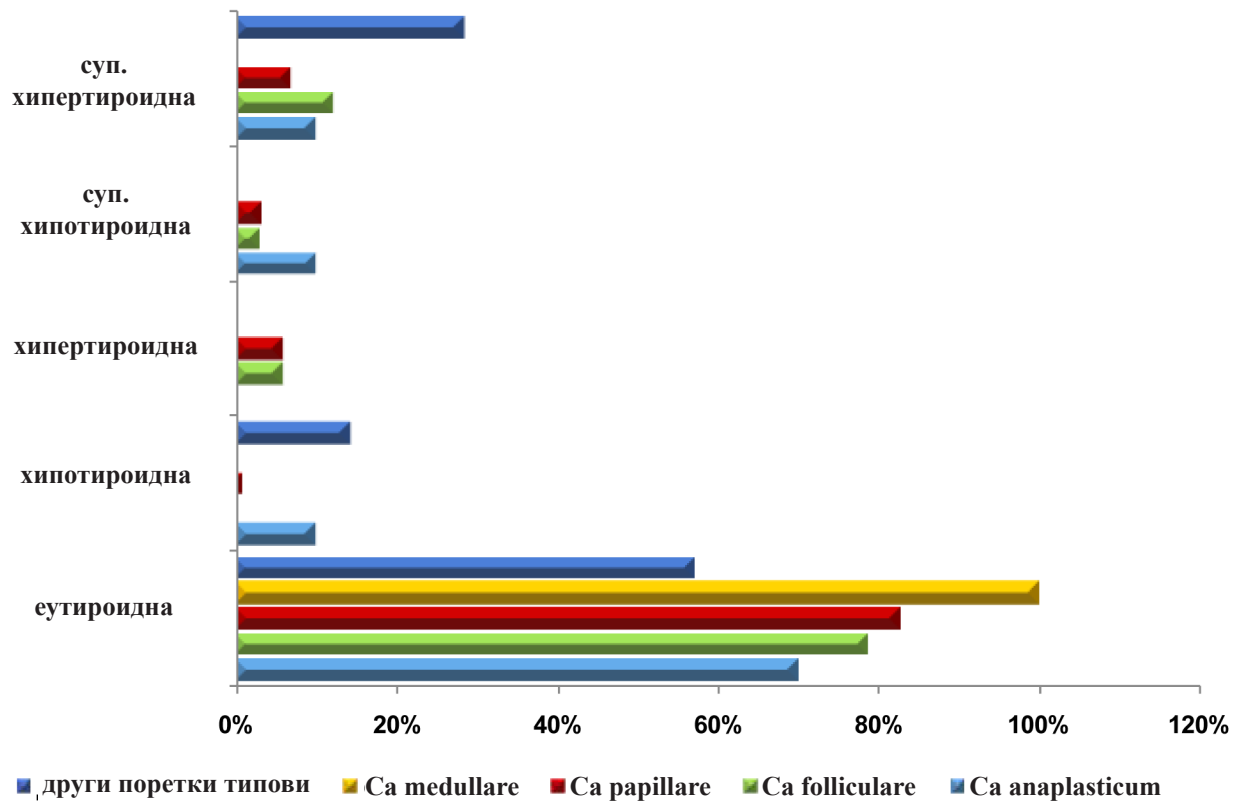


График 26. Анализа на ТК по хормонален статус и хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.2 Анализа на ТК според димензијата на туморот на иницијалниот ултрасонографски наод

За анализа на ТК во однос на димензија на туморот на иницијален ехо наод, тие биле поделени во четири групи и тоа: 1)  $< 15$  mm; 2) 16-50 mm; 3)  $> 51$  mm и 4) мултицентричен.

##### 7.4.2.1 Анализа според димензијата на туморот на иницијален ехо преглед и според хистопатолошки тип на ТК

Согласно табела 26, анализата укажа дека во сите пет групи на ТК според хистопатолошки наод доминира димензијата на тумори според иницијален ехо наод од 16-50 mm и тоа кај: а) Ca anaplasticum - 7 (70%); б) Ca folliculare - 16 (47,1%); в) Ca papillare - 132 (53,9%); г) Ca medullare - 6 (54,5%) и д) други поретки типови - 5 (83,3%).

Нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу хистопатолошкиот тип на ТК и димензијата на туморот од 16-50 mm/сите останати димензии според иницијален ехо наод (Pearson Chi-square: 3,767, df=4,  $p = 0,438$ ).

**Табела 26.** Анализа на ТК по димензија од иницијален ехо наод и хистопатолошки типови на ТК

Хистопатолошки типови на ТК		димензии на тумори според иницијален US наод				Вкупно
		<15 mm	16-50 mm	>51 mm	мултиц.	
Ca anaplasticum	Број	0	7	2	1	10
	%	0%	70%	20%	10%	
Ca folliculare	Број	4	16	10	4	34
	%	11,76%	47,06%	29,41%	11,76%	
Ca papillare	Број	60	132	15	38	245
	%	24,49%	53,88%	6,12%	15,51%	
Ca medullare	Број	1	6	3	1	11
	%	9,09%	54,55%	27,27%	9,09%	
други поретки типови	Број	0	5	1	0	6
	%	0%	83,33%	16,67%	0%	
Вкупно	Број	65	166	31	44	306
	%	21,24%	54,25%	10,13%	14,38%	100%

Pearson Chi-square: 3,767, df=4, p=0,438

\* сигнификантно за p&lt;0,05

#### 7.4.2.2 Анализа на димензијата на туморот на иницијаен ултрасонографски преглед според временски периоди

Во рамките на истражувањето направена е анализа на примерокот на ТК според димензии на тумори во три временски периоди (1999 - 2004, 2005 - 2010 и 2011 - 2015). Најзастапена димензија на тумор според иницијален ехо наод во сите три периоди е онаа од 16-50 mm за консеквентно 37 (52,9%) vs 62 (60,8%) vs 80 (50,9%) (Табела 27 и График 26). Најмалку застапена димензија во периодот 1999 - 2004 е мултицентричен со 7 (10%), во периодот 2005 - 2010 е <15mm со 10 (9,8%) и во периодот 2011 - 2015 година е >51mm со 9 (5,7%). Утврдена е сигнификантна асоцијација (p<0,05) помеѓу димензијата на туморот и временскиот период (Fisher-Freeman-Halton exact test: p=0,0021).

Табела 27. Анализа на примерок на ТК по временски периоди и димензии на тумор

Димензии на тумори според иницијален US наод		Временски периоди (години)			Вкупно
		1999 - 2004	2005 - 2010	2011 - 2015	
<15mm	Број	15	10	40	65
	%	21,43%	9,80%	25,48%	
16-50mm	Број	37	62	80	179
	%	52,86%	60,78%	50,96%	
>51mm	Број	11	18	9	38
	%	15,71%	17,65%	5,73%	
мултицентричен	Број	7	12	28	47
	%	10%	11,76%	17,83%	
Вкупно	Број	70	102	157	329
	%	21,28%	31,00%	47,72%	100%

Fisher-Freeman-Halton exact test:  $p=0,0021$ \* сигнификантно за  $p<0,05$ 

Направена е дополнителна анализа на темпото на растење/опаѓање на застапеноста на секоја од четирите групи на димензии на тумори во текот на трите временски периоди (Табела 28). Согледано е дека туморите >51mm се во опаѓање и тоа за 50% во периодот 2011 - 2015 споредено со 2005 - 2010 година односно за 18% 2011 - 2015 споредено со 1999 - 2004 година. Оваа димензија на тумори има посебен подем во 2005 - 2010 годинина и тоа за 63,6%. Најголем подем во однос на периодот 1999 - 2015 година имаат мултицентричните тумори и тоа за 300% следено со туморите со димензии <15mm и тоа за 166,7%.

Табела 28. Анализа на примерок на ТК по временски периоди и темпо на застапеност на иницијална димензија на тумор според US наод

Димензии на тумори според иницијален US наод	Темпо на опаѓање/растење на застапеност на димензија на тумор (%)			
	1999 - 2004	2005 - 2010/ 1999 - 2004	2011 - 2015/ 2005 - 2010/	2011 - 2015/ 1999 - 2004
<15mm	-	↓ 33,3%	↑ 300%	↑ 166,7%
16-50mm	-	↑ 67,6%	↑ 29%	↑ 116,2%
>51mm	-	↑ 63,6%	↓ 50%	↓ 18,2%
Мултицентричен	-	↑ 71,4%	↑ 133,3%	↑ 300%

Графичкиот приказ на дескрипцијата на примерокот на ТК по временски периоди и димензии на тумор е даден на график 26.

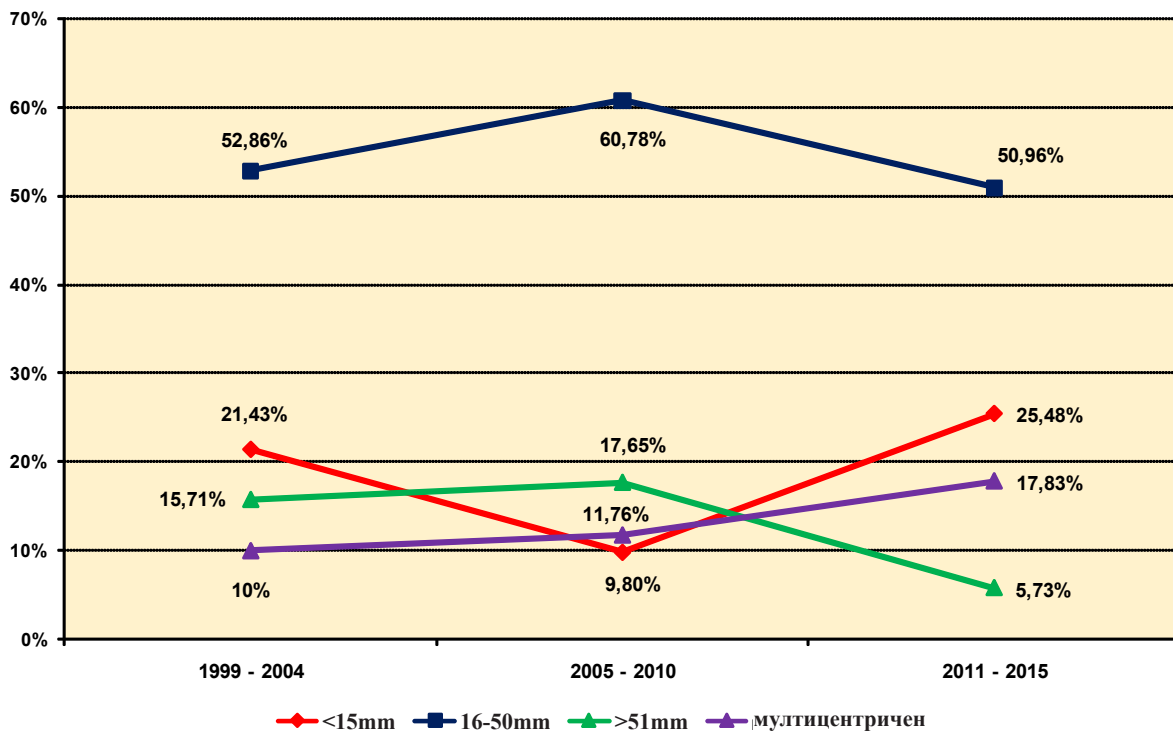


График 26. Дескрипција на примерок на ТК по временски периоди и димензии на тумор

#### 7.4.2.3 Анализа според палпаторен наод на прв преглед и димензијата на туморот

Во рамките на истражувањето (Табела 29 и График 27) направена е анализа на димензиите на туморот според иницијален US наод и палпаторен наод на прв преглед со пет можности и тоа: а) се палпира јазол; б) се палпира јазол и зголемени лимфогландули (лгл); в) зголемена тироидна жлезда; г) нормална тироидна жлезда; и д) палпабилна. Според анализата (Табела 29):

- од туморите со димензии <15mm кај 28 (53,8%) бил палпиран јазол, додека по 5 (9,6%) случаи биле со палпиран јазол и зголемени вратни лгл односно имале наод на нормална тироидна жлезда;
- кај туморите со димензии од 16-50mm, во најголемиот дел 116 (76,3%) бил палпиран јазол, додека јазол и лгл односно зголемена тироидна жлезда биле палпирани кај 15 (9,9%) случаи, а кај 2 (1,3%) и 4 (2,6%) наодот бил консеквентно нормална односно палпабилна тироидна жлезда;
- кај туморите со димензии >51mm, најголемиот дел 21 (61,7%) биле со палпабилен јазол, кај 5 (14,7%) се палпирал јазол и лгл, а кај 8 (23,5%) палпаторниот наод бил зголемена тироидна жлезда. Ниеден палпаторен наод во оваа група не бил нормална т.е. палпабилна тироидна жлезда;
- 19 (51,3%) од мултицентричните тумори биле со палпабилен јазол, кај 8 (21,6%) се палпирала зголемена тироидна жлезда, 7 (18,9%) биле со палпабилен јазол и лгл, а кај 3 (8,1%) случаи палпаторниот наод бил нормален;



Табела 29. Анализа по димензија на тумори на иницијален US преглед и палпаторен наод

Димензии на тумори според иницијален US наод		палпаторен наод на прв преглед					Вкупно
		<sup>1</sup> ПЈ	<sup>2</sup> ЈЛ	<sup>3</sup> ЗГ	<sup>4</sup> НО	<sup>5</sup> ПА	
<15mm	Број	28	5	8	5	6	52
	%	53,85%	9,62%	15,38%	9,62%	11,54%	
16-50mm	Број	116	15	15	2	4	152
	%	76,32%	9,87%	9,87%	1,32%	2,63%	
>51mm	Број	21	5	8	0	0	34
	%	61,76%	14,71%	23,53%	0%	0%	
Мултицентричен	Број	19	7	8	3	0	37
	%	51,35%	18,92%	21,62%	8,11%	0%	
Вкупно	Број	184	32	39	10	10	275
	%	66,91%	11,64%	14,18%	3,64%	3,64%	100%

<sup>1</sup>палпира јазол-ПЈ; <sup>2</sup>јазол и лгл-ЈЛ; <sup>3</sup>зголемена-ЗГ; <sup>4</sup>нормална-НО; <sup>5</sup>палпабилна-ПА

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Има сигнификантна процентуалната разлика ( $p < 0,05$ ) во палпација на јазол кај туморите со димензии <15mm и оние од 16-50mm (Difference test: Difference 22,5% [(7,7-37,1) CI 95%]; Chi-square=9,397 df=1  $p < 0,0022$ ) во прилог на групата од 16 - 50mm. Сигнификантна разлика ( $p > 0,05$ ) не е согледана во ни една од процентуалните разлики на комбинациите на димензија на тумори и палпаторен наод.

Дополнителната анализа укажа дека, нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу димензиите на туморот (<15mm, 16 - 50mm и мултицентричен) со палпаторниот наод (нормална и палпабилна) (Fisher-Freeman-Halton exact test:  $p = 0,2766$ ). Нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу димензиите на туморот (<15mm, 16 - 50mm, >51mm и мултицентричен) со палпаторниот наод (палпира јазол, јазол и лгл, и зголемена) (Pearson Chi-square: 11,3, df=6,  $p = 0,079$ ).

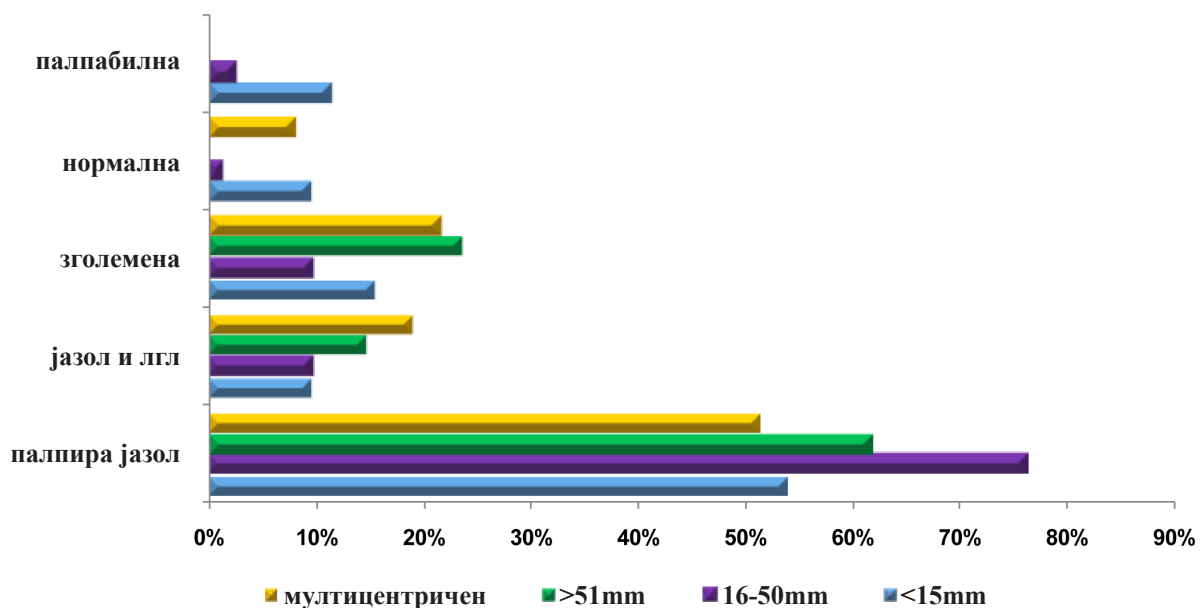


График 27. Анализа по димензија на тумори на иницијален US преглед и палпаторен наод

#### 7.4.2.4 *Анализа според присуство на метастази во лимфни јазли на прв преглед и димензиите на туморот на прв преглед*

Направена е анализа на испитаниците во примерокот според присуство на метастази во регионални лимфни јазли на иницијален преглед и големина на тумор при прв US преглед. Присуството на метастазите во регионалните лимфни јазли било оценувано како: а) нема и б) има.

За анализа на ТК во однос на димензија на туморот според иницијален ехо наод, тие беа поделени во четири групи и тоа: 1) <15mm; 2) 16-50mm; 3) >51mm и 4) мултицентричен. Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна позитивна слаба корелација помеѓу големината на туморот и постоењето на регионалните лимфни јазли за Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,219$ ;  $p<0,05$  (График 28). Со растењето на големината на туморот, сигнификантно се зголемува постоењето на регионалните лимфни јазли.

**Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,219$ ;  $p<0,05$**



График 28. Корелација помеѓу димензијата на туморот на прв US-преглед и постоењето на регионални лимфни јазли

#### 7.4.2.5 *Анализа според позиција на туморот во тироидната жлезда и димензијата на прв преглед*

Направена е анализа според димензијата на туморот и позицијата во тироидната жлезда при иницијален US преглед со следните опции: а) во лев лобус; б) во десен лобус; в) истмично (во истмусот на тироидната жлезда); г) билатерално; и д) во cysta ductus thyreoglossi (Табела 30 и График 29). Најголемиот дел од туморите со димензии <15mm, 16-50mm и >51mm биле позиционирани во десниот лобус на тироидната жлезда за консеквентно 30 (47,6%) vs 98 (56,3%) vs 19 (51,3%) случаи. Кај мултицентричните

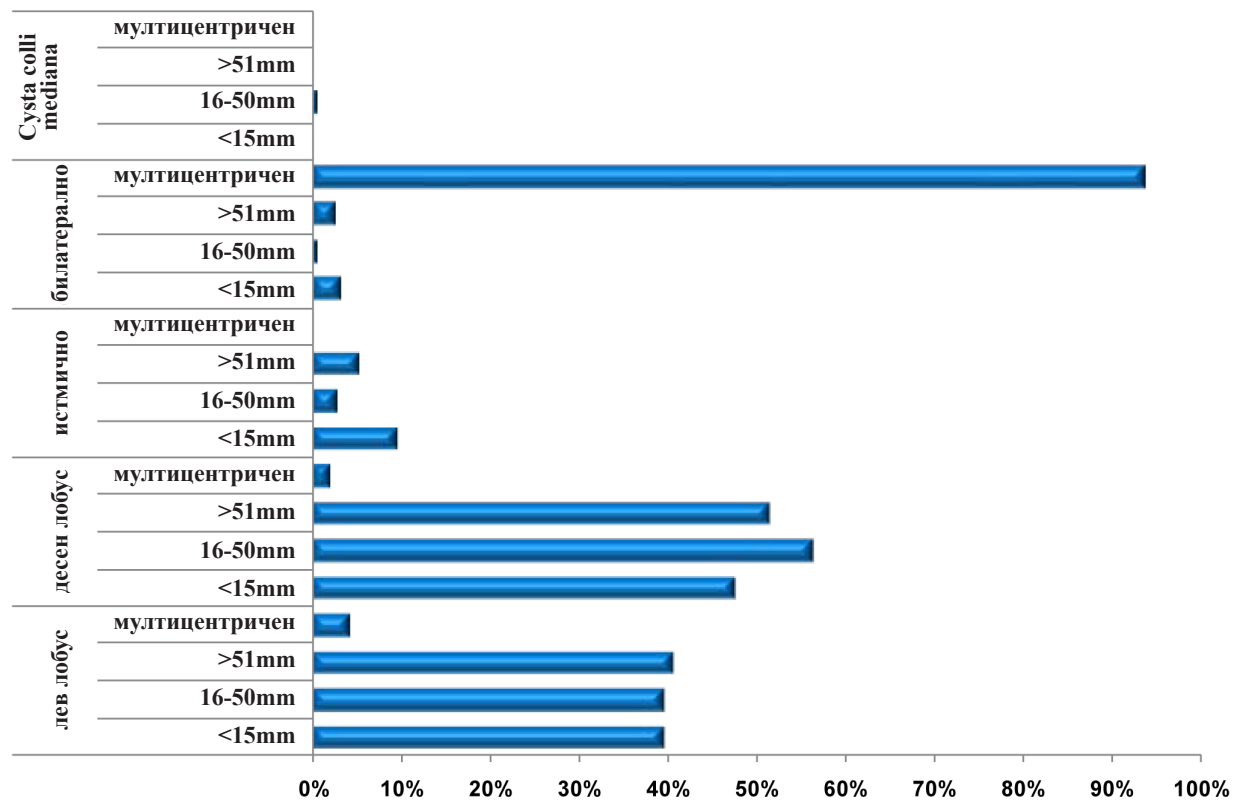
тумори најчеста локација е билатерална и тоа кај 44 (93,6%) случаи. Само еден тумор со димензија од 16-50 mm е лоциран во cysta ductus thyreoglossi.

**Табела 30.** Анализа по димензија и позиција на туморот во тироидна жлезда при иницијално US

Димензии на тумори според иницијален US наод		Позиција на туморот во тироидната жлезда					Вкупно
		<sup>1</sup> ЛЛ	<sup>2</sup> ДЛ	<sup>3</sup> ИС	<sup>4</sup> БЛ	<sup>5</sup> СС	
<15mm	Број	25	30	6	2	0	63
	%	39,68%	47,62%	9,52%	3,17%	0%	
16-50mm	Број	69	98	5	1	1	174
	%	39,66%	56,32%	2,87%	0,57%	0,57%	
>51mm	Број	15	19	2	1	0	37
	%	40,54%	51,35%	5,41%	2,70%	0%	
Мултицентричен	Број	2	1	0	44	0	47
	%	4,26%	2,13%	0%	93,62%	0%	
Вкупно	Број	111	148	13	48	1	321
	%	34,58%	46,11%	4,05%	14,95%	0,31%	100%

<sup>1</sup>лев лобус-ЛЛ; <sup>2</sup>десен лобус-ДЛ; <sup>3</sup>истмично-ИС; <sup>4</sup>билатерално-БЛ; <sup>5</sup> cysta ductus thyreoglossi - СС  
\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Дополнителната анализа укажа дека, нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу трите групи на димензиите на туморот (<15mm, 16-50mm и >51mm) со четири позиции на туморот (лево, десно, истмично и билатерално) (Fisher exact two tailed test:  $p = 0,266$ ).



**График 29.** Анализа по димензија и позиција на туморот при иницијален US

### 7.4.3 Анализа на ТК според постоперативни компликации

Направена е анализа на ТК од примерокот според појава на постоперативни компликации дефинирани како: а) нема; б) хипокалцемија; в) повреда на *n. recurrens laryngis* и г) хипокалцемија и повреда на *n. recurrens laryngis*. Анализирани се повеќе аспекти посочени подолу.

#### 7.4.3.1 Анализа на постоперативни компликации според димензии на тумор на иницијален ултрасонографски наод

Над 80% од испитаниците во секоја од четирите групи на димензии на тумор според иницијалниот US наод немале постоперативни компликации (Табела 31 и График 30).

**Табела 31.** Анализа на ТК по димензија според иницијален ехо наод и постоперативни компликации

Димензии на тумори според иницијален US наод		Постоперативни компликации				Вкупно
		нема	хипокалцемија	повреда на <i>n. recurrens laryngis</i>	хипокалцемија и повреден <i>n. recurrens</i>	
<15mm	Број	53	8	4	0	65
	%	81,54%	12,31%	6,15%	0%	
16-50mm	Број	139	16	11	0	166
	%	83,73%	9,64%	6,63%	0%	
>51mm	Број	32	2	3	0	37
	%	86,49%	5,41%	8,11%	0%	
Мултицентричен	Број	41	1	3	2	47
	%	87,23%	2,13%	6,38%	4,26%	
Вкупно	Број	265	27	21	2	315
	%	84,13%	8,57%	6,67%	0,63%	100%

Fisher-Freeman-Halton exact test:  $p=0,4351$

\* сигнификантно за  $p<0,05$

Кај оние кои имале, најчести постоперативни компликации се хипокалцемија и повреда на *n. recurrens laryngis*. Кај туморите со димензии <15mm односно 16-50mm најчести постоперативни компликации се хипокалцемија за консеквентно 8 (12,3%) и 16 (9,6%). Кај туморите со димензии >51mm и мултицентричен, најчеста постоперативна компликација е повреда на *n. recurrens laryngis* кај консеквентно 3 (8,1%) vs 3 (6,4%) случаи. Само во групата со мултицентричен тумор и тоа кај 2 (4,25%) случаи како постоперативна компликација се јавува хипокалцемија и повреден *n. recurrens*. Нема сигнификантна асоцијација ( $p>0,05$ ) меѓу димензијата на туморот и постоперативните повреди (хипокалцемија и повреда на *n. recurrens laryngis*) (Fisher-Freeman-Halton exact test:  $p=0,4351$ ).

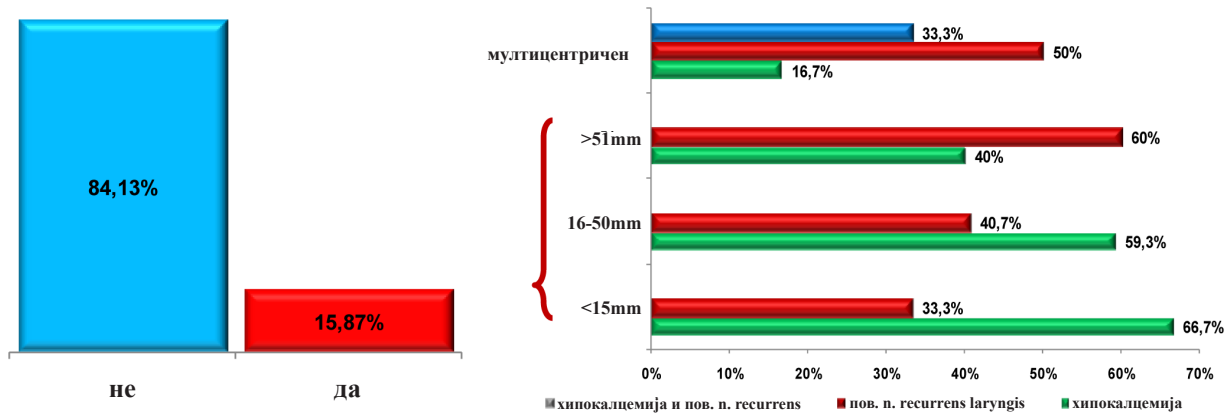


График 30. Дистрибуција на постоперативни компликации и анализа според димензија на иницијален ехо наод

7.4.3.2 *Анализа на постоперативни компликации според позиција на туморот во тироидната жлезда од иницијалниот ултрасонографски наод*

Независно од позицијата на туморот во тироидната жлезда, нема сигнификантна процентуална разлика ( $p > 0,05$ ) во отсуството на постоперативни компликации кои го преставуваат доминантниот наод. Анализата укажа дека при позиција на туморот во левиот лобус, десниот лобус и билатерално најчеста компликација е хипокалцемија кај консеквентно 11 (10,1%) vs 12 (8,2%) vs 4 (8,2%) случаи следено со повреда на *p. recurrrens laryngis* кај консеквентно 5 (4,6%) vs 9 (6,1%) vs 4 (8,2%) случаи (Табела 32 и График 31).

Табела 32. Анализа на ТК по позиција на туморот и постоперативни компликации

Позиција на туморот во тироидна жлезда		Постоперативни компликации				Вкупно
		Нема	хипокалцемија	повреда на <i>p. recurrrens laryngis</i>	хипокалцемија и повреден <i>p. recurrrens</i>	
лев лобус	Број	93	11	5	0	109
	%	85,32%	10,09%	4,59%	0%	
десен лобус	Број	126	12	9	0	147
	%	85,71%	8,16%	6,12%	0%	
Истмично	Број	9	1	2	0	12
	%	75%	8,33%	16,67%	0%	
Билателарно	Број	39	4	4	2	49
	%	79,59%	8,16%	8,16%	4,08%	
Cysta colli medii	Број	2	0	0	0	2
	%	100%	0%	0%	0%	
Вкупно	Број	269	28	20	2	319
	%	84,33%	8,78%	6,27%	0,63%	100%

Fisher-Freeman-Halton exact test:  $p = 0,6581$

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

При истмична локација на туморот втора по застапеност е повредата на *n. recurrens laryngis* застапена со 2 (16,7%) следена со хипокалцемија кај само 1 (8,3%). Според табела 31, при локација на туморот во *Cysta ductus thyreoglossi* без компликација биле 2 (100%) од случаите.

Нема сигнификантна асоцијација ( $p > 0,05$ ) меѓу позицијата на туморот (лево, десно, истмично и билатерално) и постоперативните повреди (хипокалцемија и повреда на *n. recurrens laryngis*) (Fisher-Freeman-Halton exact test:  $p = 0,6581$ ).

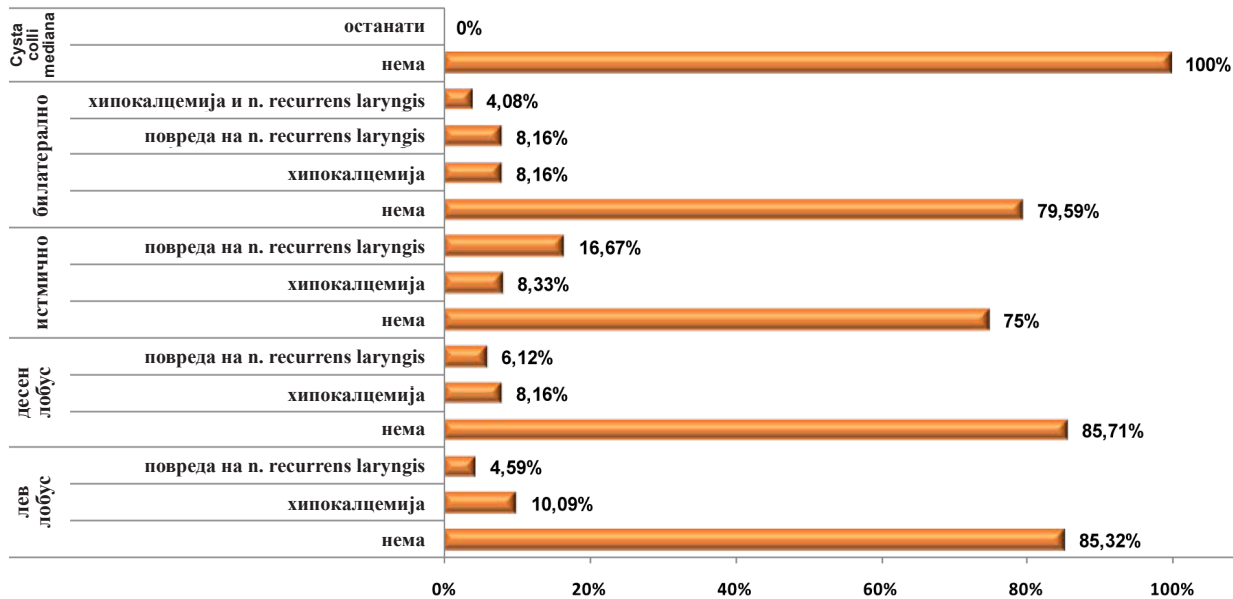


График 31. Анализа на ТК според позиција на туморот и постоперативни компликации

#### 7.4.4 Анализа според присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед кај ДТК

Во рамките на истражувањето, направена е анализа на присуството на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед кај испитаниците со *Ca folliculare* и *Ca papillare* со вкупно применетата доза на радиојодна терапија (mCi) како и со бројот на радиојодни терапии. Присуството на метастазите во регионалните лимфни јазли било оценувано како: а) нема и б) има.

##### 7.4.4.1 Анализа според метастази во регионални вратни лимфни јазли на прв преглед и вкупна доза на радиојодна терапија кај ДТК

Во рамките на истражувањето, направена е анализа на вкупна доза на радиојодна терапија (mCi) на примерокот (*Ca folliculare* и *Ca papillare*) во однос на присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед. Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна позитивна слаба корелација помеѓу присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед и вкупната применета доза на радиојодна

терапија за Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,172$ ;  $p<0,05$  (График 32). Со присуството на метастази во регионалните лимфни јазли сигнификантно се зголемува и вкупната доза на применета радиојодна терапија кај пациентите.

**Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,172$ ;  $p<0,05$**



График 32. Корелација помеѓу присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед и вкупна доза на радиојодна терапија

#### 7.4.4.2 *Анализа според присуство на метастази во регионални вратни лимфни јазли на прв преглед и бројот на спроведени радиојодни терапии*

Направена е и анализа на бројот на радиојодни терапии на примерокот (Ca folliculare и Ca papillare) во однос на присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед. Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна позитивна умерена корелација помеѓу присуство на метастази во регионални лимфни јазли на прв преглед и бројот на радиојодни терапии за Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,295$ ;  $p<0,05$  (График 33). Присуството на метастази во регионалните лимфни јазли сигнификантно го зголемува и бројот на радиојодни терапии.

Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,295$ ;  $p<0,05$ 

График 33. Корелација помеѓу присуство на метастази во регионални лимфни јазли и број на радиојодни терапии

#### 7.4.5 Анализа според присуство на далечни метастази

Во однос на табела 33 анализата укажа дека во примерокот на ТК, податок за далечни метастази имало кај 218 испитаници од кои 148 (67,88%) немале метастази додека кај 70 тие биле регистрирани на различна локација, и тоа: недеференцирана позиција 10 (4,6%), скелетни 2 (0,9%), белодробни 25 (11,5%), скелет и белодробни 2 (0,9%), паротидна жлезда 3 (1,4%). Најчесто се детектирани локо-регионални рецидиви, и тоа во регионални лимфни јазли 25 (11,5%) и локален рецидив 3 (1,4%).

Табела 33. Дескриптивна анализа на ТК според постоење на далечни метасатази

Далечни метастази	Дистрибуција	
	Број	%
нема	148	67,88
недефинирана позиција	10	4,6
скелетни	2	0,92
белодробни	25	11,47
скелет и белодробни	2	0,92
паротидна жлезда	3	1,38
регионални лимфни јазли	25	11,47
локален рецидив	3	1,38
<b>Вкупно</b>	<b>218</b>	<b>100</b>



#### 7.4.5.1 Анализа на корелацијата меѓу присуство на далечни метастази со хистопатолошки типови на ТК

Анализирана е поврзаноста помеѓу постоењето на далечни метастази и хистопатолошки типови на ТК. Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна позитивна слаба корелација за Spearman Rank Order Correlation:  $R=0,194$ ;  $p<0,05$  (График 34). Со зголемување на малигнитетот на ТК, според хистопатолошкиот наод сигнификантно се зголемува и постоењето на далечни метастази.

**Spearman Rank Order Correlation:  $R=0,194$ ;  $p<0,05$**

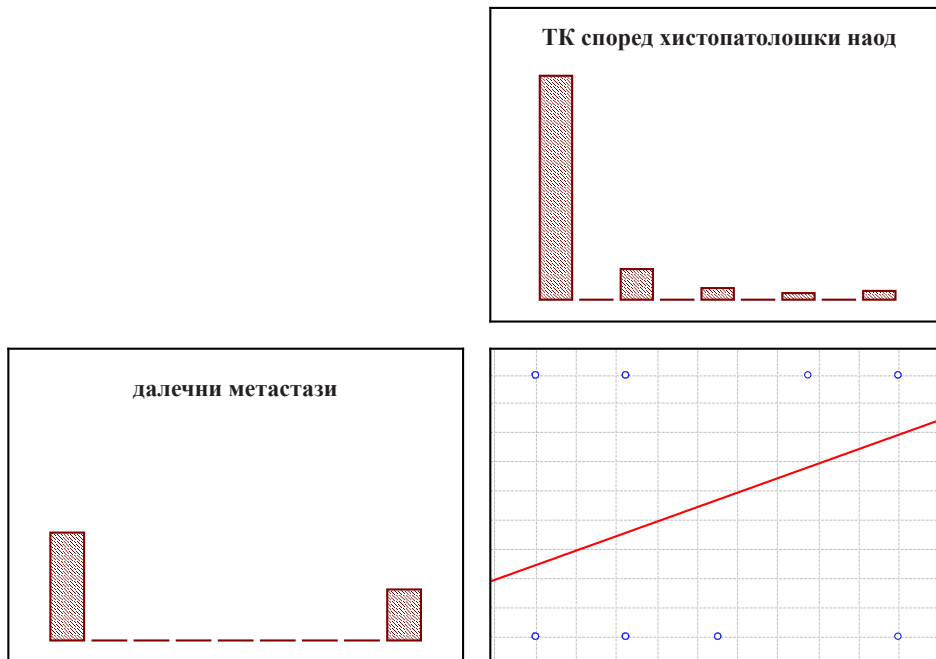


График 34. Корелација помеѓу присуство на далечни метастази и хистопатолошки типови на ТК

#### 7.4.5.2 Анализа на корелацијата на присуство на далечни метастази со вкупна доза на радиојодна терапија

Анализирана е поврзаноста помеѓу постоењето на далечни метастази и вкупна доза на радиојодна терапија. Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна позитивна слаба корелација за Spearman Rank Order Correlation:  $R=0,231$ ;  $p<0,05$  (График 35). Постоењето на далечни метастази сигнификантно ја заголемува и вкупната доза на радиојодна терапија.

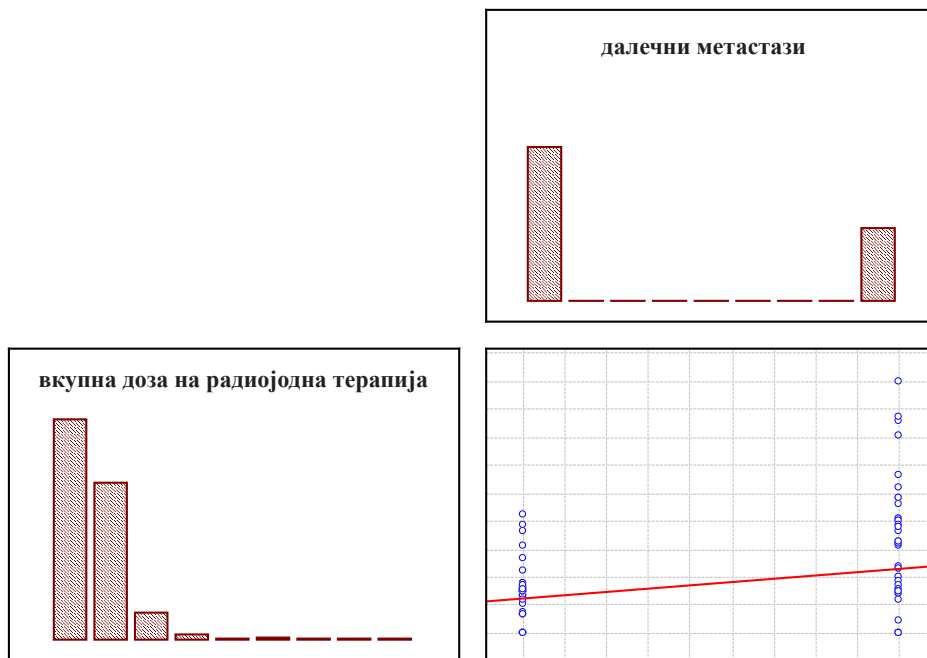
Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,231$ ;  $p<0,05$ 

График 35. Корелација помеѓу присуство на далечни метастази и вкупна доза на радиојодна терапија

#### 7.4.5.3 Предиктивна улога на одредени параметри за далечни метастази

Предиктивната улога на одредени параметри во однос на постоење на далечни метастази кај пациенти со ТК е тестирана со униваријантна логистичка регресиона анализа.

Испитувани беа параметрите како: возраст  $\leq 45$  и  $> 45$  години, пол, димензии на тумор при иницијален US преглед, ехогеност на јазли, фамилијарна анамнеза, хормонален статус и хистопатолошки тип. Резултатите од униваријантната логистичка регресиона анализа на предиктивната улога на селектирани параметри во однос на далечни метастази, како сигнификантни ( $p<0,05$ ), ги посочи параметрите: димензија на тумор на ехо при иницијален преглед и дијагноза на ТК од хистопатолошки наод.

**Димензија на тумор на ехо** – Димензијата на тумор од 16 - 50mm во однос на тумор  $<15\text{mm}$  ( $p<0,05$ ), сигнификантно ја зголемува веројатноста за далечни метастази за 6,154 [ $p=0,004$ , 95% CI=1,762-21,489] пати. Димензијата на тумор  $>51\text{mm}$  во однос на тумор  $<15\text{mm}$  ( $p<0,05$ ), сигнификантно ја зголемува веројатноста за далечни метастази за 15,00 [ $p=0,0001$ , 95% CI=3,310-67,978] пати. Мултицентричен тумор во однос на тумор  $<15\text{mm}$  ( $p<0,05$ ), сигнификантно ја зголемува веројатноста за далечни метастази за 7,401 [ $p=0,005$ , 95% CI=1,817-30,190] пати.

**Хистопатолошки тип на ТК** - Ca folliculare во однос на Ca papillare, ( $p<0,05$ ), сигнификантно ја зголемува веројатноста за далечни метастази за 2,568 [ $p=0,018$ , 95% CI=1,176-5,608] пати. Ca anaplasticum во однос на Ca papillare, ( $p<0,05$ ), сигнификантно ја зголемува веројатноста за далечни метастази за 13,696 [ $p=0,018$ , 95% CI=1,558-120,361] пати.

**Табела 34.** Униваријантна логистичка регресиона анализа на предиктивната улога на одредени параметри во однос на постоење на далечни метастази

Варијабла	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
<b>пол – референтна категорија/ машки</b>								
Женски	(0,655)	0,349	3,516	1	0,061	0,520	0,262	1,030
<b>возраст - референтна категорија/ ≤45 години</b>								
>45 години	(0,018)	0,291	0,004	1	0,951	0,982	0,555	1,738
<b>димензии на тумор на ехо/ &lt; 15mm</b>								
16-50 mm	1,817	0,638	8,111	1	0,004*	6,154	1,762	21,489
>51 mm	2,708	0,771	12,337	1	0,000*	15,000	3,310	67,978
Мултицентричен	2,002	0,717	7,803	1	0,005*	7,407	1,817	30,190
<b>ехогеност на јазли – референтна категорија/ хиперехогеност</b>								
Анехоген	(19,006)	14210,361	0,000	1	0,999	0,000	0,000	.
Хипоехогеност	1,759	1,092	2,593	1	0,107	5,806	0,682	49,406
Изоехогеност	2,197	1,269	2,997	1	0,083	9,000	0,748	108,310
Нехомоген	1,099	1,089	1,018	1	0,313	3,000	0,355	25,339
<b>фамилијарна анамнеза – референтна категорија/ не</b>								
Да	(0,376)	0,375	1,003	1	0,316	0,687	0,329	1,433
<b>хормонален статус – референтна категорија/ еутироидна</b>								
Хипотироидна	(20,321)	40192,970	0,000	1	1,000	0,000	0,000	.
Хипертироидна	0,323	0,657	0,241	1	0,623	1,381	0,381	5,009
субк.хипертироидна	0,372	0,757	0,241	1	0,623	1,450	0,329	6,390
субк. хипотироидна	(0,322)	0,687	0,219	1	0,640	0,725	0,188	2,789
<b>хистопатолошки тип на ТК-референтна категорија/ Ca papillare</b>								
Ca folliculare	0,943	0,399	5,600	1	0,018*	2,568	1,176	5,608
Ca medullare	(20,195)	17974,843	0,000	1	0,999	0,000	0,000	.
други поретки типови	22,211	40192,970	0,000	1	1,000	44,644	0,000	.
Ca anaplasticum	2,617	1,109	5,570	1	0,018*	13,696	1,558	120,361

Зависна варијабла – далечни метастази

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Сите параметри (причини) кои со униваријантната логистичка регресиона анализа се потврдија како сигнификантни предиктори во однос на постоење на далечни метастази беа ставени во методот на мултипла логистичка регресиона анализа (Табела 35). Според резултатите од мултиплата логистичка регресиона анализа, ( $p < 0,05$ ), како независен предиктор за далечни метастази мултиплата логистичка регресија ги потврди димензиите на туморот (16-50 mm, >51 mm и мултицентричен) во однос на тумор <15mm и хистопатолошкиот тип на Ca anaplasticum во однос на Ca papillare (Табела 35).

**Табела 35.** Мултипла логистичка регресиона анализа на предиктивната улога на одредени параметри во однос на постоење на далечни метастази

Варијабла	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
<b>димензии на тумор на ехо/ &lt; 15mm</b>								
16-50 mm	1,492	0,650	5,268	1	0,022*	4,447	1,244	15,905
>51 mm	2,637	0,802	10,817	1	0,001*	13,966	2,902	67,210
мултицентричен	1,984	0,718	7,626	1	0,006*	7,271	1,779	29,723
<b>хистопатолошки тип на ТК-референтна категорија/ Ca papillare</b>								
Ca folliculare	0,527	0,503	1,098	1	0,295	1,694	0,632	4,544
Ca medullare	(20,269)	19039,427	0,000	1	0,999	0,000	0,000	.
други поретки типови	22,211	40192,970	0,000	1	1,000	44,644	0,000	.
Ca anaplasticum	2,729	1,127	5,865	1	0,015*	15,310	1,682	139,324

Зависна варијабла – далечни метастази

\* сигнификантно за  $p < 0,05$ 

#### 7.4.6 Предиктивна улога на одредени параметри за вкупна доза на радиојодни терапии

Во рамките на истражувањето, анализирана е предиктивната улога на одредени параметри за вкупната доза на радиојодна терапија (mCi) со користење на униваријантна линеарна регресија. Испитувани беа параметрите како: возраст  $\leq 45$  и  $> 45$  години, пол, димензии на тумор на ехо при иницијален преглед, ехогеност на јазли, фамилијарна анамнеза, хормонален статус, и хистопатолошки тип. Резултатите од униваријантната линеарна регресиона анализа за предиктивната улога на селектирани параметри во однос на вкупната доза на радиојодна терапија, како сигнификантни ( $p < 0,05$ ), ги посочи параметрите: пол, возраст  $\leq 45$  и  $> 45$  години, димензии на туморот при иницијален US преглед и хистопатолошки тип.

Полот како независен предиктор, ( $p < 0,05$ ), сигнификантно влијае на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија во 13,5% ( $R^2 = 0,135$ ) (Табела 36).

**Табела 36.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и пол

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
	(Constant)	36,501	19,217				1,899
Пол	28,528	10,515	0,135	2,713	0,007*	7,857	49,200

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Возраста како независен предиктор ( $p < 0,05$ ), сигнификантно влијае на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија во 1,8% ( $R^2 = 0,018$ ) (Табела 37).

**Табела 37.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и возраст

**R=0,119      R<sup>2</sup>=0,014      F=5,677    df=1    p=0,018**

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	119,684	14,283		8,380	0,000	91,606	147,763
Возраст	(20,905)	8,774	(0,119)	(2,383)	0,018*	(38,154)	(3,656)

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Димензиите на туморот како независен предиктор ( $p < 0,05$ ), сигнификантно влијае на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија во 11,4% ( $R^2 = 0,114$ ) (Табела 38).

**Табела 38.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и димензии на тумор на US

**R=0,114      R<sup>2</sup>=0,013      F=4,271    df=1    p=0,040**

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	63,861	12,103		5,277	0,000	40,053	87,670
димензија на ехо	10,477	5,070	0,114	2,067	0,040*	0,503	20,450

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Ехогеност на јазолот како независен предиктор ( $p > 0,05$ ), нема сигнификантно влијание на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија (Табела 39).

**Табела 39.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и ехогеност на јазол

**R=0,022      R<sup>2</sup>=0,000      F=0,132    df=1    p=0,717**

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	95,686	17,856		5,359	0,000	60,537	130,836
ехоеност на јазол	(1,617)	4,454	(0,022)	(,363)	0,717	(10,384)	7,150

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Фамилијарната анамнеза како независен предиктор ( $p > 0,05$ ), нема сигнификантно влијание на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија (Табела 40).

**Табела 40.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и ехогеност на јазол

**R=0,003      R<sup>2</sup>=0,000      F=0,004    df=1    p=0,950**

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	88,224	5,050		17,471	0,000	78,295	98,153
фамилијарна анамнеза	0,671	10,783	0,003	0,062	0,950	(20,530)	21,872

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Хормоналниот статус како независен предиктор ( $p > 0,05$ ), нема сигнификантно влијание на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија (Табела 41).

**Табела 41.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и хормонален статус

**R=0,049      R<sup>2</sup>=0,002      F=0,762    df=1    p=0,383**

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	82,622	8,095		10,206	0,000	66,696	98,548
Хормонален статус	3,632	4,162	0,049	0,873	0,383	(4,555)	11,820

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Хистопатолошкиот тип на ТК како независен предиктор ( $p < 0,05$ ), сигнификантно влијае на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија во 15,4% ( $R^2=0,154$ ) (Табела 42).

**Табела 42.** Линеарна регресиона анализа на вкупната доза на радиојодна терапија и хистопатолошки тип

**R=0,154    R<sup>2</sup>=0,024    F=8,869 df=1    p=0,003**

Model Enter	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.	95% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	100,129	5,087		19,682	0,000	90,125	110,134
Хистопатолошки тип	(0,935)	0,314	(0,154)	(2,978)	0,003*	(1,552)	(0,317)

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$ 

Од сите анализирани параметри, четири (пол, возраст, димензии на туморот на при иницијален US преглед и хистопатолошки тип) се потврдија како сигнификантни за вкупната доза на радиојодна терапија (Табела 36 – Табела 42). Сите независни значајни предиктори сигнификантно влијаат на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија [ $F(4,301) = 4,111$ ] во 22,8% ( $R^2=0,228$ ). Тие беа ставени во метод на мултипла регресиона анализа за утврдување на ефектот на независните значајни предиктори.

Мултиплата регресиона анализа, за  $p < 0,05$ , потврди два независни значајни предиктори за вкупна доза на радиојодна терапија и тоа димензија на тумор на ехо и хистопатолошки тип на ТК (Табела 43). Димензиите на туморот и хистопатолошкиот тип на ТК, како независни значајни предиктори, заедно влијаат на варијабилитетот на вкупна доза на радиојодна терапија со 19,8% ( $R^2=0,198$ ). Само на хистопатолошкиот тип на ТК како сигнификантен независен предиктор [ $F(1,304) = 6,195$ ] се должи 14,1% ( $R^2=0,141$ ) од варијабилитетот на вкупната радиојодна терапија. Зголемување на малигнитетот на типот на ТК за едно ниво ја зголемува вкупната доза на радиојодна терапија за 0,785 mCi. Зголемување на димензијата на туморот од една група ја зголемува вкупната радиојодна терапија за 15,038 mCi.

**Табела 43.** Мултипла регресиона анализа на предиктори за вкупна доза на радиојодна терапија

Model Enter	R=0,228		R <sup>2</sup> =0,052		F=4,111		df=5		p=0,003	
	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients		T	Sig.	95% Confidence Interval for B			
	B	Std. Error	Beta	Lower Bound			Upper Bound			
(Constant)	35,663	31,008			1,150	0,251	(25,357)	96,683		
хистопатолошки тип	(0,785)	0,372	(0,120)		(2,111)	0,036*	(1,516)	(0,053)		
Пол	22,401	12,238	0,106		1,830	0,068	(1,682)	46,484		
Возраст	(7,416)	9,685	(0,043)		(0,766)	0,444	(26,475)	11,644		
димензии на ехо	15,038	5,296	0,163		2,840	0,005*	4,616	25,459		

Зависна варијабла: вкупна доза на радиојодна терапија

\* сигнификантно за  $p < 0,05$ 

#### 7.4.7 Анализа според време на следење на пациентите

##### 7.4.7.1 Анализа според време на следење и хистопатолошки типови на ТК

Во рамките на истражувањето направена е анализа на примерокот според должина на следење во месеци и хистопатолошки типови на ТК (Табела 44 и График 36). Просечната должина на следење на испитаниците во истражувањето изнесува  $51,3 \pm 51,4$  месеци со минимално време од 1 и максимално време од 228 месеци. Во групата на Са anaplasticum просечната должина на следење изнесува  $11 \pm 14,6$  месеци, со минимална односно максимална должина од 1 vs 36 месеци и 50% испитаници со време на следење подолго од 4 месеци. Во групата на Са folliculare просечната должина на следење изнесува  $58,3 \pm 55,4$  месеци, со минимална односно максимална должина од 2 vs 192 месеци и 50% испитаници следени подолго од 37,5 месеци. Во групата на Са papillare просечната должина на следење изнесува  $52,9 \pm 51,4$  месеци, со минимална односно максимална должина од 1 vs 228 месеци и 50% испитаници со подолго време на следење од 36 месеци. Просечната должина на следење во групата со Са medullare изнесува  $35,2 \pm 48,1$  месец, со минимална односно максимална должина од 3 vs 192 месеци и 50% испитаници следени подолго од 18 месеци. Кај другите поретки тумори, просечната должина на следење изнесува на испитаниците изнесува  $7 \pm 7,1$  месец, со минимална односно максимална должина од 2 vs 12 месеци и 50% испитаници следени пократко од 32 месеци.

Тестираната разлика укажа на сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) меѓу просечната должина на следење на пациентите меѓу петте групи (Kruskal-Wallis H test: Chi-square=9,911; df=4  $p=0,042$ ).



Табела 44. Анализа на ТК според време на следење и хистопатолошки типови

Хистопатолошки типови на ТК	Просек (Mean)	Број (N)	Стандардна девијација Std. Deviation	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Ca anaplasticum	11,0	9	14,6	1	36	1	4	12
Ca folliculare	58,3	36	55,4	2	192	12	37,5	81,5
Ca papillare	52,9	273	51,4	1	228	12	36	84
Ca medullare	35,2	15	48,1	3	192	12	18	44
други поретки типови	7,0	2	7,1	2	12	2	7	12
Вкупно	51,3	335	51,4	1	228	12	32	84

Kruskal-Wallis H test: Chi-square= 9,911; df=4 p=0,042

\* сигнификантно за p&lt;0,05

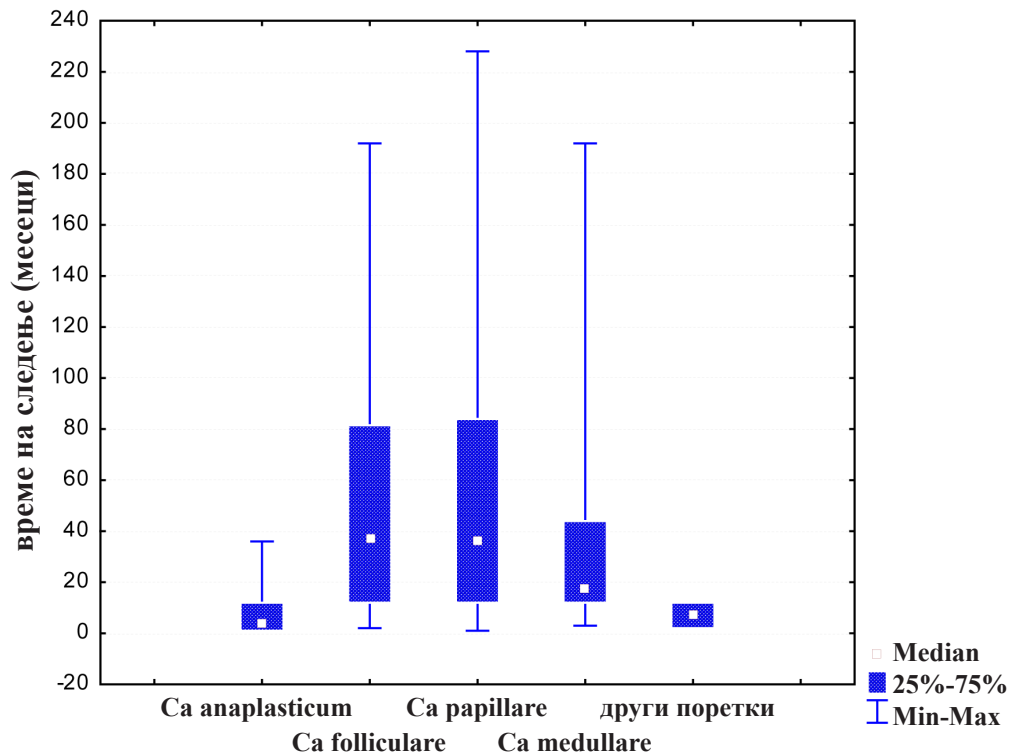


График 36. Анализа според време на следење и хистопатолошки типови на ТК

Направена е дополнителна анализа меѓу хистопатолошките типови на ТК во однос на просечното време на следење (Табела 45). Согледана е сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) во просечното време на следење помеѓу групите: а) Ca anaplasticum / Ca folliculare (Mann Whitney U test:  $Z = -3,263$   $p = 0,001$ ) во прилог на подолго време на следење во групата со Ca folliculare; б) Ca anaplasticum / Ca papillare (Mann Whitney U test:  $Z = 3,402$   $p = 0,0007$ ) во прилог на групата со Ca papillare; и в) Ca anaplasticum / Ca medullare (Mann Whitney U test:  $Z = -2,236$   $p = 0,025$ ), во прилог на групата со Ca medullare.

**Табела 45.** Споредба на хистопатолошки типови на ТК според време на следење

<i>Mann-Whitney U test</i>	А/Б	А/В	А/Г	А/Д	Б/В	Б/Г	Б/Д	В/Г	В/Д	Г/Д
Z	-3,263	3,402	-2,236	-0,236	0,349	1,219	1,699	1,461	1,781	1,639
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,001*	0,0007*	0,025*	0,814	0,727	0,222	0,089	0,144	0,075	0,101

Варијабли: А=Ca anaplasticum, Б=Ca folliculare, В=Ca papillare, Г=Ca medullare и Д=други поретки типови  
\* сигнификантно за  $p < 0,05$

#### 7.4.7.2 Анализа според време на следење и вкупна доза на радиојодна терапија

Во рамките на истражувањето анализирана е поврзаноста помеѓу времето на следење во месеци и вкупната доза на радиојодна терапија. Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна позитивна слаба корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,203$ ;  $p < 0,05$  (График 37). Со зголемување на времето на следење сигнификантно се зголемува и вкупната доза на радиојодна терапија.

Графичкиот приказ на корелација помеѓу време на следење и вкупна доза на радиојодна терапија е дадена на график 37, подолу во текстот.

**Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,203$   $p < 0,05$**

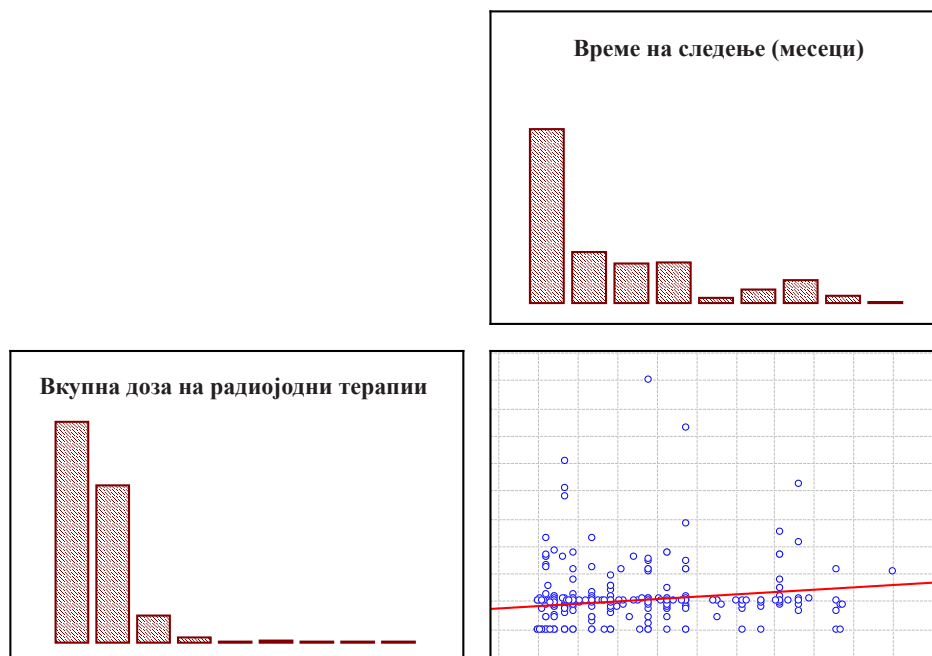


График 37. Корелација помеѓу време на следење и вкупна доза на радиојодна терапија

7.4.8 Анализа според должината на периодот од операција до аблација со  $^{131}\text{I}$ 

Во рамките на истражувањето направена е анализа на периодот од операција до аблација со  $^{131}\text{I}$  во однос на US наодот на последниот преглед. Периодот од операција до аблација со  $^{131}\text{I}$  во месеци бил со просечно времетраење од  $2,2 \pm 4,6$  месеци со минимален период од 1 и максимален период од 72 месеци.

7.4.8.1 Анализа според период од операција до аблација со  $^{131}\text{I}$  и наод на последно ехо

Анализирана е поврзаноста помеѓу периодот од операција до аблација со  $^{131}\text{I}$  и наод на последно ехо дефинирано како: а) нема лгл; б) минимално остаточно ткиво; в) зголемена /инооперабилна; г) локален рецидив; г) зголемени лгл.

Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна негативна јака корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,431$ ;  $p<0,05$  (График 38).

**Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,431$ ;  $p<0,05$**



График 38. Корелација помеѓу периодот од операција до аблација со  $^{131}\text{I}$  и наод на последно ехо

## 7.4.9 Анализа според наод од тенкоиглена биопсија – ФНАБ

Направена е анализа на резултатите од ФНАБ според хистопатолошки типови на ТК со цел да се утврди точноста на резултатите добиени со оваа метода. Според табела 46, согледано е дека ФНАБ дало најголем број на точни резултати во групата со Ca papillare, и тоа 125 (51%) од случаите, следено со групите Ca medullare, во коишто точен наод имале 5 (38,5%) и Ca folliculare со точен наод кај 12 (32,4%) од случаите. Најмалку точни наоди има кај други поретки типови, и тоа 7 (87,5%). Утврдена е сигнификантна асоцијација ( $p < 0,05$ ) помеѓу хистопатолошки типови на ТК на која ѝ припаѓа пациентот и резултатот од ФНАБ (Pearson Chi-square: 21,0348,  $df=8$ ,  $p=0,0071$ ).

**Табела 46.** Анализа на асоцираноста на ФНАБ со различните хистопатолошки типови на ТК

Хистопатолошки типови на ТК		ФНАБ			Вкупно
		<sup>1</sup> I	<sup>2</sup> III и IV	<sup>3</sup> V	
Ca anaplasticum	Број	1	2	8	11
	%	9,09%	18,18%	72,73%	
Ca folliculare	Број	18	7	12	37
	%	48,65%	18,92%	32,43%	
Ca papillare	Број	57	63	125	245
	%	23,27%	25,71%	51,02%	
Ca medullare	Број	6	2	5	13
	%	46,15%	15,38%	38,46%	
други поретки типови	Број	0	1	7	8
	%	0%	12,50%	87,50%	
Вкупно	Број	82	75	157	314
	%	26,11%	23,89%	50%	100%

<sup>1</sup>I=бенигна промена; <sup>2</sup>III и IV=неодредено; <sup>3</sup>V=малигно  
Pearson Chi-square: 21,0348,  $df=8$ ,  $p=0,0071$ \*

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Анализата прикажана на табела 47 укажа дека за утврдување на малигнитет, ФНАБ има сензитивност = 65,7% CI (0,59% - 0,71%) и специфичност = 50% CI (0,43% - 0,56%). За секој поединечен резултат на ФНАБ, веројатноста тој да биде вистински позитивен за малигном на тироидна жлезда (позитивна предиктивна вредност - PPV) = 56,9%. За секој поединечен резултат на ФНАБ, веројатноста тој да биде вистински негативен (негативна предиктивна вредност - NPV) = 59,2%.

Табела 47. Предиктивна улога на ФНАБ за карцином на тироидна жлезда

Предиктивност на ФНАБ	Процентна вредност	95% Интервал на доверба	
		Долна граница	Горна граница
Сензитивност	0,656904	0,592517	0,716156
Специфичност	0,5	0,434917	0,565083
За секој конкретен резултат од тестот, веројатноста дека ќе биде:			
Позитивен	0,578616	0,532795	0,623152
Негативен	0,421384	0,376848	0,467205
За секој конкретен резултат од тестот, веројатноста дека ќе биде:			
Вистински позитивен – PPV	0,568841	0,508049	0,627684
Лажно позитивен наод	0,431159	0,372316	0,491951
За секој конкретен резултат од тестот, веројатноста дека ќе биде:			
Вистински негативен – NPV	0,59204	0,520488	0,660015
Лажно негативен	0,40796	0,339985	0,479512

## 7.4.10 Анализа според резултат од следење

За анализа на состојбата со следење на испитаниците од примерокот обработени се три опции и тоа: а) редовни контроли; б) изгубени од следење и в) егзитирани. Од вкупно 422 (100%) испитаници во примерокот податок за исходот од следење имало за 402 (95,3%) случаи. Според примерокот кој се однесува исклучиво на испитаници со ТК, анализата укажува дека најголемиот дел од нив биле со редовни контроли и тоа 266 (66,17%). Само мал дел и тоа 21 (5,2%) егзитирале, додека 115 (28,6%) биле изгубени од следење.

Табеларниот и графичкиот приказ на исходот од следење на испитаниците од примерокот е даден во табела 48 и график 39.

Табела 48. Дескриптивна анализа на ТК според резултат од следење на испитаниците

Следење	Дистрибуција	
	Број	%
егзитирани од разни причини	21	5,22%
редовни контроли	266	66,17%
изгубени од следење	115	28,61%
<b>Вкупно</b>	<b>402</b>	<b>100%</b>

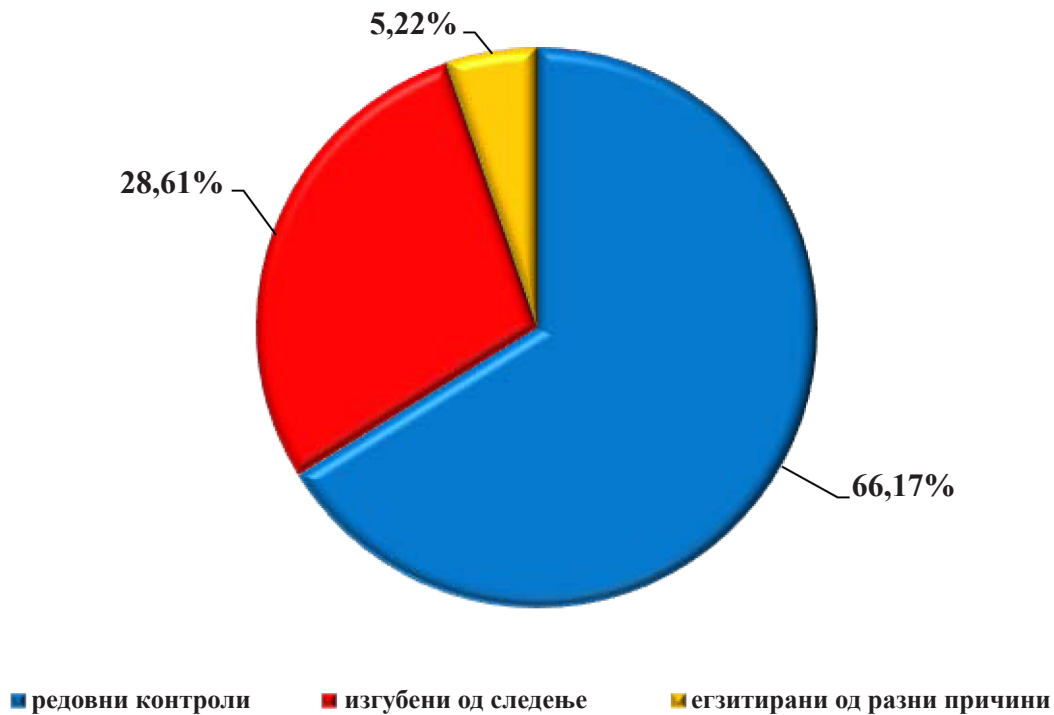


График 39. Дескриптивна анализа на ТК според резултат од следење на испитаниците

#### 7.4.11 Анализа на време на преживување

Во рамките на истражувањето направена е анализа на преживување на целиот примерок на испитаници со ТК според четирите групи на хистопатолошки типови на ТК (1) Ca anaplasticum; (2) Ca folliculare; (3) Ca papillare; (4) Ca medullare и (5) други поретки типови. Според направената анализа, вкупниот број на валидни опсервации изнесува 337, од кои нецензориран се 15 (4,45%) а цензориран се 322 (95,5%) (График 40).

Анализата на просечното време на вкупното преживување по групи од типови ТК, според хистопатолошки наод укажа дека: а) 98% од пациентите со Ca papillare преживуваат над 200 месеци; б) 59% од пациентите со Ca folliculare преживуваат над 160 месеци; в) 94% од пациентите со Ca medullare преживуваат 150 месеци; г) 67% од пациентите со други поретки типови преживуваат над 10 месеци и д) 58% од пациентите со Ca anaplasticum преживуваат над 25 месеци (График 40).

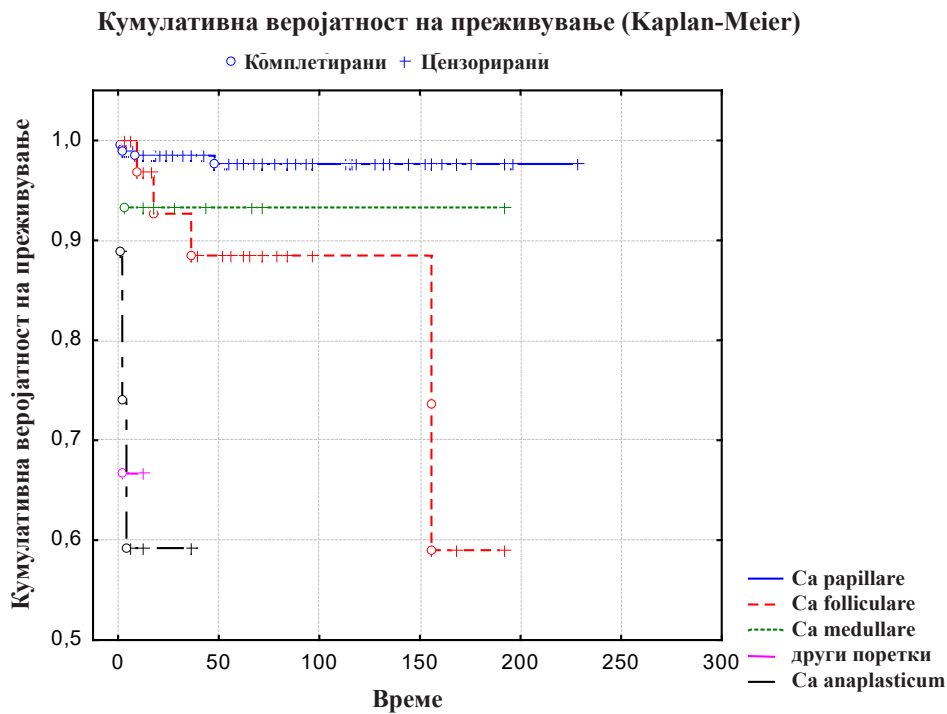


График 40. Приказ на вкупно време (overall survival) на преживување на пациентите со ТК според хистопатолошки типови на ТК

Процентата за просечното време на вкупното преживување на пациентите од примерокот со ТК изнесува 212,99 [95% CI (204,6 – 221,4)] месеци (Табела 49). Направена е проценка на вкупното време на преживување по групи на типови на хистопатолошки наод при што е согледано дека изнесува кај: а) Ca papillare – 223,07 [95% CI (218,6 – 227,5)] месеци; б) Ca folliculare – 161 [95% CI (138,8 – 184,7)] месеци; в) Ca medullare – 179 [95% CI (155,5 – 203,3)] месеци; г) други поретки типови 8,7 [95% CI (3,3 – 14,0)] месеци; и Ca anaplasticum 22,3 [95% CI (10,2 – 34,4)] месеци.

Табела 49. Дескриптивна анализа на процена на просечно време на вкупно преживување по групи на типови на хистопатолошки наод

Хистопатолошки типови на ТК	Mean			
	Проценка (месеци)	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Ca papillare	223,068	2,255	218,648	227,488
Ca folliculare	161,768	11,713	138,810	184,726
Ca medullare	179,400	12,173	155,541	203,259
други поретки типови	8,667	2,722	3,332	14,001
Ca anaplasticum	22,333	6,183	10,214	34,453
Вкупно	212,993	4,267	204,630	221,356

Споредбата помеѓу просечното време на преживување меѓу различните типови на ТК укажа на сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) (Log Rank - Mantel-Cox: Chi-Square = 62,245;  $df=4$ ;  $p < 0,0001$ ).

#### 7.4.11.1 Униваријантен Cox Proportional model – влијание на одредени параметри на времето на преживување

Во рамките на анализата на преживување на пациентите со ТК, аплициран е униваријантен Cox Proportional model за утврдување на влијанието на одредени параметри врз исходот од болеста. Анализирани се 7 параметри и тоа: пол, возраст, проширеност во лимфни јазли на прв преглед, број на радиојодни терапии, вкупна доза на радиојодни терапии, период од аблација до операција и хистопатолошки наод (Табела 50).

**Табела 50.** Униваријантен Cox Proportional model на време на преживување според одредени параметри

Варијабла	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
<b>пол – референтна категорија/ машки</b>								
Женски	(0,234)	0,567	0,170	1	0,680	0,791	0,260	2,406
<b>возраст - референтна категорија/ ≤45 години</b>								
>45 години	2,132	0,751	8,048	1	0,005*	8,429	1,933	36,759
<b>лимфни јазли на прв преглед - референтна категорија/ нема</b>								
Има	1,243	0,474	6,870	1	0,009*	3,467	1,368	8,787
<b>број на радиојодни терапии</b>								
Број	0,257	0,063	16,563	1	0,000*	1,293	1,142	1,463
<b>вкупна доза на радиојодна терапија</b>								
вкупна доза	(0,001)	0,003	0,165	1	0,685	0,999	0,993	1,005
<b>период од аблација до операција</b>								
Месеци	(0,067)	0,103	0,429	1	0,513	0,935	0,765	1,143
<b>хистопатолошки тип на ТК - референтна категорија/ Ca papillare</b>								
Ca folliculare	1,866	,638	8,557	1	0,003*	6,462	1,851	22,557
Ca medullare	1,418	1,097	1,669	1	0,196	4,127	0,480	35,458
други поретки типови	3,720	1,128	10,885	1	0,001*	41,267	4,527	376,172
Ca anaplasticum	3,694	0,755	23,964	1	0,000*	40,224	9,164	176,559

Зависна варијабла – жив/умрен

\* сигнификантно за  $p < 0,05$



Според табела 50, од седумте анализирани параметри, како сигнификантни предиктори за времето на преживување, Коксовиот соодносен модел издвои четири: возраст, проширеност во лимфни јазли на прв преглед, број на радиојодни терапии, и хистопатолошки наод.

**Возраст** – возраста  $> 45$  години во однос на онаа  $\leq 45$  години, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 42,9% секој месец (Cox Proportional model: Exp (B) (HR) = 8,429 [ $p=0,005$ , 95% CI = 1,933 - 36,759]).

**Проширеност во лимфни јазли на прв преглед** – постоењето во однос на отсуство на проширеност во лимфни јазли на прв преглед, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 46,7% секој месец (Cox Proportional model: Exp (B) (HR) = 3,467 [ $p=0,009$ , 95% CI = 1,368 - 8,787]).

**Број на радиојодни терапии** – растењето на бројот на радиојодни терапии, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 29,3% секој месец (Cox Proportional model: Exp (B) (HR) = 1,293 [ $p=0,000$ , 95% CI = 1,142 - 1,463]).

**Хистопатолошки наод** – Ca folliculare во однос на Ca papillare, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 46,2% секој месец (Cox Proportional model: Exp (B) (HR) = 6,462 [ $p=0,003$ , 95% CI=1,851 - 22,557]). Други поретки типови во однос на Ca papillare, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 26,7% секој месец (Cox Proportional model: Exp (B) (HR) = 41,267 [ $p=0,003$ , 95% CI = 4,527 - 376,172]). Ca anaplasticum во однос на Ca papillare, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 22,4% секој месец (Cox Proportional model: Exp (B) (HR) =40,224 [ $p=0,000$ , 95% CI=9,164 – 176,559]).

## **ВТОР ДЕЛ ОД ИСТРАЖУВАЊЕТО**

## 7.5 Експресија на транскрипти за тумор специфични гени

Вториот дел од истражувањето се однесува на одредување на експресија на транскрипти за тумор специфични гени, со детекција на *mRNK-Tg* и *mRNK-TSHR*. Опфатени се вкупно четири групи на пациенти, од кои 3 со ТК и една контролна со здрави индивидуи. Сите четири групи се анализирани во однос на повеќе параметри.

### 7.5.1 Дескрипција на примероци за експресија на транскрипти за тумор специфични гени

Првата група (група 1) ја сочинуваат 22 пациенти со ТК кои имаат некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија (Табела 51а).

Табела 51а. Приказ на податоците од група 1

Број на пациент	$\Delta$ CT (TSHR-GAPDH)	$\Delta$ CT (TG-GAPDH)	Тиреоглобулин	TSH	FT4	Вкупна радиојодна терапија	Стадиум на болеста на иницијален преглед
1	10,99	10,38	16,1	0,06	18,5	0	III
2	12,26	10,26	> 300	2,22	21,4	300	IVA
14	13,14	8,87	3,51	<0,07	14	432,1	n*
18	undet	undet	7,73	<0,07	23,3	130	I
26	9,43	13,93	254	<0,07	26	804	n
28	8,57	4,91	12,9	<0,07	28	263	III
31	9,58	15	0,38	<0,07	31	100	I
33	10,41	7,44	3,3	0,12	33	252	I
34	12,69	-0,8	0,19	1,2	34	100	I
46	10,61	8,62	231	1,2	46	260	n
50	12,38	9,40	>300	0,89	9,42	0	IVC
15	12,59	8,35	0,54	<0,07	15	286,7	n
16	11,67	8,57	6,48	26,7	3,86	100	III
51	7,47	9,42	117	0,036	22	241	IV
52	5,35	-1,41	>300	<0,07	22,3	283,5	II
53	9,17	7,79	>300	0,074	16,6	250	n
54	9,56	7,55	43,7	5,06	14,7	0	IVA
55	6,68	-0,62	>300	0,08	10,9	229	IVC
56	4,66	5,53	84	3,23	16,3	0	IVA
57	5,53	-0,96	>300	0,198	18,5	0	I
58	undet	2,74	>300	7,73	73	0	IVC
59	undet	-5,5	>300	<0,07	19,2	100	IVC

n\* - нема податок за стадиумот на болеста на иницијален преглед

Втората група (група 2) е составена од 6 пациенти со ТК. Кај овие испитаници има некомплетен биохемиски одговор на терапија – суспектен локален рецидив или суспектни метастатски промени (Табела 51б).

**Табела 51б.** Приказ на податоците од група 2

Број на пациент	ΔСТ (TSHR-GAPDH)	ΔСТ (TG-GAPDH)	Тиреоглобулин	TSH	FT4	Вкупна радиојодна терапија	Стадиум на болеста на иницијален преглед
4	10,77	8,55	<0,2	<0,07	22,4	50	I
5	12,56	10,18	0,5	<0,07	19,9	102	IVA
20	5,63	7,23	0,26	<0,07	20,5	0	I
22	10,31	7,39	0,43	<0,07	30,5	105	I
23	4,15	10,61	2,5	0,37	16,5	0	I
30	9,94	10,47	0,4	<0,07	22,4	103	n

Третата група (група 3) се пациенти со дијагностициран ТК и со комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија. Оваа група ја сочинуваат 12 пациенти (Табела 51в).

**Табела 51в.** Приказ на група 3

Број на пациент	ΔСТ (TSHR-GAPDH)	ΔСТ (TG-GAPDH)	Тиреоглобулин	TSH	FT4	Вкупна радиојодна терапија	Стадиум на болеста на иницијален преглед
3	11,21	10,03	<0,2	0,08	20,5	100	IVA
11	17,21	8,81	<0,2	<0,07	17	102	I
12	11,89	7,82	<0,2	<0,07	23,9	94	n
13	11,015	8,14	<0,2	<0,07	20,3	87,3	n
17	12,87	12,17	<0,2	0,85	18,7	100	I
19	11,20	6,01	<0,2	<0,07	20,3	100	I
21	10,93	9,62	<0,2	<0,07	16,7	0	n
24	10,60	15,46	<0,2	<0,07	25,2	243,8	III
27	12,37	7,07	<0,2	<0,07	19,6	113	I
32	12,22	10,85	<0,2	0,22	15,7	100	II
40	11,11	14,26	<0,2	0,8	24,2	100	I
25	11,91	undet	<0,2	<0,07	21,9	99,5	I

Четвртата група (група 4) ја сочинува примерок од 17 здрави испитаници (Табела 51г).

**Табела 51г.** Приказ на група 4 - примерокот на здрави пациенти

Број на испитаник	ΔСТ (TSHR-GAPDH)	ΔСТ (TG-GAPDH)	Тиреоглобулин	TSH	FT4
7	17,01	9,79	5,77	1,2	13,4
10	11,96	9,54	3,2	2	10,7
29	13,58	10,66	1,65	0,5	12
37	10,37	9,98	0,94	0,9	13,4
38	13,33	13,85	5,9	0,57	12,8
39	11,40	8,76	6,7	0,73	16,1
41	12,41	9,60	9,6	0,43	15,1
42	13,72	12,17	6,9	0,59	12
43	10,64	7,18	2,8	0,62	12,5
44	13,54	13,28	10,9	0,61	11,8
45	12,66	9,07	18,8	1	13,8
47	11,21	5,72	1,1	1,4	14
48	12,90	5,71	7,25	0,75	12,3
49	14,04	10,62	33,8	1,2	14,9
35	undet	8,87	9,85	1,6	16,6
36	12,06	undet	6,35	0,86	14,9
8	undet	10,14	4,57	1,09	14,9

### 7.5.1.1 Релативна квантификација на експресијата со употреба на $2^{-\Delta\Delta Ct}$

Со примена на методот  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , според Livak и сор. го пресметавме степенот на промена на експресијата на двата гени меѓу четирите групи, на тој начин што група 1 и група 2, а во кои ги влучивме пациентите со некомплетен структурен и/или биохемиски одговор, ги анализиравме во однос на група 3, која ја сочинуваа пациентите со комплетен одговор на терапијата и група 4, здравите лица [91]. Од праговниот циклус за *mRNK-TSHR*, праговниот циклус за *mRNK-Tg* и за контролниот референтен ген, ја добивме  $\Delta\Delta Ct$  вредноста за пресметка на  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  вредноста за изразување на степенот на промена во експресијата меѓу групите.

Со анализата утврдивме за 8,57 повисок степен на промена во експресијата на *mRNK-TSHR* кај група 1 пациенти споредено со група 4 на здрави контроли, за 5,37 повисок степен на промена во експресијата на група 1 пациенти споредено со група 3 пациенти со комплетен одговор, за 14,17 повисок степен на промена во експресијата кај група 2 пациенти во однос на група 4 (здравите лица) и група 2 имаа 8,88 повисок степен на експресија во однос на група 3.

Додека за *mRNK-Tg* утврдивме за 6,6 повисок степен на промена во експресијата кај група 1 пациенти споредено со група 4 на здрави контроли, за 8,34 повисок степен на промена во експресијата на група 1 пациенти споредено со група 3 пациенти со комплетен одговор, за 1,53 повисок степен на промена во експресијата кај група 2 пациенти во однос на група 4 (здравите лица) и група 2 имаа 1,93 повисок степен на експресија во однос на група 3 (Табела 52).

**Табела 52.** Степен на промена на експресијата меѓу групите на пациенти

Степен на промена	<i>mRNK-TSHR</i>	<i>mRNK-Tg</i>
$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{група1}) - \Delta Ct (\text{група4})$	-3.09904	-2.72137
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	<b>8.57</b>	<b>6.6</b>
$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{група1}) - \Delta Ct (\text{група3})$	-2.42523	-3.06057
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	<b>5.37</b>	<b>8.34</b>
$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{група2}) - \Delta Ct (\text{група4})$	-3.82478	-0.61184
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	<b>14.17</b>	<b>1.53</b>
$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{група2}) - \Delta Ct (\text{група3})$	-3.15097	-0.95104
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	<b>8.88</b>	<b>1.93</b>

### 7.5.1.2 Споредба на четири групи по вредноста $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$ за *TSHR* генот

Во рамките на истражувањето направена е меѓугрупна споредба (меѓу четирите групи) на просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (Табела 53 и График 40).

Табела 53. Четиригрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот

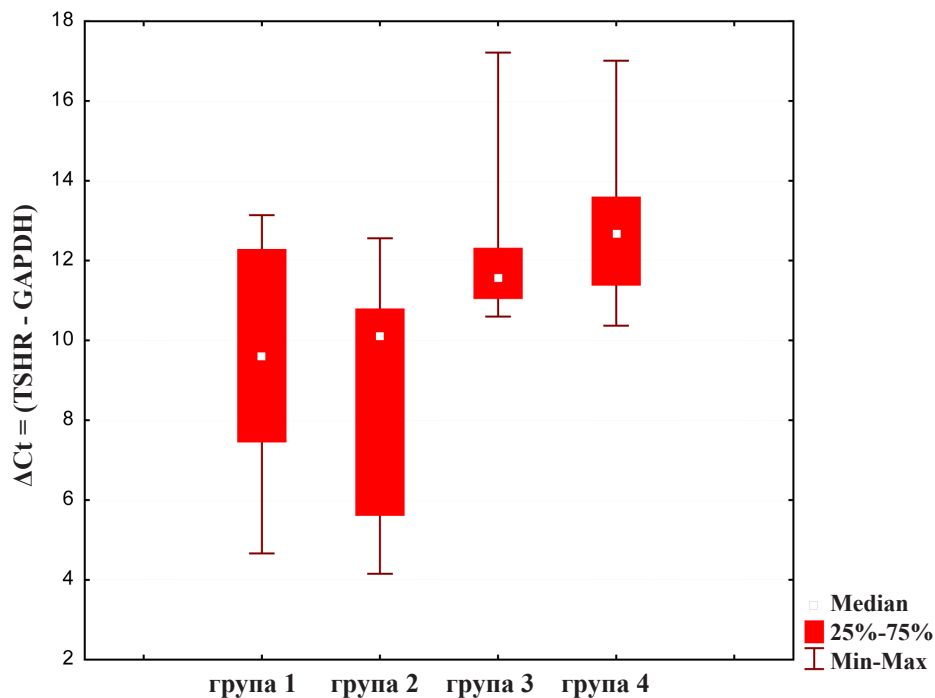
Групи	Просек (Mean)	Број (N)	Стандардна девијација Std. Deviation	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> (Median)	75 <sup>th</sup>
<sup>1</sup> група 1	9,62	19	2,66	4,66	13,13	7,47	9,58	12,26
<sup>2</sup> група 2	8,89	6	3,26	4,15	12,55	5,63	10,13	10,77
<sup>3</sup> група 3	12,04	12	1,76	10,59	17,21	11,06	11,55	12,29
<sup>4</sup> група 4	12,72	15	1,65	10,36	17,00	11,39	12,66	13,57
Вкупно	10,99	52	2,70	4,15	17,21	10,13	11,21	12,57

<sup>1</sup>некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија;  
<sup>2</sup>суспектен локален рецидив или метастатски  
<sup>3</sup>комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>4</sup>здрави испитаници

Kruskal-Wallis H test: Chi-square= 13,312; df=3; p=0,004

\* сигнификантно за p&lt;0,05

Највисока односно најниска просечна вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот имала група 3 (целосен одговор на терапија) т.е група 1 (некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија) и тоа за консеквентно  $12 \pm 1,8$  vs  $9,6 \pm 2,6$  со минимални вредности од 10,6 vs 4,7 и максимални вредности од 17,21 vs 13,1. Педесет проценти од испитаниците во овие групи имале вредности на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот од консеквентно над 11,5 vs 12,3. Тестираната разлика, за p<0,05, укажа на сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот меѓу четирите групи (Kruskal-Wallis H test: Chi-square=13,312; df=3 p=0,004).

График 40. Четири - групна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот

Направена е дополнителна интергрупна споредба во однос на просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (Табела 54). За  $p < 0,05$ , согледана е сигнификантна разлика помеѓу групите: а) група 1 / група 3 (Mann Whitney U test:  $Z = -2,231$   $p = 0,026$ ) во прилог на повисоки вредности во група 3; б) група 1 / група 4 (Mann Whitney U test:  $Z = -3,416$   $p = 0,0006$ ) во прилог на повисоки вредности во група 4; в) група 2 / група 3 (Mann Whitney U test:  $Z = -2,341$   $p = 0,019$ ) во прилог на повисоки вредности во група 3; и г) група 2 / група 4 (Mann Whitney U test:  $Z = -2,803$   $p = 0,005$ ) во прилог на повисоки вредности во група 4.

**Табела 54.** Меѓугрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот

Mann-Whitney U test	група1/ група2	група1/ група3	група1 /група4	група2/ група3	група2/ група4	група3/ група4
Z	0,382	-2,231	-3,416	-2,341	-2,803	-1,757
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,703	0,026*	0,0006*	0,019*	0,005*	0,079

<sup>3</sup>комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>4</sup>здрави испитаници  
<sup>1</sup>некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија;  
<sup>2</sup>суспектен локален рецидив или метастатски

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

### 7.5.1.3 Споредба на две групи по вредноста $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$ за *TSHR* генот

Во рамките на истражувањето направена е меѓугрупна споредба (помеѓу две групи) на просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (Табела 55 и График 41). За оваа цел, направено е спојување на анализирани сумирани вредности од група 1 и група 2 со група 3 и група 4.

**Табела 55.** Двегрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот

Групи	Просек (Mean)	Број (N)	Стандардна девијација Std. Deviation	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
<sup>1</sup> група 1 + <sup>2</sup> група 2	9,44	25	2,76	4,15	13,13	7,465	9,94	11,66
<sup>3</sup> група 3 + <sup>4</sup> група 4	12,42	27	1,70	10,36	17,21	11,20	12,05	13,33
<b>Вкупно</b>	10,99	52	2,70	4,15	17,21	10,12	11,21	12,57

<sup>1</sup>некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>2</sup>суспектен локален рецидив или метастатски  
<sup>3</sup>комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>4</sup>здрави испитаници

Mann Whitney U test:  $Z = -3,928$   $p = 0,00008$

\* сигнификантно за  $p < 0,05$



Во група 1 + група 2 во однос на група 3 + група 4 просечна вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот изнесува консеквентно  $9,4 \pm 2,8$  vs  $12,4 \pm 1,7$  со минимални вредности од 4,1 vs 10,4 и максимални вредности од 13,1 vs 17,2. Педесет проценти од испитаниците во двете групи имале вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот консеквентно над 9,9 vs 12,1 (Табела 55 и График 41).

Тестираната разлика, за  $p < 0,05$ , укажа на сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот меѓу двете групи (Mann Whitney U test:  $Z = -3,928$   $p = 0,00008$ ).

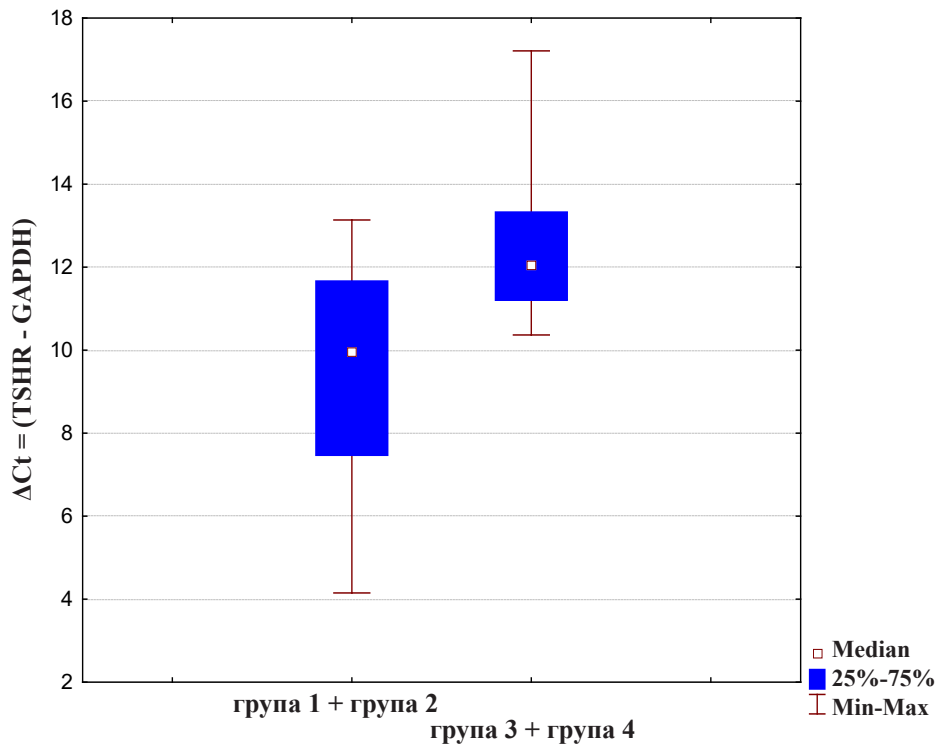


График 41. Двегрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот

#### 7.5.1.4 Споредба на четири групи по вредноста $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$ за *Tg* генот

Во рамките на истражувањето направена е меѓугрупна споредба (меѓу четири групи) на просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (Табела 56 и График 42).

Највисока односно најниска просечна вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот имала група 3 (целосен одговор на терапија) т.е група 1 (пациенти со некомплетен одговор) и тоа за консеквентно  $10 \pm 2,6$  vs  $6,17 \pm 5,37$  со минимални вредности од 6,01 vs -5,49 и максимални вредности од 15,4 vs 15. Педесет проценти од испитаниците во овие групи имале вредности за  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот над 9,6 vs 7,79.

Табела 56. Четиригрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот

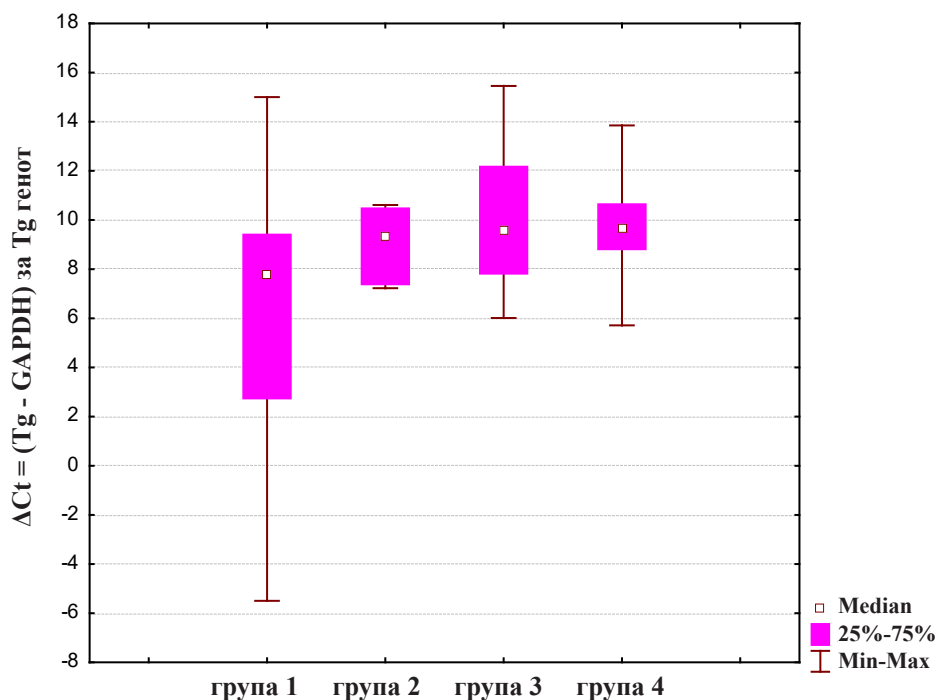
Групи	Просек (Mean)	Број (N)	Стандардна девијација Std. Deviation	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> (Median)	75 <sup>th</sup>
<sup>1</sup> група 1	6,17	21	5,37	-5,49	15	2,74	7,79	9,40
<sup>2</sup> група 2	9,07	6	1,55	7,22	10,61	7,39	9,36	10,47
<sup>3</sup> група 3	10,02	11	2,6	6,01	15,45	7,82	9,62	12,17
<sup>4</sup> група 4	9,68	16	2,28	5,71	13,85	8,81	9,69	10,64
<b>Вкупно</b>	8,32	54	4,16	-5,49	15,45	7,23	8,86	10,37

<sup>1</sup>некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија;  
<sup>2</sup>суспектен локален рецидив или метастатски  
<sup>3</sup>комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>4</sup>здрави испитаници

Kruskal-Wallis H test: Chi-square= 7,9481; df=3; p=0,0471

\* сигнификантно за p&lt;0,05

Тестираната разлика, за p<0,05, укажа на сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот меѓу четирите групи (7,9481; df=3; p=0,0471).

График 42. Четиригрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот

Направена е дополнителна интергрупна споредба во однос на просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (Табела 57). За p<0,05, согледана е сигнификантна разлика помеѓу групите: а) група 1/група 3 (Mann Whitney U test: Z = -1,964 p = 0,049)

во прилог на повисоки вредности во група 3; и б) група 1 / група 4 (Mann Whitney U test:  $Z = -2,453$   $p = 0,014$ ) во прилог на повисоки вредности во група 4.

**Табела 57.** Меѓугрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот

Mann-Whitney U test	група1/ група2	група1/ група3	група1/ група4	група2/ група3	група2/ група4	група3/ група4
Z	-1,166	-1,964	-2,453	-0,402	-0,442	0,148
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,243	0,049*	0,014*	0,688	0,658	0,882

<sup>3</sup>комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>4</sup>здрави испитаници  
<sup>1</sup>некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија;  
<sup>2</sup>суспектен локален рецидив или метастатски

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

#### 7.5.1.5 Споредба на две групи по вредноста $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$ за *Tg* генот

Во рамките на истражувањето направена е меѓугрупна споредба (помеѓу две групи) на просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (Табела 58 и График 43). За оваа цел направено е спојување на анализирани сумирани вредности од група 1 и група 2 со група 3 и група 4.

**Табела 58.** Двегрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот

Групи	Просек (Mean)	Број (N)	Стандардна девијација Std. Deviation	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
<sup>1</sup> група 1 + <sup>2</sup> група 2	6,81	27	4,91	-5,49	15	4,91	8,35	10,17
<sup>3</sup> група 3 + <sup>4</sup> група 4	9,82	27	2,53	5,71	15,45	8,14	9,62	10,85
<b>Вкупно</b>	8,32	54	4,16	-5,49	15,45	7,23	8,86	10,37

<sup>1</sup>некомплетен структурен и биохемиски одговор на терапија;  
<sup>2</sup>суспектен локален рецидив или метастатски  
<sup>3</sup>комплетен структурен и биохемиски одговор на терапија; <sup>4</sup>здрави испитаници

Mann Whitney U test:  $Z = -2,413$   $p = 0,0158$

\* сигнификантно за  $p < 0,05$

Во група 1 + група 2 во однос на група 3 + група 4 просечна вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот изнесува консеквентно  $6,8 \pm 4,9$  vs  $9,8 \pm 2,5$  со минимални вредности од  $-5,5$  vs  $5,7$  и максимални вредности од  $15$  vs  $15,5$ . Педесет проценти од испитаниците во двете групи имале вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот над консеквентно  $8,3$  vs  $9,6$  (Табела 58 и График 43).

Тестираната разлика, за  $p < 0,05$ , укажа на сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за  $Tg$  генот меѓу двете групи (Mann Whitney U test:  $Z = -2,413$   $p = 0,016$ ).

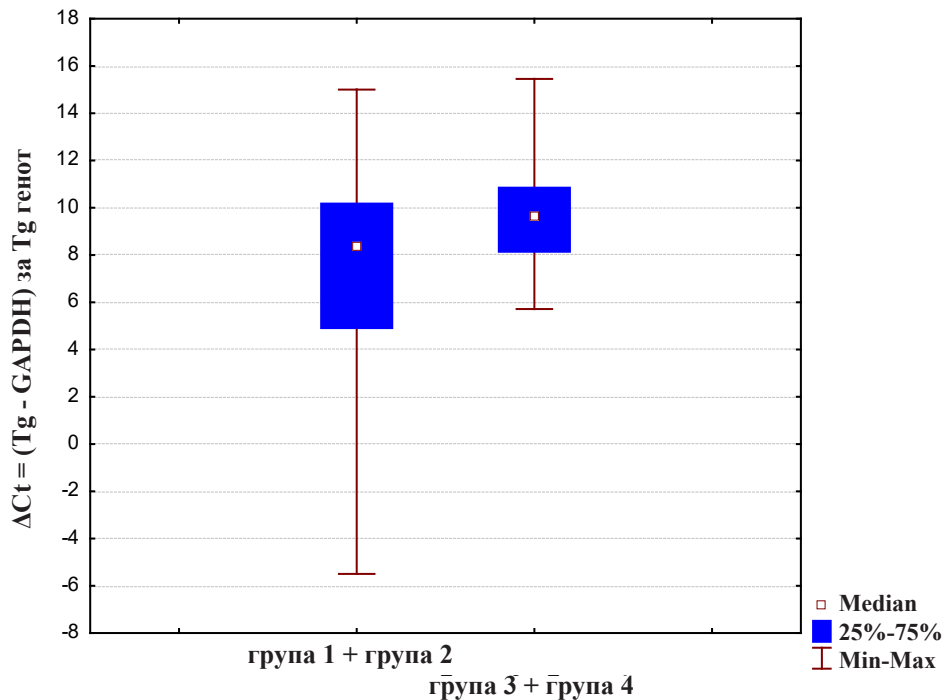


График 43. Двегрупна споредба на вредноста  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за  $Tg$  генот

#### 7.5.1.6 Корелација меѓу серумски тиреоглобулин (sTg) и вредноста на $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$ за $TSHR$ генот

Анализирана е корелацијата на соодветните вредности на серумскиот тиреоглобулин (sTg) со вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за  $TSHR$  генот за трите групи заедно (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на сигнификантна значајна негативна јака корелација за Spearman Rank Order Correlation:  $R = -0,475$   $p < 0,05$  (График 44). Со зголемување на вредностите на серумскиот тиреоглобулин (sTg), сигнификантно се намалуваат вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за  $TSHR$  генот.

Графичкиот приказ на корелација меѓу вредности на серумскиот тиреоглобулин (sTg) со вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за  $TSHR$  генот за трите групи заедно е даден на график 44.

Направена е одвоена дополнителна анализа на корелацијата на соодветните вредности на серумскиот тиреоглобулин (sTg) со вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за  $TSHR$  генот за група 4. Анализата укажа на постоење на сигнификантна позитивна јака корелација за Spearman Rank Order Correlation:  $R = 0,493$   $p < 0,05$  (График 45). Во група 4, со зголемување на вредностите на серумскиот тиреоглобулин (sTg), сигнификантно се зголемуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за  $TSHR$  генот.

Spearman Rank Order Corellation: R=-0,475; p<0,05

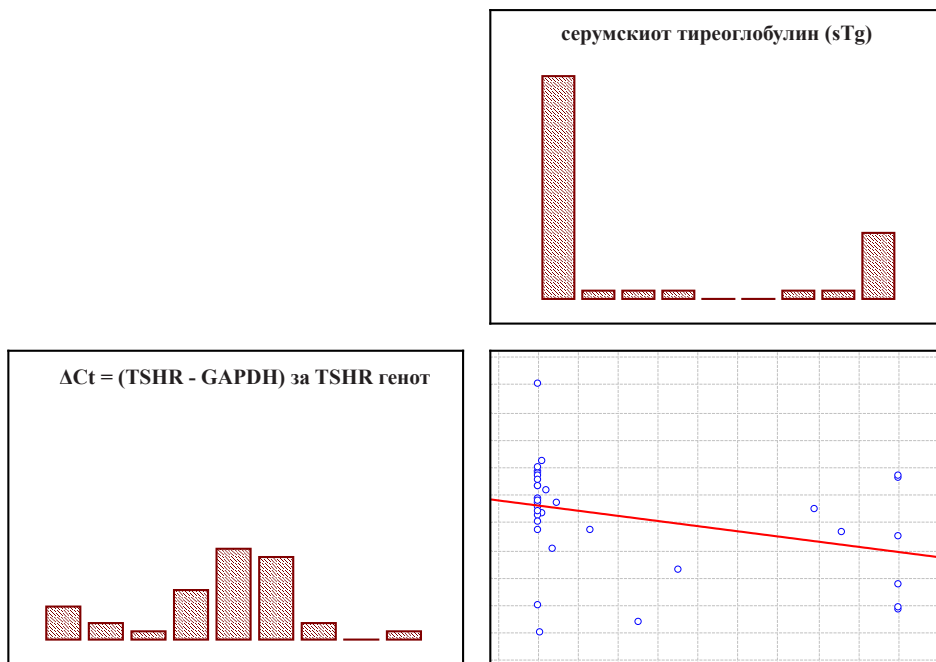


График 44. Корелација меѓу серумскиот тиреоглобулин (sTg) и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот (група 1, група 2 и група 3)

Spearman Rank Order Corellation: R=0,493; p<0,05

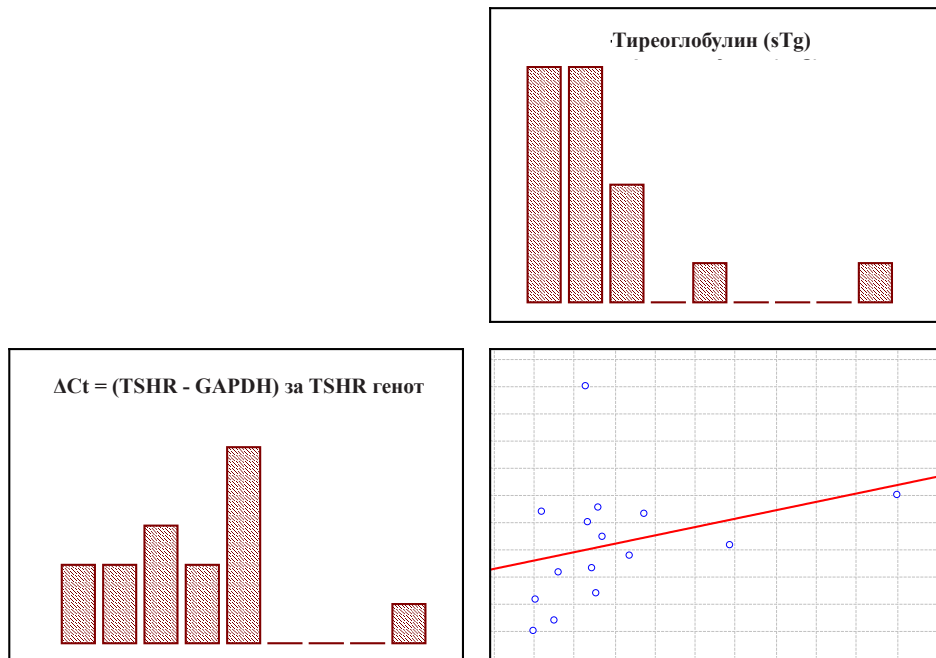


График 45. Корелација меѓу серумскиот тиреоглобулин (sTg) и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот за група 4

7.5.1.7 Корелација меѓу серумски тиреоглобулин (sTg) и вредноста на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот

Анализирана е корелацијата на соодветните вредности на серумскиот тиреоглобулин (sTg) со вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за трите групи заедно (група 1, група 2 и група 3).

Анализата укажа на постоење на сигнификантна умерена негативна корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R = -0,334$   $p < 0,05$ . Со зголемување на вредностите на серумскиот тиреоглобулин (sTg), сигнификантно се намалуваат вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот (График 46).

Направена е одвоена дополнителна анализа на корелацијата на соодветните вредности на серумскиот тиреоглобулин (sTg), со вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4. Анализата укажа на постоење на несигнификантна позитивна слаба корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R = 0,121$   $p > 0,05$  (График 47). Во група 4, со зголемување на вредностите на серумскиот тиреоглобулин (sTg), несигнификантно се зголемуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот.

Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,334$ ;  $p<0,05$

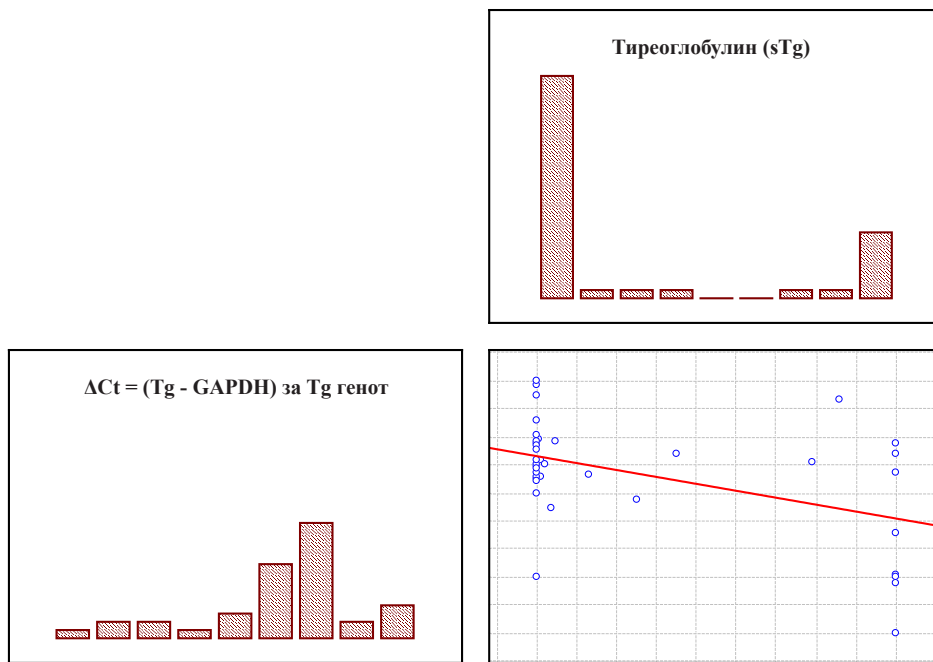


График 46. Корелација меѓу серумскиот тиреоглобулин (sTg) и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот (група 1, група 2 и група 3)

Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,121$ ;  $p>0,05$

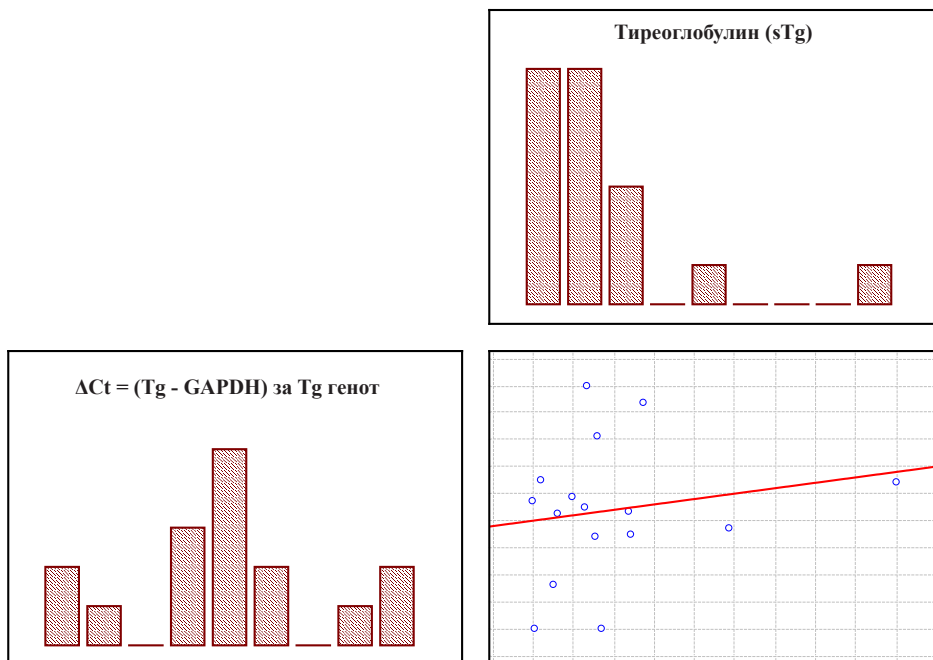


График 47. Корелација меѓу серумскиот тиреоглобулин (sTg) и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4

7.5.1.8 Корелација меѓу TSH во серум и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот за група 4

Направена е анализа на корелацијата на соодветните вредности на TSH во серум со вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот за група 4. Анализата укажа на постоење на несигнификантна негативна слаба корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,173$   $p>0,05$  (График 48). Во група 4, со зголемување на вредностите на TSH во серум несигнификантно се намалуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот.

§Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,173$ ;  $p>0,05$

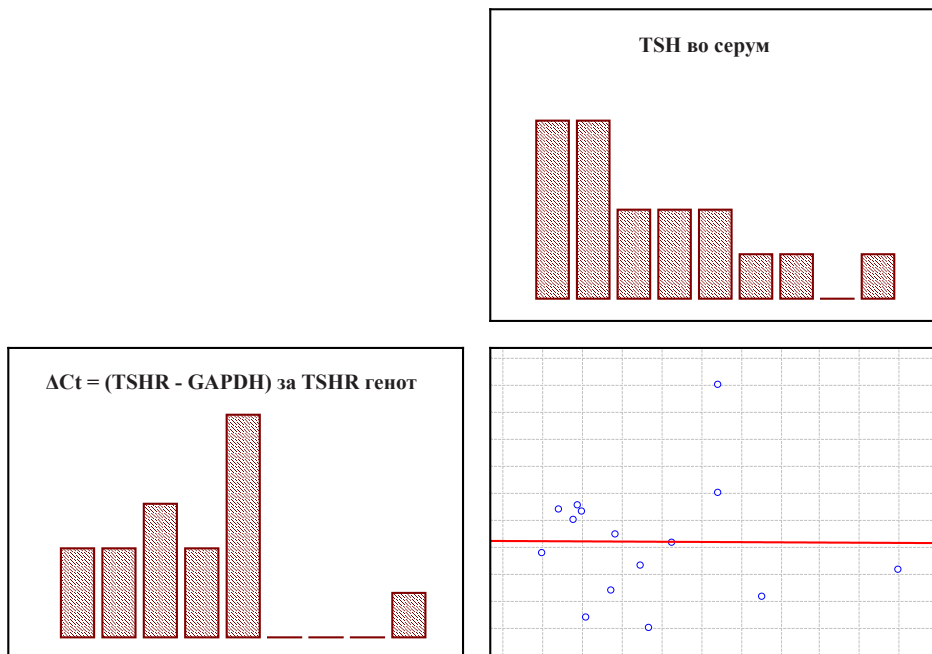


График 48. Корелација меѓу TSH во серум и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот за група 4



7.5.1.9 Корелација меѓу TSH во серум и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4

Направена е дополнителна анализа на корелацијата на соодветните вредности на TSH во серум со вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4. Анализата укажа на постоење на сигнификантна негативна јака корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,413$   $p<0,05$  (График 49). Во група 4, со зголемување на вредностите на TSH во серум сигнификантно се намалуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот.

Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,413$ ;  $p<0,05$

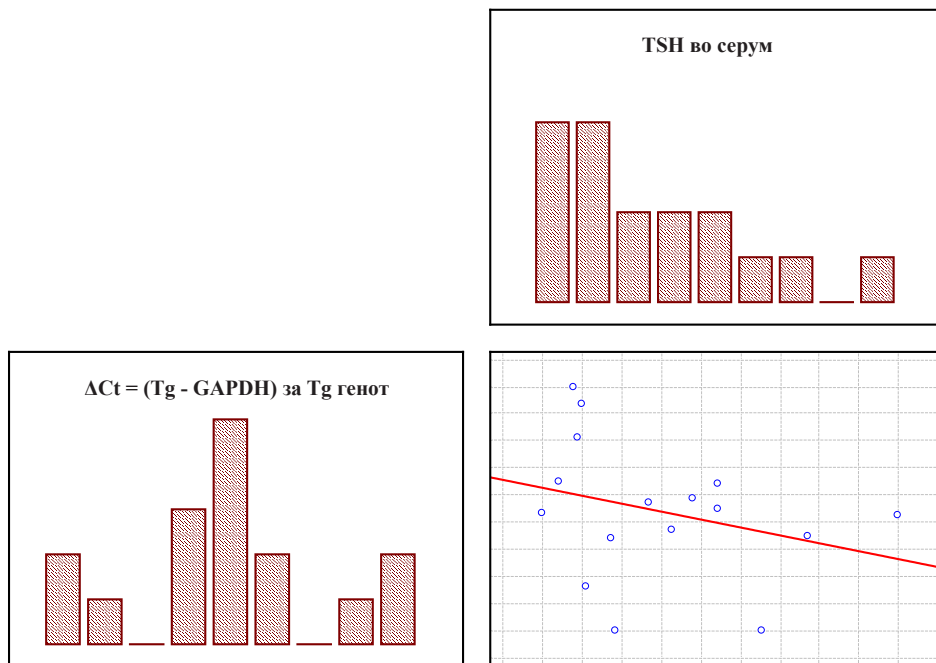


График 49. Корелација меѓу TSH во серум и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4

7.5.1.10 Корелација меѓу слободен тироксин (FT4) и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот за група 4

Направена е анализа на корелацијата на слободен тироксин (FT4) со вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот за група 4. Анализата укажа на постоење на несигнификантна негативна слаба корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,220$   $p>0,05$  (График 50). Во група 4, со зголемување на вредностите на слободен тироксин (FT4) несигнификантно се намалуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот.

Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,220$ ;  $p>0,05$

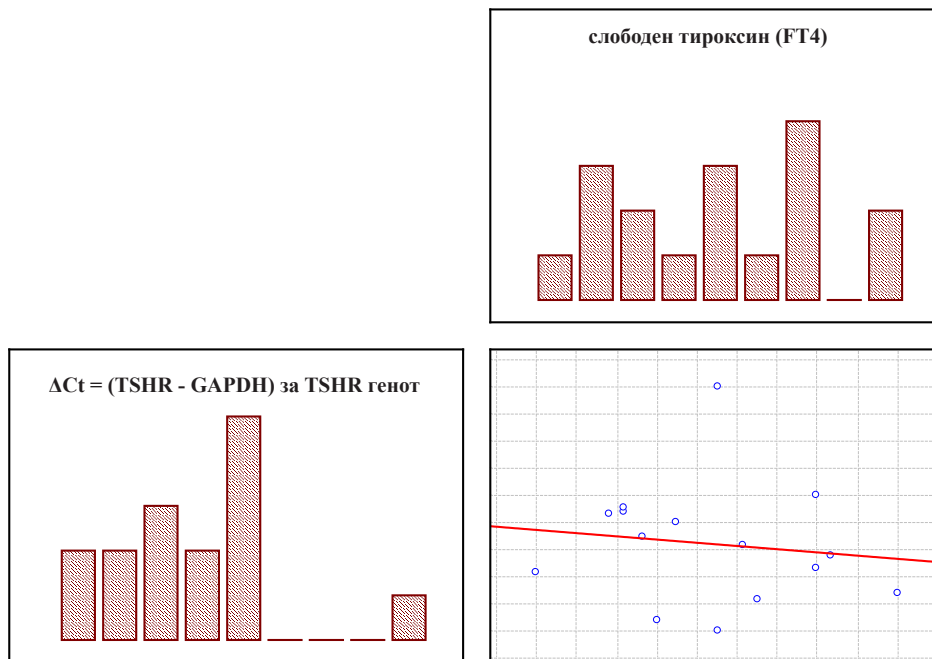


График 50. Корелација меѓу слободен тироксин (FT4) и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот за група 4

7.5.1.11 Корелација меѓу слободен тироксин (FT4) и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4

Направена е дополнителна анализа на корелацијата на соодветните вредности на слободен тироксин (FT4) со вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4. Анализата укажа на постоење на сигнификантна негативна умерена корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R = -0,314$   $p < 0,05$  (График 51). Во група 4, со зголемување на вредностите на слободен тироксин (FT4) сигнификантно се намалуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот.

Spearman Rank Order Corellation:  $R = -0,314$ ;  $p < 0,05$

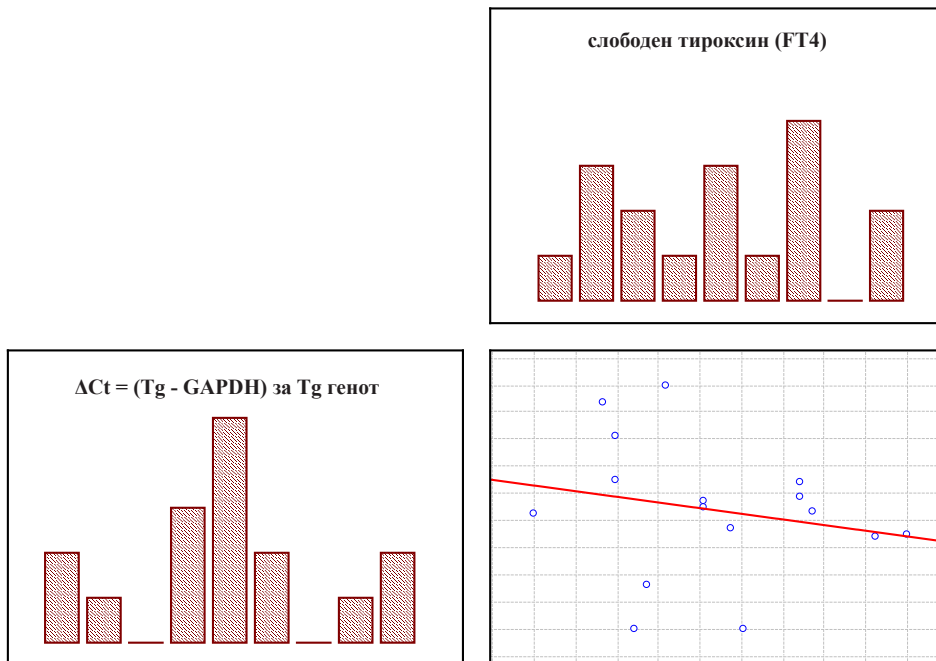


График 51. Корелација меѓу слободен тироксин (FT4) и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за Tg генот за група 4

7.5.1.12 Корелација меѓу вкупна радиојодна доза (RAI) и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (група 1, група 2 и група 3)

Направена е анализа на корелацијата на вкупна радиојодна доза (RAI) во (mCi) со вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на несигнификантна позитивна слаба корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,114$ ,  $p>0,05$  (График 52). Со зголемување на вредностите на вкупна радиојодна доза (RAI) несигнификантно се зголемува и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот.

**Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,114$ ;  $p>0,05$**

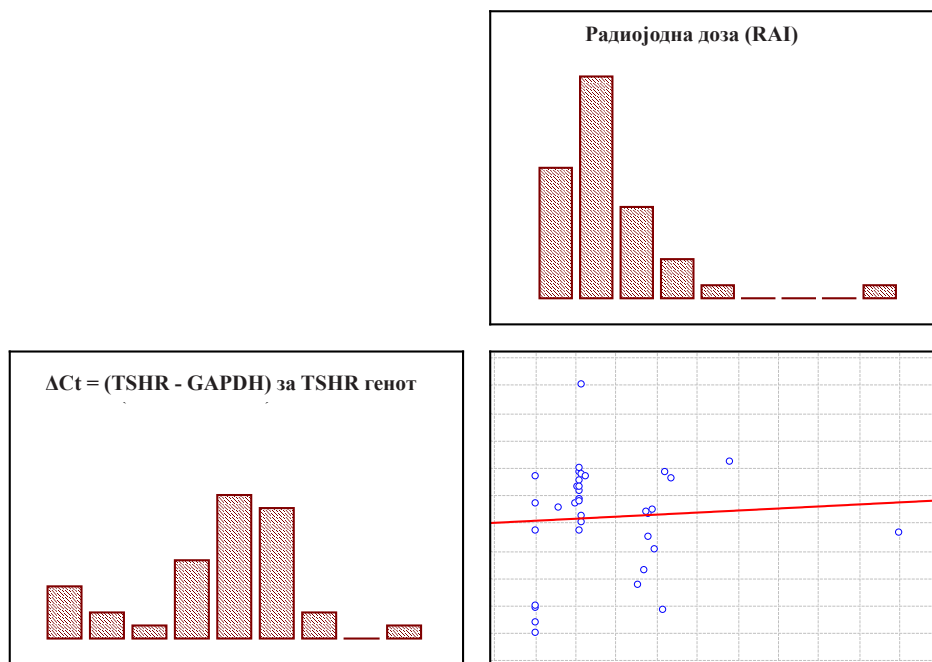


График 52. Корелација меѓу вкупна радиојодна доза (RAI) и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (група 1, група 2 и група 3)

7.5.1.13 Корелација меѓу радиојодна доза (RAI) и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3)

Направена е дополнителна анализа на корелацијата на соодветните вредности на радиојодна доза (RAI) во (mCi) со вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на несигнификантна позитивна слаба корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,103$   $p>0,05$  (График 53). Со зголемување на вредностите на радиојодната доза (RAI) несигнификантно се зголемуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот.

**Spearman Rank Order Corellation:  $R=0,103$ ;  $p>0,05$**

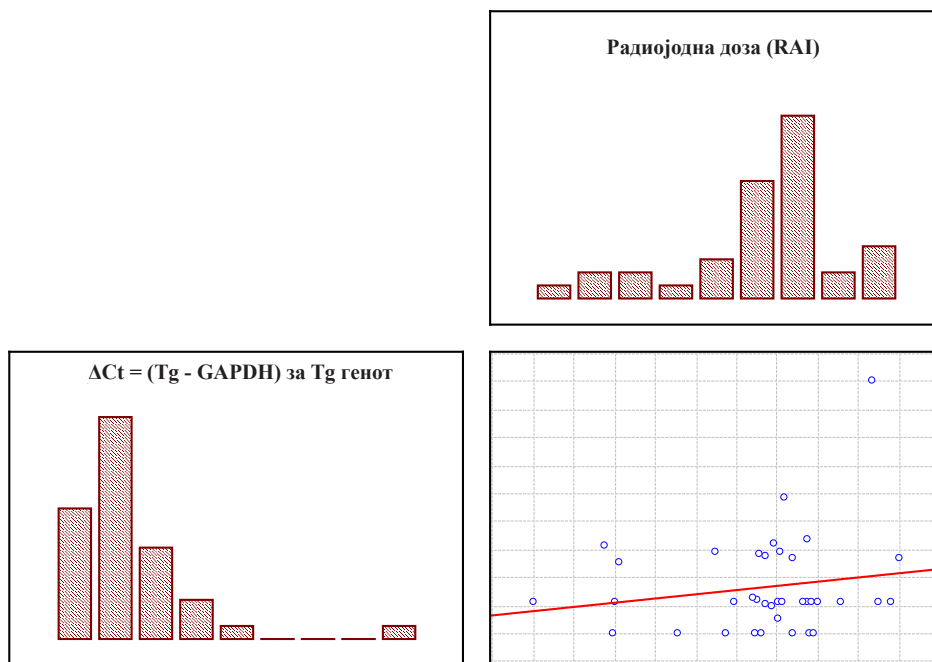


График 53. Корелација меѓу вкупна радиојодна доза (RAI) и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3)

7.5.1.14 Корелација меѓу стадиумот на болеста при дијагностицирање и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (група 1, група 2 и група 3)

Направена е анализа на корелацијата на стадиумот на болеста при дијагностицирање и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на несигнификантна негативна корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,0009$ ,  $p>0,05$  (График 54). Со зголемување на стадиумот на болеста при дијагностицирање несигнификантно се намалува и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот.

Spearman Rank Order Corellation:  $R=-0,0009$ ;  $p>0,05$

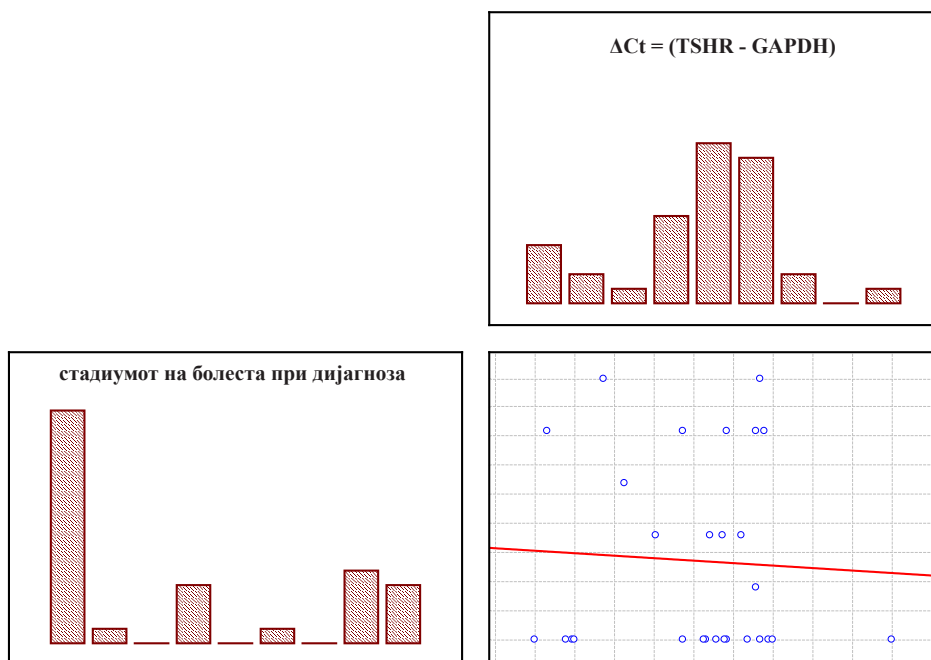


График 54. Корелација меѓу стадиумот на болеста при дијагноза и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот (група 1, група 2 и група 3)

7.5.1.15 Корелација меѓу стадиумот на болеста при дијагностицирање и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3)

Направена е дополнителна анализа меѓу стадиумот на болеста при дијагностицирање и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на несигнификантна негативна слаба корелација за Spearman Rank Order Correlation:  $R=-0,089$   $p>0,05$  (График 55). Со зголемување на стадиумот на болеста при дијагностицирање, несигнификантно се намалуваат и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот.

Spearman Rank Order Correlation:  $R=-0,089$ ;  $p>0,05$

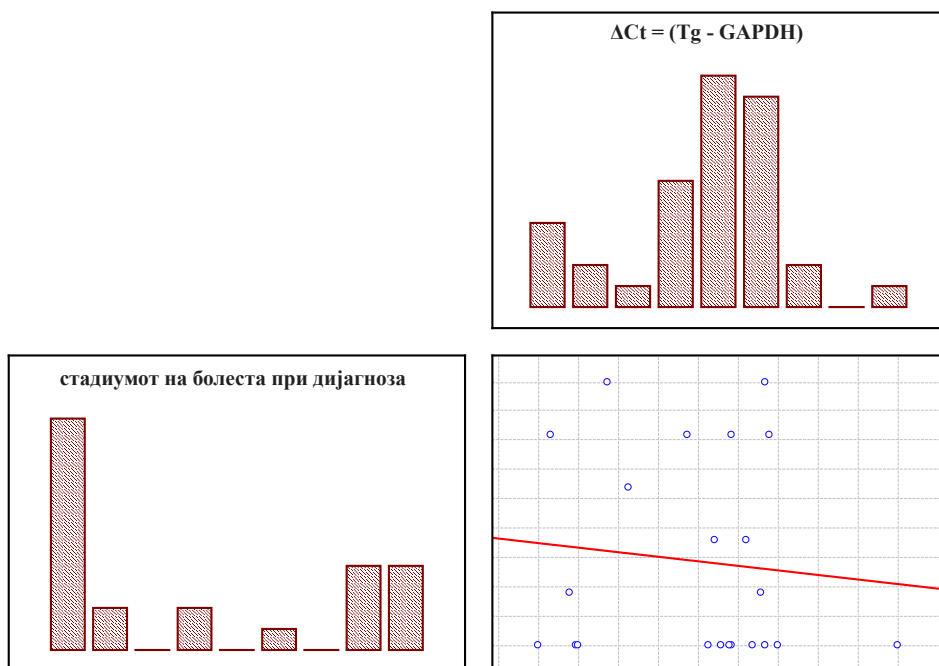


График 55. Корелација меѓу стадиумот на болеста при дијагноза и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3)

7.5.1.16 Корелација меѓу WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот (група 1, група 2 и група 3)

Направена е анализа на корелацијата на WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на сигнификантна негативна умерена корелација за Spearman Rank Order Corellation:  $R = -0,321$ ,  $p < 0,05$  (График 56). Со зголемување на WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија, сигнификантно се намалува и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот.

Spearman Rank Order Corellation:  $R = -0,321$ ;  $p < 0,05$

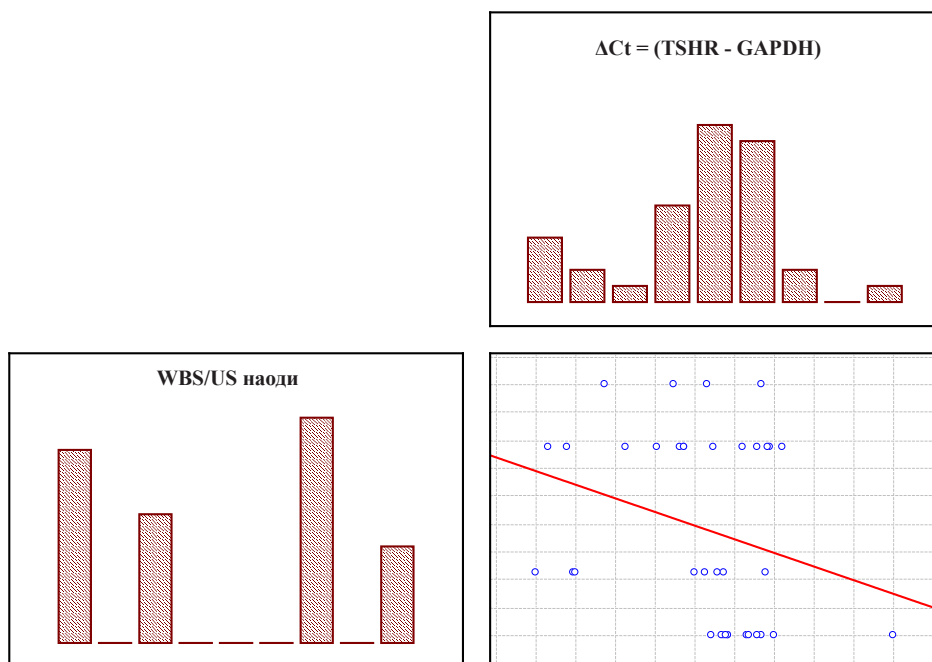


График 56. Корелација меѓу WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за TSHR генот – три групи



7.5.1.17 Корелација меѓу WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3)

Направена е анализа на корелацијата на WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот (група 1, група 2 и група 3). Анализата укажа на постоење на сигнификантна негативна умерена корелација за Spearman Rank Order Correlation:  $R = -0,382$ ,  $p < 0,05$  (График 57). Со зголемување на WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија сигнификантно се намалува и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот.

Spearman Rank Order Correlation:  $R = -0,382$ ;  $p < 0,05$

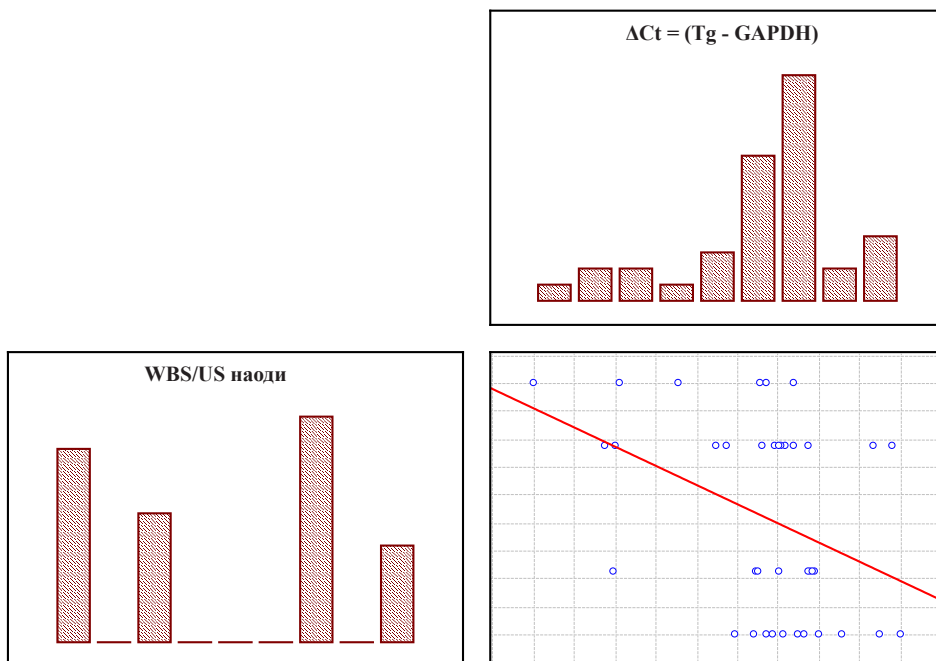


График 57. Корелација меѓу WBS/US наоди од скен на цело тело и ехо на вратна регија и вредностите на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот

## 8. ДИСКУСИЈА

### 8.1 Истражување на карактеристики на ТК

#### 8.1.1 Анализа на епидемиолошките и општи демографски податоци

ТК се детектираат во 5% – 10 % од регистрираните тироидни нодуси според податоците од литературата [27, 85, 97]. Еден од мотивите за опсежната анализа на епидемиолошките податоци на ТК во нашето истражување беше детално евалуирање на епидемиолошката состојба на ТК на територијата на нашата земја побудена од опсервацијата за зачестеност во детекцијата во секојдневната клиничка пракса, како и на растечкиот број на трудови на глобално, светско ниво, а кои говорат во прилог на растечки тренд на детекција на овие малигноми.

Со анализата на податоците од Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина во Скопје, како и на одделот за Нуклеарна медицина во Битола за периодот од 17 години утврдивме вкупно 422 пациенти дијагностицирани со тироиден малигном на возраст од 7 до 80 години (средна возраст  $45,8 \pm 15,5$  години), од кои 328 жени (77,7%) и 93 (22,3%) мажи. Податоците ги споредивме со претходно публикувани студии за периодот 1966 - 1988 година, а во недостаток на податоци за периодот 1989 - 1998 година се направи статистичка проценка на бројот, користејќи го трендот на дијагностицирани случаи од претходните години [94, 95]. Во двата анализирани периоди и тоа: 1966 до 1988 година и 1999 до 2015 година биле регистрирани консеквентно 244 vs 422 случаи со ТК. Развојната тенденција (трендот) на појавата на ТК во испитуваниот период од педесет години укажува на континуирана тенденција на пораст во регистрирањето на ТК во периодот од 1966 до 2015 година. Наодите од нашата земја корелираат со податоците од литературата. Трендот на пораст во инциденцијата и преваленцијата на ТК е глобално детектиран феномен [27, 85, 98]. Епидемиолошки студии од речиси сите континенти укажуваат на драстичен пораст во дијагностицираните ТК, освен во Африка, каде што се смета дека се должи на недоволно податоци и дијагностика [27].

Споредбата на епидемиолошките параметри меѓу различни земји открива голема разлика, дури и до десет пати во регистрираната инциденција, што може да се должи на многу фактори, како што е начинот на дијагностиката, достапноста на здравствените услуги, но можеби и на различни етиопатогенетски фактори на влијание во средината, како јодната суплементација, изложеноста на јонизирачко зрачење, мутагени хемиски фактори и други влијанија [27, 85, 98]. Од тие причини ги анализиравме достапните епидемиолошки податоци од балканските земји со епидемиолошките податоци од нашата анализа.

Во нашата земја пресметавме дека просечната инциденција на ТК во испитуваниот период од 17 години (1999 - 2015) изнесувала  $1,22/10^5$  жители. Анализата укажува на зголемување на просечната инциденција на ТК и тоа: а) во периодот 2005 - 2010 во однос на периодот 1999 - 2004 за 27,8%; б) во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 2005 - 2010 за 35,8%, а во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 1999 - 2004 за 52,8%. Просечната инциденција за вкупно анализираниот период за женскиот пол изнесува  $0,19/10^4$ , а за машкиот пол  $0,05/10^4$ , односно соодносот на просечните инциденции меѓу женскиот и машкиот пол е 3,9:1. Просечната инциденција од периодот 2005 - 2010 во однос на периодот 2011 - 2015 се зголемила за 35,7% кај женскиот пол, додека за 37,5% за машкиот пол. Во нашата студија утврдивме значајно повисока инциденција и преваленција кај женскиот пол, додека трендот на пораст е речиси идентичен за двата пола. Во сите 8 статистички региони од нашата земја преваленцијата е повисока за женскиот пол, а од сите региони најмалку случаи на ТК од машки пол има во Вардарскиот Регион, а најмногу во Источниот. Преваленцијата и за двата пола е највисока во возрасната група 45-64 години и кај популацијата над 65 години, а најниска во детската возраст (0-19 години). Дистрибуцијата на различните хистопатолошки типови по региони покажа најголема застапеност на ПТК во Југозападен, Пелагониски и Полошки Регион, за ФТК во Скопски, Југоисточен и Североисточен Регион, АТК во Југоисточен, Полошки и Источен Регион, а воопшто не е регистриран во Југозападниот Регион и за МТК во Југоисточен, Североисточен, Вардарски Регион, а не се регистрирани случаи во Југозападен и Полошки Регион. Разликите во дистрибуцијата на хистопатолошки типови на ТК во различните региони може да се должи на различните надворешни фактори. Утврдено е дека регионите со изразен јоден дефицит се карактеризираат со поголема фреквенција на појава на ФТК и АТК, додека во јодосуфицитните региони постои пораст на инциденцијата на ПТК за сметка на намалување на ФТК и АТК. За МТК е позната асоцираноста со герминативни *RET* прото-онкоген мутации и фамилијарни и хередитарни форми на појавување, со што може да се објасни почестата појава во одредените региони. Популационата студија на МТК со анализа на генотип-фенотип корелациите на пациентите во Македонија спроведена од Јовановиќ и сор., утврди ниска застапеност на фамилијарниот и МТК како дел од МЕН2 синдром во нашата популација. Во истата студија е заклучено дека причините за ниската детекција на фамилијарните и МЕН2 форми на МТК може да се должи на недостаток во моменталниот скрининг и дијагностички протокол, а што би можело да се подобри со имплементација на рутинска молекуларна анализа и навремена и подобрена дијагностика [99, 100, 101].

Во популационата студија на *RARECARE* проектот, базирана на европските канцер регистри е направена проценка на застапеноста на сите ендокрини тумори. Во проектот биле вклучени само регистрите на Полска и Словенија од Југоисточна Европа. Според оваа анализа утврдено е дека ТК учествувале со 29 500 случаи, односно на ТК отпаѓале 88% од сите ендокрини тумори. Овој процент веројатно е и повисок, поради тоа што

во проектот медуларните, мешаните медуларно-папиларни и медуларно-фоликуларни ТК не биле вклучени во групата на ТК, туку издвоени како посебна подгрупа од ретки невроендокрини тумори. Просечната инциденција на ТК според оваа популациона студија изнесува  $4/100.000$  годишно и ТК се единствени ендокринолошки малигноми со значајна разлика во застапеноста меѓу половите [102]. Податоците на оваа студија утврдиле дека кај ТК постои значајна разлика во дистрибуцијата меѓу половите, односно 2,8:1 повисока инциденција за женскиот во споредба со машкиот пол. Во нашата студија утврдиле висока разлика во дистрибуцијата меѓу половите, која е за 3,5 до речиси 4 пати повисока кај женскиот пол во различните региони во нашата земја.

Петгодишното преживување за ТК според студијата од *RARECARE* проектот изнесувало 90,5%, за што авторите заклучуваат дека е пониско од опишаното од 95% во други анализи, но се смета дека отстапувачки ниската вредност за 5 годишно преживување во *RARECARE* проектот се должело на вклучувањето на сите хистопатолошки подтипови на ТК во анализата, вклучително и на АТК [102].

Од земјите во регионот пронајдовме соодветни епидемиолошки податоци за споредба со податоците од нашата студија за приближно сличен период за територијата на Србија и Хрватска. Slijeršević и сор., направиле анализа на инциденцијата за периодот 1999 - 2008 година во Србија и утврдиле исто како и во нашата студија пораст во инциденцијата на ТК кај обата пола, особено трендот на пораст бил евидентен кај женскиот пол во помладата возрасна група 20-29 години, иако инциденцијата била највисока за возрасната група 50-59 години. Во студијата на Slijeršević и сор., просечната инциденција во Србија за женската популација изнесувала  $3,3/10^5$ , а која е приближно 3 пати пониска од највисоката инциденција опишана за Европа, а за 1,7 пати повисока од просечната инциденција во нашата земја. Авторите заклучиле според податоците дека инциденцијата кај женскиот пол во Србија спаѓа во просечните инциденции во однос на европските епидемиолошки податоци. За машкиот пол во истата студија е пресметана просечна инциденција од  $1/10^5$ , што според авторите во студијата било за двапати пониска од просечната инциденција во европските земји, а за двапати повисока од просечната инциденција кај мажите во нашата земја. Податоците според тоа укажуваат дека инциденцијата за ТК во Србија и во нашата територија кај машката популација е ниска, во споредба со инциденцијата регистрирана во европските земји [103]. Друга епидемиолошка студија за Централна Србија за период од 1999 до 2014 година утврдила растечки тренд на инциденцијата кај обата пола, кој се движел од  $2,8/10^5$  во 1999 година, до  $6,8/10^5$  во 2014 година за женскиот пол и  $1,3/10^5$  до  $2,8/10^5$  за соодветните години кај машкиот пол, а интересен факт е што и кај двата пола највисоката инциденција е регистрирана во 2007 година. Причините за порастот во инциденцијата се објаснуваат со можните влијанија на зголемена изложеност на јонизирачко зрачење, како можен фактор се наведува и бомбардирањето на Србија во 1999 година, но и подобрената дијагностика [104].

Во студијата на хрватските автори за периодот 1988 - 2010, просечната инциденција на ТК во Хрватска изнесувала за соодветниот период  $11,4/10^5$ , според што и Хрватска се рангира како четврта европска држава со највисока инциденција на ТК, по Литванија со  $15,5/10^5$ , Италија со  $13,5/10^5$  и Австрија со  $12,4/10^5$  [105, 106]. Според извештајот на Научниот Комитет на Обединетите Нации (United Nations Scientific Committee), а во врска со ефектите од нуклеарната катастрофа во Чернобил, Хрватска била наведена меѓу земјите со највисока контаминација на што е можно да се должи високата инциденција на ТК во Хрватска споредено со другите европски земји, иако во претходна студија која го анализирала периодот 1989 - 1990 и 1998 - 1999 и ги споредувала со 1980 - 1981 година, не била регистрирана значајна разлика во средната возраст на дијагностицираните ТК пред и по Чернобил несреќата, за разлика од други студии во кои се констатирал пораст на ТК, особено кај детската популација веќе по само 3 - 4 години по експозицијата [107].

Споредено со податоците од регионалните епидемиолошки студии, можеме да констатираме дека во нашата земја инциденцијата на ТК е многу ниска и кај двата пола, но разликата во застапеноста меѓу машкиот и женскиот пол како и дистрибуцијата по возрастните групи се совпаѓа со податоците од литературата. Анализирајќи ги глобалните податоци можеме да заклучиме дека со нашата студија констатиравме ниска инциденција и преваленција на ТК, што може да потекнува од две причини. Едната причина може да биде инсуфициентна дијагностика на само дел од ТК, поради што регистрираниот број е само дел од поголемиот пул на недијагностицирани случаи, кои поради ниската агресивност и индолентниот тек на болеста остануваат и долго време препознаени. Втората можна причина е постоење на вистинска ниска инциденција поради специфични етипатогенетски влијанија во нашата популација.

Gabriella Pellegreti и сор., ја пресметувале годишната процентуална промена во инциденцијата на ТК и во САД е детектиран пораст од 2.4% во периодот 1980 - 1997 и до 6.6% за периодот 1997 - 2009, а притоа порастот е детектиран и кај двата пола [85, 108]. Споредено со овие податоци добиваме дека во нашата земја имаме висока годишна процентуална промена во инциденцијата на ТК, споредено со податоците од американската студија. Но од друга страна вкупната просечна инциденција, како и инциденцијата по пол, во нашата анализа за испитуваниот период (1999 - 2015) е ниска споредено со податоците од епидемиолошките студии, односно можеме да заклучиме дека Р. Македонија спаѓа во групата на земји со ниска инциденција на ТК. Carlo La Vecchia и сор., во својот труд прават глобална анализа на податоците од инциденцијата на ТК од СЗО на петте континенти и според податоците е пресметана просечна инциденција од  $6,10/10^5$  жени и  $1,9/10^5$  мажи [27]. Според податоците од епидемиолошки истражувања висока инциденција, особено кај жените е регистрирана во Северна и Јужна Америка, Италија, Јапонија и Пацифичките Острови [27, 109].

Високата разлика во инциденцијата меѓу машкиот и женскиот пол е познат факт, но причината која доведува до оваа различна полова дистрибуција е недоволно разјаснета, а

се претпоставува дека половите хормони можат да имаа улога, особено поради докажани естрогени рецептори на клеточна линија од добро диференциран ТК [49, 110]. Kumar и сор., ја истражувале улогата на хормонот естрадиол и естроген рецепторската експресија и ефектите на селективните естрогени рецепторски модулатори на NRA87 и KAT5 папиларни и WRO фоликуларни ТК клеточни линии. Сите три клеточни линии на ТК имале експресија на двете изоформи на естрогени рецептори со цитоплазматска локализација. Заклучокот на оваа група автори е дека естрадиол посредуваната пролиферација на тироидните карциномски клетки вклучува естроген рецепторски транскрипциски и негеномски сигнализирачки процеси. Истражувањата покажале дека естрогенот регулира транскрипција на бројни гени поврзани со клеточна пролиферација [111]. Податоци од истражувања укажуваат на директен ефект на естрогенот на тиродни клеточни линии од нормално тироидно ткиво и од диференцирани ТК, преку естрогенски рецептори, активирајќи ефекти на клеточна пролиферација, модулација на NIS, зголемена експресија на *Tg* ген и зголемена продукција на матрикс металопротеиназа 9 [112].

За разјаснување на можните причини за оваа полова дистрибуција Zamora-Ros R и сор., спровеле обемна проспективна анализа на голема европска кохорта за истражување на асоцираноста меѓу репродуктивните, менструални фактори, егзоген внес на хормони и ризикот за развој на диференциран ТК кај женскиот пол. Биле вклучени 508 пациентки со просечно време на следење од 11 години и притоа е утврдена сигнификантна асоцираност со постоење на историја на проблеми со фертилноста кај жените вклучени во анализата, скорешни бремености, примена на орална контрацептивна терапија и хормонска супституциона терапија, додека отсуство на сигнификантна поврзаност со бројот на бремености, доење, менопаузен статус, возраст при првиот менструален циклус и возраст на која настапила менопаузата. Свкупниот заклучок на оваа група автори е дека не е најдена силна улога на репродуктивните и менструални фактори и употребата на женските полови хормони во етиологијата на ДТК, а неколкуте асоцираности со жените со инфертилност, скорешни бремености и хируршка менопауза, се смета дека се должат на повнимателниот дијагностички пристап кај оваа група пациентки [113].

Вкупната преваленција на ТК за анализираниот период во нашата студија изнесува  $20,89/10^5$ , со вкупна преваленција кај женскиот пол од  $32,61/10^4$  додека кај испитаниците од машки пол таа  $9,27/10^4$ . Преваленцијата кај женскиот пол по региони, е највисока во Скопскиот Регион  $4,5/10^4$  следена со Вардарскиот  $4,1/10^4$ , а кај машкиот пол вкупната преваленција е највисока во Источниот и Скопскиот Регион за консеквентно  $1,4/10^4$  vs  $0,3/10^4$ . Споредено со претходните студии за периодот 1966 - 1988, постои слична регионална дистрибуција со поголема преваленција во Северниот и Североисточниот Регион. Пониска преваленција утврдиме во Југозападниот и Полошкиот регион, кои во минатото се регистрирани како региони со најголема фреквенција на ендемска струма. Она што е воочливо во податоците од нашата студија и претходно објавените трудови е промената во фреквенцијата на различните хистопатолошки типови на ТК. Во нашата



студија утврдивме најголема фреквенција на ПТК (Ca papillare) со 79,53%, потоа ФТК (Ca folliculare) со 10,88%, МТК (Ca medullare) со 4,15%, АТК (Ca anaplasticum) со 3,11% и најмалку на останатите типови (како интратироиден лимфом, сарком, секундарни депозити и лошо диференциран инсуларен тип на карцином) само 2,33%. Споредено со анализата од 1966 - 1988 година кога се детектирани 55,1% ПТК, втор со 17,9% АТК и трет со 17,5% ФТК, мешаните форми со 7,2% и МТК со само 2,2%, може да констатираме значајна промена во процентуалната застапеност на хистопатолошките типови, со воочливо намалување на учеството на агресивниот АТК во вкупната бројка и намалување на ФТК варијантата, за сметка на порастот во дијагностицираните ПТК и лесен пораст на МТК. Причините за промената во застапеност на хистопатолошките типови е увидена и опишана во други јододефицитни региони и се смета дека се должи на воведување јодната суплементација [114].

М. Zimmermann и V. Galetti во својот ревијален труд направиле детална анализа околу можните влијанија на јодниот суфицит и јодниот дефицит како можни етиопатогенетски фактори во порастот на инциденцијата на ТК, како и за забележаниот ефект на промена на хистопатолошките варијанти, со воведувањето на програмите за корекција на јодниот дефицит. Би се очекувало дека јодниот дефицит преку адаптивниот механизам на пораст на ТСХ, доведува до пролиферативен ефект и на тој начин влијае на појавата на ТК, но податоците од популационите студии се сосема спротивни, односно просечните ТСХ вредности во популациите кои потекнуваат од јододефицитните региони биле утврдени дека се пониски, споредено со јодосуфицитните региони, делумно тоа може да се должи и на почестата појава на токсични аденоми во јододефицитните региони. Друг податок контрадикторен на тезата за јодниот дефицит-ТСХ стимулација во туморогенезата на ТК е податокот за висока инциденција на ТК во земји со јоден суфицит, како што е Јапонија [115]. Морталитетната стапка е утврдено дека е повисока во териториите со јоден дефицит, што е во прилог на фактот за почестото појавување на поагресивните хистопатолошки типови на ТК, како АТК, ФТК во гоитрогените региони, споредено со јодосуфицитните. Многубројни истражувања се насочиле кон разјаснување на соодветната дилема, а во дел студиите практикувале анимални модели со примена на стаорци на кои им бил модифициран диететскиот внес во насока на јоден суфицит и/или дефицит, со и без примена на дополнителни канцерогени фактори, како N-bis (2-hydroxypropyl)-nitrosamine, N-nitrosomethylurea. Анималните модели покажале дека во суштина самиот јоден дефицит или јоден суфицит не покажале директен канцероген ефект, туку повеќе дополнителен ефект во туморогенезата, и тоа особено било констатирано за јодниот дефицит. Според податоците од литературата процентот на ФТК и АТК е поголем во јододефицитни региони [115]. Поместувањето во фреквенцијата на хистопатолошките типови на карциноми, во споредба со претходните истражувања на нашата популација од 1966 - 1988, е констатирано и во други епидемиолошки студии. Студијата во Швајцарија, за период 1925 - 1941 и 1962 - 1973, покажала значајна

промена во хистопатолошките типови, со дури 40% учество на ФТК, 38% на АТК и само 8% ПТК во првичниот период, па се до 33% ПТК, 30% ФТК и 24% АТК во последниот, а интересен е и фактот за соодносот меѓу половите, женско/машки сооднос изнесувал 1,4 до 1,6, додека во регионите со јодна профилакса се движел 2,1 до 3. Поновите податоци за популацијата во Швајцарија за 1994 - 2007, кога веќе постои регулирана јодна профилакса и стабилен јоден внес во популацијата покажувале пораст во инциденцијата, главно на ПТК варијантата. Од друга страна, податоци за регион со јоден суфицит како Исланд покажуваат исто така тренд на пораст на ТК, особено на сметка на ПТК споредено со региони со адекватен внес на јод како северна Шкотска, односно соодносот ПТК/ФТК изнесувал 6,5 во Исланд споредено со 3,6 во Шкотска. Теориите за високата инциденција на ТК во Исланд биле поврзувани со јодниот суфицит, а друг аргумент била вулканската природа на островот, односно природно повисоката радијација во вулканските региони, како ризик-фактор [115].

За да се разјаснат причините за евидентната промена во хистопатолошките типови на ТК со јодниот внес, направени се истражувања за поврзаноста на јодниот внес со појавата на одредени генетски промени. Резултатите од анализите се неконклузивни и контрадикторни. Во студија спроведена на територијата во Кина за поврзаноста на јодниот внес и асоцираноста со одредени генетските промени, особено во поглед на *BRAFV1799A* мутациите утврдена е сигнификантно повисока фреквенција на соодветната генетска промена во ПТК кај пациентите од јодосуфицитните во споредба со регионите со адекватен внес [116]. Слична анализа е направена и од италијански автори, но со спротивен заклучок, односно оваа група автори не утврдиле сигнификантна разлика во честотата на појава на *BRAFV1799A* мутациите во различните региони. Експериментални студии го проучувале ефектот на јодниот суфицит/дефицит на појавата на *RET/PTC3* реаранжирањата, со примена на хумана ПТК и ФТК клеточна линија инкубирана во експес на јод, при што се детектирал бифазичен тек, односно на пониски концентрации промовиран, а потоа на повисоки инхибиран клеточен раст и инхибирана миграција на туморските клетки, но се напоменува дека концентрациите на јод биле повеќекратно повисоки од физиолошките концентрации на јод во хуманите тироцити [116, 117].

За променетиот сооднос ПТК/ФТК се смета дека делумна причина може да биде и промената на СЗО-класификациониот систем за ТК во 1988 година, со којашто се препорачува сите случаи на дотогаш класифициран ФТК со презентирани папиларни хистолошки компонент да се рекласифицираат како фоликуларна варијанта на ПТК [4, 6, 118].

И во нашата студија, како и во опишаните податоци во литературата порастот на ТК се должи најмногу на порастот на ПТК, а значајна е редукцијата на АТК, кои се редуцирани од 17,9%, на само 3,11% учество во вкупната бројка на ТК. АТК придонесува во најголема мера во вкупната морталитетната стапка од ТК, поради што можеме да кажеме дека промената во дистрибуцијата на хистопатолошките варијанти е една дополнителна



придобивка на јодната профилакса, која била првично воведена во 1956 година, а подоцна коригирана со измена во закон за јодинарање на солта во 1999 година. Територијата на Р. Македонија била јододефицитен регион до 1956 година, кога е започната програмата на јодна профилакса, со првично воведување на законот за јодинација на готварската сол за хумана и анимална употреба со 10mg KJ/1kg, а кој бил во употреба се до 1999, а кога по претходно спроведена анализа е констатирано дека е потребно коригирање на јодинацијата. Во 1999 година е стартуван нов закон за јодна профилакса, со примена на 20 - 30 mg KJO<sub>3</sub>/1kg сол. Во 2003 година, експертски тим од WHO, UNICEF, ICCIDD и од Националниот комитет за јоден дефицит е спроведена евалуација на дотогаш спроведуваната јодинација и заклучено е во нивниот конечен извештај дека е постигната корекција на јодниот дефицит во Р. Македонија [119].

Промената во јодниот внес за анализираниот период е можниот механизам за редуцираната фреквенција на појавата на агресивните форми на ТК и поместување кон поиндолентните форми на ТК.

Анализата на просечната возраст на која се дијагностицираат одделните хистопатолошки типови на ТК покажа значајна разлика, и тоа АТК се дијагностицира најчесто кај повозрасни пациенти, а најмлада возрасна група се пациентите со ПТК и МТК. Овие податоци од нашата студија соодветствуваат со анализите и во други трудови [120]. Причините за разликите во возрасната дистрибуција може да се должат на влијание на различните фактори во онкогенезата. Најистражуваниот етиолошки фактор кај ТК е ефектот на радијационата експозиција во рана детска возраст, особено асоциран со појава на ПТК. Херeditарните форми на МТК, вклучуваат спектар на заболувања во кои се вклучува фамилијарниот тип на МТК и МЕН2 синдромот, а кои се манифестираат почесто во помлада возраст, но агресивноста и возраста на појавување зависи од типот на генетските промени, за разлика од спорадичните случаи кои се појавуваат во сите возрасни групи, но почесто кај повозрасна популација споредено со херeditарните форми [121, 122]. За разлика од овие тумори во патогенезата на агресивните и лошо диференцирани тумори, како АТК е потребно активирање на дополнителни генетски промени во клетките, а кои се претпоставува дека се акумулираат со зголемување на возраста и продолженото дејство на различните етиолошки влијанија [123, 124].

Според податоците на American Cancer Society (ACS) од 2017 година ТК се петтиот највообичаен малигном кај женскиот пол, додека L Da Maso и сор., ја анализирале инциденцијата на ТК во Италија и утврдиле дека ТК се втори по честота тумори кај женскиот пол под 45 годишна возраст [120, 125]. Слични епидемиолошки податоци се добиени од истражувањето на податоците од Јужна Кореа, која располага со одлична витална статистика и државен регистар на карциноми. Според добиените податоци од инциденцијата на ТК, Јужна Кореа спаѓа меѓу земјите со највисока инциденција, која во анализираниот период од 1993 година до 2011 година се зголемила за 15 пати, и тоа во целина се должело на порастот во инциденцијата на ПТК, а од друга страна морталитетната

стапка останува стабилна, по што е заклучено од авторите дека се работи за „прекумерна“ дијагностика, која се должела пред се на достапноста на ултрасонографијата, како едноставна и ефтина скрининг дијагностичка метода во детекција на тироидни јазли. Споредено со потребата за доживотна супституциона терапија кај лицата и можните несакани постоперативни компликации, а од друга страна нискиот ризик и одличната прогноза на категоријата папиларни микоркарциноми, се поставува прашањето за правилно насочување во дијагностиката и оправданост и рационалност во поглед на тераписките дејствувања, а слични согледувања произлегуваат и од други епидемиолошки студии [126-128]. Во студијата на L Da Maso и сор. е утврдено речиси дуплирање на инциденцијата на ТК во Италија меѓу периодот 1991 - 1995 и 2001 - 2005, со речиси трипати почесто јавување кај женскиот пол, иако утврдениот степен на пораст бил сличен меѓу двата пола и се должел речиси ексклузивно на порастот на ПТК. Меѓутоа како и во американските епидемиолошки податоци, така и во италијанската студија со примена на моделот возраст-период-кохорт за ПТК, постои разлика во ефектот на факторот возраст на порастот на инциденцијата меѓу женскиот и машкот пол, односно ТК инциденцијата започнуваат со трендот на пораст во многу помлада возраст за женскиот пол, односно во возрасната група 45-49 години кај жените, а 65-69 години кај мажите во оваа епидемиолошка студија [125].

Постојат дилеми околу причината за глобално регистрираниот пораст во инциденцијата на ТК. Анализите укажуваат дека една причина за порастот на инциденцијата е подобрената дијагностика, особено по воведување на ултрасонографски водената тенкоиглена биопсија и воопшто ултрасонографијата и другите визуелизациони дијагностички методи, при кои често се дијагностицираат асимптоматски тироидни нодуси или инциденталомии. Еден фактор кој ја поткрепува оваа теорија е детекцијата на окултни ПТК во 8% – 35% тироидеи при аутопсија, односно според некои автори постои голем супклинички пул на ТК, кои се со индолентен тек и се откриваат инцидентално. Заклучокот е дека постои „прекумерна“ дијагностика, која суштински не ја сменила морталитетната стапка и во поткрепа на соодветната теорија истата група автори спровеле истражување во кое ја анализирале корелацијата меѓу достапноста на здравствениот систем и инциденцијата на ТК и утврдиле дека постои позитивна корелација меѓу социодемографските параметри кои ја отсликуваат достапноста кон здравствениот систем и инциденцијата на ТК кај соодветните групи на испитаници [27-29]. Pellegriti и сор. прават анализа на факторите за зголемената инциденција на ТК и од аргументите кои се против хипотезата за „прекумерна“ дијагностика се спомнува фактот за пораст на сите димензии на дијагностицирани примарни тумори, а доколу подобрената детекција би била причината би имале пред се пораст на помалите тумори, а намалување на инциденцијата на големи тироидни тумори, што не е случај во епидемиолошките студии. Друг факт кој е контрадикторен со хипотезата за „прекумерна“ дијагностика е изолираниот тренд на пораст само на ПТК, а не на другите поттипови на ТК [85]. Студијата на Louis Davies и сор., покажуваат речиси триплирање на ТК во последните 30 години, со истовремено стабилна

морталитетна стапка. Најголем пораст и до 4 пати е утврден кај категоријата на мали ТК под 2 cm, но и триплирање на инциденцијата на големите тумори над 5 cm. Нивната анализа ги дели можните фактори за порастот на инциденцијата во две хипотези, едната е во прилог на „прекумерната“ дијагностика која се должи на поголемата достапност на здравствениот систем, зголемена примена на различните визуелизациони дијагностички методи (US, CT, MRI, PET), промена во препораките за евалуирање на тироидните јазли во кои се препорачува доиследување и на јазли со димензии до 5 mm, зголемениот број на хируршки интервенции на тироидна жлезда, промени во деталноста во патолошкиот опис на примерокот. Втората хипотеза е дека постои вистински пораст во инциденцијата на ТК, а која се објаснува со влијанија на можни потенцијални етиопатогенетски фактори, како податокот за зголемена просечна експонираност на јонизирачко зрачење, во најголем дел како резултат на медицински дијагностички процедури, обезноста и дијабетот, како можни ризик-фактори, промената во јодниот внес, односно јодниот суфицит, естрогенското влијание, нитратен внес со исхраната, поради компетитивниот прифат на нитратите со јодидот во тироидната жлезда и неколку студии укажуваат на зголемен ризик за ТК кај автоимуни тироидни заболувања [129].

Анализи се направени и во насока на истражување на трендовите на промена во молекуларните профили на ТК, а кои покажале пораст на *RAS* точкестите мутации од 2000 година, стабилна фреквенција на *BRAF* мутациите, а намалување на *RET/PTC* преуредувањата. Поради фактот што последниот тип на генетски промени се смета дека се последица на јонизирачки ефекти и биле особено често детектирани кај ТК во детска популација која била изложена на овој ризик-фактор, авторите на истражувањето заклучиле дека порастот на инциденцијата на ТК не се должи само на зголемената експонираност на јонизирачкото зрачење, [130].

Податоците од друга епидемиолошка студија која ја анализира инциденцијата на ТК во нордиските земји (Шведска, Норвешка, Данска, Финска и Исланд) и трендовите на промена во периодот 1970 - 2013 година, утврдила најголем пораст во периодот по 2006 година и кај машкиот и женскиот пол, со зголемување од над 2 пати во инциденцијата за време на анализираниот период [131]. Како и во претходните студии и во нашата анализа, така и во студијата спроведена во нордиските земји, порастот во инциденцијата се должи на порастот во ПТК, кој во нивната анализа е подеднаков во двата пола, поради што авторите заклучуваат дека возможно е да се должи на дејствувањето на заеднички надворешен фактор врз популацијата. Еден фактор кој се анализира во студијата е можното влијание на електро-магнетните бранови, со фреквенција 30 kHz – 300 GHz, а кои според Интернационалната агенција за истражување на карцином при СЗО од 2011 година се вклучени во 2В група или како можни канцерогени зрачења. Во оваа група од радиофреквентни бранови се брановите кои се емитуваат и од мобилните телефони [131]. Спротивно на претходните студии, авторите на студијата која ја анализира епидемиолошкиот проблем со ТК во нордиските земји смета дека порастот на инциденцијата на ТК делумно

се должи на подобрената дијагностика, но дека за драстичниот пораст, селективно само на ПТК има влијание и дејство на други фактори, меѓу кои особено зголемената изложеност на јонзирачко зрачење во медицински дијагностички процедури, од кои од посебен ризик е КТ на градниот кош, зголемениот број на ПЕТ/КТ студии, како и денталните радиографски иследувања [131].

Со евидентниот тренд на пораст во детекцијата на мали лезии во тироидната жлезда се создаде дилема околу начинот на следење и третирање на малите промени. Се поставува прашањето околу изолираното значење на димензијата на туморот во понатамошното терапевско менаџирање поради согледувањата за мошне различните можни биолошки карактеристики, дури и во рамки на само една група од ТК. Различните биолошки карактеристики на ТК во една хистопатолошка подгрупа укажуваат на потреба од ново класифицирање во кое ќе се земе во предвид молекуларниот генетски профил на туморот. Благодарение на се поголемото разбирање на генетските механизми кај ТК се идентификуваа мутациите и предводечките генетски промени во повеќе од 90% на случаите со ТК, поради што можеме да кажеме дека ТК спаѓаат во најдобро карактеризираните хумани карциноми од генетски аспект. Молекуларните анализи покрај во дијагностиката имаат значење веќе и во проценка на биолошката агресивност, односно имаат улога на молекуларни маркери во прогностички проценки [132].

Во нашата студија исто така ги анализираме можните разлики во дистрибуцијата на хистопатолошките типови и според етничките групи во нашата популација и анализата покажа сигнификантна асоцијација на испитаниците од македонска националност за АТК и за групата останати поретки хистопатолошки типови на тироидни тумори, споредено со останатите две етнички групи, додека ПТК е најзастапениот хистопатолошки тип на тумор кај трите етнички групи кои се анализирани во студијата. Епидемиолошки студии кои ја истражувале меѓуетничката дистрибуција, забележале повисока инциденција на добро диференцираните ТК кај азијатите, односно особено висока инциденција опишана кај Кинези, Јапонци, висока инциденција е констатирана и кај населението на Филипини и Хаваи, но се смета дека се работи повеќе за етиолошки фактори на средината кои влијаат на населението во соодветните територии, отколку на вистинска меѓуетничка разлика [10, 37].

### 8.1.2 Анализа на клиничките карактеристики

Од клиничките карактеристики во нашата студија беа анализирани ултрасонографските (US) карактеристики на туморот на иницијалниот преглед и според наодите утврдивме дека во најголем број на случаи или 60,5% од пациентите биле со присуство на еден јазол во тироидната жлезда, а во 39,5% имале мултинодозна струма на иницијалниот US преглед. Од вкупниот број на случаи со предоперативен US наод, издвоивме две групи на пациенти, односно група со дефинирани промени во описот и група без јасно демаркирана морфолошка лезија во описот, а која се класифицираше како група

од окултни тумори. Во групата на окултни лезии од иницијалниот US преглед беа вклучени само 12 случаи, односно 3,7%, од кои 10 биле со ПТК, а само 2 припаѓаат во групата на останати поретки хистопатолошки типови на ТК. Статистичката анализа не покажала значајна поврзаност меѓу бројот на јазли на иницијален US преглед и хистопатолошкиот тип на тумор.

Според димензиите на примарниот тумор направена е анализа на трендот во дијагностика на ТК и увидено е дека постои намалување на фреквенцијата на дијагностицирање на туморите со димензии над 51 mm за 50% во последниот 4-годишен анализиран интервал (2011 - 2015), споредено со претходниот 6-годишен интервал (2005 - 2010), додека за 18% се намалил трендот на дијагностицирање на оваа група тумори во периодот 2005 - 2010, споредено со 1999 - 2004 година. Овој податок укажува дека делумно детектираниот тренд на пораст во инциденцијата на ТК во нашата популација се должи и на подобрена и порана дијагностика на истите. Во прилог на овој факт е и податокот од нашата анализа, кој покажува дека најголем тренд на пораст во периодот 1999 - 2015 има за мултицентричните тумори, што може да се должи на современите трендови во хистопатолошката анализа, а по што следи со најголем пораст дијагностиката на тумори помали од 15 mm.

Податоците од нашата студија корелираат со трендовите и податоците објавувани во литературата, а во кои се бележи најголем пораст во групата на папиларни микрокарциноми [126-128]. Во литературата постојат и спротивни податоци на нашите, а во кои покрај порастот на тумори со мали димензии, во помала мера сепак се бележел тренд на пораст и во останатите категории на тумори [129]. Категоријата на ТК со димензии под 1,5 cm, првично опишувани како категорија на окултни ТК, според класификациониот систем предложен од СЗО е променета во категорија на микрокарциноми [133]. Високата фреквенција на оваа категорија на ТК со мали димензии ја интензивираше потребата од анализирање на оваа категорија на тумори, особено од аспект на терапевското дејствување. Група автори истражувале повеќе аспекти кај категоријата на микрокарциноми, вклучувајќи во студијата тумори со димензии од само 0,1 mm до 10 mm и утврдиле присуство на капсуларна инвазија во дури 26,8% од случаите, како и инволвирање на лимфни јазли на иницијална презентација кај дури 11,9%, мекоткивно инфилтрирање во вратна регија кај 12,1% и мултицентричност во 31,7%. Во истата студија е истражувана експресијата на p53 протеин, бидејќи е познато дека прекумерната експресија на p53 и мутациите во p53 тумор супресорниот ген се почесто детектирани во ЛДТК и АТК и се асоцирани со полош прогностички тек кај ТК. Анализата покажала присуство на p53 во 34,5% од микрокарциномите во анализиранот примерок. Според тоа иако димензијата на туморот е значаен прогностички фактор, податоците укажуваат дека микрокарциномите не можат да се третираат како апсолутно биолошки индолентни типови на ТК. Односно потребно е детално хистопатолошко и молекуларно профилирање на микрокарциномите за да може да се примени правилен индивидуализиран терапевски пристап [134].

Во поглед на ехогеноста, во нашиот анализиран примерок ТК најчесто биле опишувани како хипоехогени и нехомогени лезии, а анализата не покажала статистички сигнификантна асоцираност на ехогеноста на јазлите со пооделни хистопатолошки типови на ТК. Значајно е да се напомене дека МТК во најголем процент од случаите (70%) бил опишан како хипоехогена туморска лезија, додека анехоген изглед (цистичен јазол) не е опишан во групата на АТК, кај ФТК, МТК и други поретки типови со само по 1 случај, а во групата ПТК е најфреквентно детектиран со 9 случаи, односно во 4,48% од дијагностицираните ПТК.

Како посебна ултрасонографска карактеристика беше евалуирано и присуството/отсуство на калцинации во туморот на иницијалниот US преглед. Според нашите податоци, калцинации биле опишани во иницијалниот US наод само кај 93/422 пациенти (33,6%). Најфреквентно опис на калцинации се сретнува во US наодите од АТК и тоа во 66,7%, а најретко во МТК, само во 10%. Можна лимитација во овој анализиран параметар е ретроспективниот начин во собирањето на податоците, отсуство на усогласени критериуми во ултрасонографскиот опис во медицинската документација.

Постојат многубројни студии кои ги истражувале US предиктивните карактеристики, а веќе постојат и препораки од ETA и ATA за систем на бодување познат како TIRADS систем [64-66]. Butros R и сор., ги анализирале предиктивните US карактеристики за ТК кај субсантиметарски лезии во тироидната жлезда и утврдиле дека хипоехогеноста и придружна лимфаденопатија во вратна регија се независни сигнификантни карактеристики за малигнитет [135]. Препораките во TIRADS системот за бодување на суспектноста на лезијата ги вклучува следните предиктивни ултрасонографски карактеристики: хипоехогеност на јазолот, ирегуларност на маргините (инфилтративен раст), облик на туморот односно повисока димензија во антеро-постериорен дијаметар во однос на кранио-каудалниот дијаметар на промената мерена на лонгитудинален пресек, васкуларизација (тип на васкуларизацијата), присуство на калцификати, содржина на промената (цистична, солидна, делумно цистична). Според наведените карактеристики се бодува промената и се вклучува во бенигна, ниско ризична, промена со интермедијерен ризик и високо ризична [64-66].

Во нашата анализа на иницијалниот преглед се детектирало засегање со болеста во регионалните лимфогландули во вратна регија кај 27,6%. Притоа статистички сигнификантна позитивна корелација со големината на туморот, односно поголеми тумори почесто биле асоцирани со дисеминација на болеста во локо-регионалните лимфни јазли. Додека во поглед на хормоналниот статус најчесто пациентите биле еутироидни, а најретко хипотироиден и супклинички хипотироиден хормонален статус бил регистриран и тоа само кај ПТК во 2 случаи, 1 АТК и 1 случај во групата на поретки хистопатолошки типови, што укажува на фактот дека зголеменото ниво на ТСХ иако има пролиферативен ефект, не дејствува како директен фактор во туморогенезата.



На инцијалниот преглед констатирани се далечни метастатски промени во белите дробови, кај 3,4%, а скелетни метастатски депозити на првиот преглед биле детектирани кај 2,35%. Додека во тек на следењето на пациентите нови секундарни депозити најчесто се регистрирани во локо-регионалните лимфни јазли и белодробни депозити, во 11,5%, додека многу ретко во тек на лекувањето се регистрирани скелетни депозити. Наодите укажуваат на фактот дека дијагностицирањето во мал број на случаи (5,8%) било во напреднат стадиум на болеста во нашата популација.

Покрај US предиктивните карактеристики, клучна дијагностичка метода која рутински се применува е ФНАБ, а подобрена со воведувањето на ултрасонографски насочена ФНАБ. Студиите говорат дека воведувањето на рутинскиот US скрининг, надополнет и со ФНАБ на се помали јазли е главната причина за порастот на инциденцијата на ТК [26, 28, 29, 136]. Нашите анализирани податоци покажаа висок процент на неодредени наоди (III/IV група), со учество од 23,89%, што корелира со објавените податоци од литературата кои се движат околу 15% – 20%, но изненадувачки е фактот и за големиот број од дури 26,11% на наоди од I група, а кај кои дополнително по направената оперативна интервенција, поради големината на струмата, хипертиреоза или на повторените ФНАБ се докажани случаи на ТК. Најголем број на лажно негативни наоди има во групата на ФТК и во групата на поретките типови на ТК. Причината за големиот број на лажно негативни наоди кај ФТК е разбирлива и може да се објасни со фактот што во некои случаи за диференцирање на фоликуларните аденоми од ФТК е потребно докажување на постоење на капсуларна и васкуларна инвазија, што може да биде посебен предизвик кај минимално инвазивните ФТК [4, 136]. Високиот процент на наоди во I gr, а во која се вклучени и наодите од II gr според Bethesda, односно бенигни и неадекватните во поглед на целуларност (ацелуларни) примероци се должи на долгиот временски анализиран период кој го вклучува периодот пред воведување на препораките од одржаната научна конференција во 2007 година, а чија поширока примена во центрите започнува дури од 2009 година, така што значаен дел од нашата анализирана популација од 1999 до 2012 година не е според овој систем на класификација на цитопатолошките наоди. Во литературата лажно негативната рата на наоди од ФНАБ, односно наоди кои се протолкувани како негативни, бенигни, а всушност се докажало дополнително малигна болест се движат меѓу 1,5% и 11,5% [74]. Оттука нашиот процентуален сооднос од 26,11% наоди од I gr, веројатно во голема мера се должи и на присуството на ацелуларни, недијагностички наоди вклучени во оваа категорија. Gharib и сор. во својата публикација, дава податок за сензитивност од 83% (65% – 98%) и специфичност од 92% (72% - 100%) за ФНАБ [74].

Пресметаната сензитивност според нашите анализирани податоци изнесува 65,7%, а специфичноста 50%, позитивна предиктивна вредност 56,9%, а негативна предиктивна вредност 59,2%. Muratli A. и сор., спровеле опсежна студија на 1607 примероци од ФНАБ кои биле класифицирани според Bethesda системот на бодување и од нив добиен е во 126 случаи хистопатолошки наод од оперативна интервенција, како златен стандард

со кој биле компарирани наодите од ФНАБ. Пресметаната сензитивност изнесувала 87,1% и специфичноста 64,6%, додека позитивната и негативната предиктивна вредност соодветно изнесувале 76,1% и 79,5%, а точноста на методата 77,3%. [136, 137]. Резултатите се разликуваат и од проспективната студија спроведена на нашиот институт во периодот 2012 - 2013 година од Majstorov V., кога се евалуирани цитопатолошки вкупно 684 нодуси, 78 пациенти од испитаните со ФНАБ се хируршки лекувани и хистопатолошкиот наод е употребен за споредба и евалуација на наодите од ФНАБ. Наодите од оваа студија покажале сензитивност од 87,5%, специфичност од 92,5%, позитивна и негативна вредност и точност на методата соодветно од 67,7%, 67,7% и 76,3%. [138].

Причините за разликата во опишаната точност на методата во нашата анализа се должат веројатно и на неколку лимитации, како што е ретроспективниот карактер на студијата, долгиот евалуиран период во кој постои промена во класификациониот систем за толкување на цитопатолошките наоди, воведување на ултрасонографски водена ФНАБ во последните години, а која се разликува во дијагностичката точност од ФНАБ без ултрасонографско водење [138]. Еден ограничувачки факт е што нашата анализа ги вклучи само потврдените малигни наоди, без да се земат во предвид бенигните промени за одредување на точноста на методата, а втор ограничувачки момент е фактот што во анализата е вклучен долг временски период од 17 години, за време на кој се применети различни критериуми за бодување на наодите, односно воведување во последните години на Bethesda класификациониот метод, трет момент кој може да внесува грешка во анализата е фактот што до 2012 година ФНАБ методата е изведувана со техника на слободна рака и без ултрасонографско наведување, додека од 2012 година е започнат методот со ултрасонографско водење на апсирационата биопсија. Последен момент е фактот што по воведувањето на ултрасонографски водената апсирациона биопсија постои ефект на крива на учење, кој секако дека делумно влијаел на адекватноста на примерокот земен за анализа.

Zhong LC и сор., ја анализирале исто така ефикасноста на ФНАБ во евалуирањето на јазли со различни димензии. Во студијата на Zhong LC и сор. е анализирана е точност, сензитивноста, специфичност, лажно позитивните и лажно негативните наоди меѓу три групи на јазли, 5 mm, 5 – 10 mm и > 10mm и заклучено дека нема статистички сигнификантна разлика во наодите меѓу трите анализирани групи, но една од лимитирачките карактеристики на студијата е краткиот временски интервал на следење на пациентите од само 1 година на пациентите со бенигни наоди на ФНАБ. Оваа група автори наоѓаат несигнификантна разлика во сензитивноста, специфичноста, точноста, позитивната и негативната предиктивна вредност меѓу анализираниите групи и според нивните податоци за групата на јазли > 1 cm вредностите изнесуваат за сензитивноста 91,3%, специфичност 93,4%, точност 92,7% и позитивна и негативна предиктивна вредност соодветно 85,7% и 96,1% [139]. Corapcioglu и сор., во својата студија детектирале малигнитет во само 43,8% од подоцна хистопатолошки докажаните микрокарциноми, што значајно се разликува



од објавените податоци на претходните автори [134]. Можеме да заклучиме дека постои голема варијабилност меѓу центрите во поглед на објавените податоци за дијагностичката точност на ултрасонографски водената ФНАБ, но сепак изолирано од останатите рутински дијагностички процедури ФНАБ се карактеризира со најголема сензитивност и специфичност, поради што најголем дел од клиничарите во рутинската пракса се потпираат во одлуката за понатамошното тераписко менаџирање токму на цитопатолошкиот наод, но мора да се напомене дека значаен процент на недијагностички и еквивокални наоди се голем проблем. Фреквенцијата на малигни промени во оваа подгрупа според некои студии се движи 26,6% - 37,8%, а во нашата анализа високи 23,89% од неодредените наоди биле всушност ТК, поради што се советува комплементарен пристап во следењето на тироидните јазли со анализирање на сите дијагностички информации [140, 141].

### 8.1.3 Анализа на предиктивните прогностички параметри

За да ги согледаме можните релации меѓу бројните параметри и агресивноста на болеста и прогнозата ја анализираме предиктивната улога на следните параметри во појавата на далечни метастаски депозити во тек на следењето: возраста ( $\leq 45$  и  $>45$  години), полот, димензијата на туморот на иницијалниот ултрасонографски преглед, ехогеноста на туморот, фамилијарната анамнеза за тироидно заболување, хормоналниот статус на иницијалниот преглед и хистопатолошкиот тип на туморот. Резултатите од униваријантната и мултиплата логистичка регресиона анализа покажа сигнификантно значење на димензијата на туморот и хистопатолошкиот тип на туморот како независни предиктори за појава на далечни метастази, односно се потврди дека туморите со димензии 15 - 50 mm,  $> 51$  mm и мултицентричните тумори се сигнификантно почесто асоцирани со појава на далечни метастази, споредено со групата на тумори со димензии  $< 15$  mm на иницијалниот преглед, наод што ја потврдува значајноста на раната дијагностика. Ваквиот наод ја оправдува потребата од рана ултрасонографски водена ФНАБ на помали лезии, бидејќи на тој начин се овозможува рано дијагностицирање на болеста и подобра прогноза. Во нашата анализа исто така се покажа дека присуството на мултицентричност исто така ја зголемувало појавата на секундарни депозити. Фактот што кај ПТК е честа појавата на мултицентричност на туморот, води до заклучок дека кај оваа група малигноми има потреба од лекување на болеста со тотална тироидектомија. Мултицентричните папиларни карциноми се чести, а нивното прогностичко значење е недообјаснето. Долго се сметале дека се интражлездени метастаски депозити, но молекуларните анализи покажале дека всушност се работи за посебни *de novo* тумори. Односно во студија во која биле вклучени 17 пациенти со мултицентричен папиларен карцином со RET/PTC реаранжирања, кај 15 биле идентификувани различни типови на овие генетски реаранжирања, што укажувало дека во суштина се работи за посебни тумори кои се развиваат независно во организам во кој постои генетска склоност и соодветни надворешни влијанија [142].

Другиот независен предиктор за појава на метастази во тек на следењето е хистопатолошкиот тип на туморот, односно меѓу ДТК групата ФТК е статистички сигнификантно асоциран кај нашите испитаници со појава на метастази, односно кај ФТК е 2,568 пати поголема веројатноста за метастази споредено со ПТК. Lee EK и сор., го истражувале значењето на одредувањето на сТг како потенцијален биомаркер во диференцирањето на ФТК од бенигни лезии во тироидна жлезда во строго селектираната категорија на пациенти со наоди од ФНАБ во прилог на фоликуларна неоплазма или суспектни за фоликуларна неоплазма, а исто така со примена на мултиваријантна анализа и логистичка регресиона анализа се истражувани можни предиктори за малигнитет. Во студијата е утврдено дека помеѓу двете групи бенигните и малигни промени немало разлика во поглед на дистрибуцијата по пол, возраста и ТСХ вредноста, додека ризикот за малигнитет се зголемувал со зголемување на димензијата на туморот, со одредена *cutoff*-вредност  $> 1,7$  cm и предоперативно одредуван сТг  $> 70$  ng/ml (OR = 3,245, 95% CI 1,115 – 9,450,  $p = 0,038$ ), сензитивност 67,7% и специфичност 60,7%, додека во случаите со сТг  $> 100$  ng/ml, при која било димензија на јазолот, е асоцирано со повисок ризик за малигнитет [143]. Како што покажа и нашата анализа ФНАБ наодите токму во групата на ФТК беа со најголем процент на лажно негативни наоди, па предизвикот е нивно навремено дијагностицирање, со оглед на покажаната поголема агресивност и полош прогностички тек споредено со групата ПТК. Од овие причини постои се поголем интерес во воведување на нови биомаркери кои ќе се користат како комплементарни дијагностички методи на US и ФНАБ.

Поради тоа во вториот дел од нашето истражувањето го анализиравме значењето на одредувањето на транскрипти на тумор специфични гени во периферна крв како маркер во мониторирањето на болеста, а истите анализи би биле применливи и како дополнителни методи во диференцијална дијагноза на бенигни фоликуларни аденоми, од фоликуларни карциноми, кои поради васкуларната инвазија би очекувале да резултираат со повисока експресија на тумор специфичните траскрипти во примерокот на периферна крв.

Големината на туморот е познат прогностички фактор кај ДТК, но постојат и студии кои доше до сосема спротивен наод, како во анализата на Rouxel Agne's и сор., во која ниту со униваријантна, ниту мултиваријантна анализа не докажале сигнификантна поврзаност на димензијата на примарниот тумор со преживувањето. Во нивната серија на пациенти, кај 3/17 пациенти со микрокарцином починале [144]. Клиничките искуства покажале дека големината на туморот не секогаш корелира со биолошката агресивност и прогнозата на ДТК. Ваквите согледувања, но и напредокот на молекуларните техники, ја наметнува потреба од нова класификација на ТК, во која е потребна детална хистопатолошка евалуација со молекуларно генетско профилирање и класифицирање на туморот, а со тоа индивидуализиран тераписки пристап, моделиран според генетскиот мутациски туморски профил.

Исто така ја анализиравме предиктивната улога на повеќе фактори со вкупно применетата доза на радијодната терапија, како неповолен прогностички параметар во тек на следењето на ТК. Испитувани беа истите параметри како и претходно и со униваријантната линеарна регресиона анализа, се утврди сигнификатна предиктивна вредност за возраста, полот, димензијата на туморот на иницијалниот преглед и хистопатолошкиот тип и вкупната доза на радиојодна терапија, а кога сите параметри беа анализирани со метод на мултиплина регресиона анализа повторно се потврдија двата независни значајни предиктори за вкупната доза на радиојодна терапија, и тоа димензијата на туморот на иницијалниот преглед и хистопатолошкиот тип на тумор. Односно се утврдило дека зголемувањето на димензијата на туморот за една група ја зголемува вкупната радиојодна терапија за 15,038mCi.

Во поглед на преживувањето се констатира вкупно просечно преживување за сите ТК од 212,99 [95% CI (204,6 – 221,4)] месеци. Анализирани се влијанието на седум независни параметри врз исходот на болеста, и тоа полот, возраста, присуство на зголемени лимфни јазли на иницијален преглед, број на радиојодни терапии, вкупна доза на примени радиојодни терапии, временскиот период од операција до аблација и хистопатолошкиот наод. Коксовиот соодносен модел, како сигнификантни предиктори за времето на преживување, издвои четири параметри: возраст, зголемени лимфни јазли на прв преглед, бројот на радиојодни терапии и хистопатолошки наод. Возраста >45 години во однос на онаа ≤45 години, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 42,9% секој месец (Коксовиот соодносен модел: Exp (B) (HR) = 8,429 [ $p = 0,005$ , 95% CI = 1,933 - 36,759]). Хистопатолошки наод Ca folliculare во однос на Ca papillare, сигнификантно ја зголемува ( $p < 0,05$ ) веројатноста за настанот (смрт) за 46,2% секој месец (Коксовиот соодносен модел: Exp (B) (HR) = 6,462 [ $p = 0,003$ , 95% CI = 1,851 - 22,557]). Други поретки типови во однос на Ca papillare, сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 26,7% секој месец (Коксовиот соодносен модел: Exp (B) (HR) = 41,267 [ $p = 0,003$ , 95% CI = 4,527 - 376,172]). Ca anaplasticum во однос на Ca papillare, сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 22,4% секој месец (Коксовиот соодносен модел: Exp (B) (HR) = 40,224 [ $p = 0,000$ , 95% CI = 9,164 – 176,559]). Причините за добиената помала веројатност за настанот смрт во категоријата на Ca anaplasticum и други поретки типови на тумори споредено со Ca papillare се должи на поголемата варијабилност на податоците во времето на следење кај пациентите од групата Ca anaplasticum и други поретки типови на тумори, а кај кои има поединечни случаи со многу подолго следење, поради претходна дијагностицирана бенигна тироидна болест (бенигна струма), а во текот на следењето се дијагностицира Ca anaplasticum, односно тумор од групата на поретки тироидни малигноми, веројатно како резултат на дополнителни генетски промени кои доведуваат до малигна трансформација, поради што е тешко да се одреди точниот момент на почетокот на заболувањето.

Околу 80% од пациентите со ДТК се излекувани по иницијалната терапија и имаат одлична прогноза [26]. Во нашата студија 98% од пациентите со ПТК преживуваат повеќе од 16 години, додека прогнозата за ФТК е полоша и само 59% од пациентите преживуваат повеќе од 13 години. МТК во 94% според Kaplan – Meier кривата покажуваат преживување повеќе од 12,5 години. Mazzaferrì и сор., во својата студија вклучиле 213 пациенти со ДТК, од нив 75% биле со комплетен одговор на терапијата по 12 месеци, а кај дополнителни 12% со дополнителна терапија бил постигнат одличен одговор. Со статистичка анализа истата група автори процениле дека кај 1510 пациенти, без иницијални далечни метастази, веројатноста за смртен исход од болеста се зголемувала со повеќе фактори, како возраст над 40 години, големина на туморот над 1 cm, локална туморска инвазија или иницијални метастази во вратните лимфни јазли, фоликуларна хистологија и одложување на терапијата за подолго од 12 месеци, а се совпаѓа и со наодите од нашата анализа. Како и во нашата студија исто така и во анализата на Mazzaferrì и сор. женскиот пол и радиојодната терапија се независни прогностички предиктори. Овие податоци сепак укажуваат од потребата за внимателна инцијална ризик стратификација на пациентот и соодветна иницијална терапија [142].

Прогностичкото значење на ограничени лимфни метастази останува контроверзно прашање кај пациентите со ДТК. Во неколку студии е утврден зголемен ризик за локални рецидиви, а во нашата анализа утврдиме постоење сигнификантна корелација меѓу присуството на метастази во лимфните јазли на прв преглед и вкупната радиојодна доза во тек на терапиското следење на пациентите, што укажува на почести рецидиви кај оваа група пациенти [145]. Поради овие наоди постои сè уште дискусија околу хируршкиот пристап во поглед на лимфаденектомијата и нејзината екстензивност. Моменталните ставови се поделени во насока на лимфаденектомија билатерална во централен компартман и/или модифицирана дисекција на латерален компартман, доколку се детектира зголемени лимфни јазли предоперативно или интраоперативно, но постојат и хируршки центри со практика за профилатичка лимфаденектомија на централен компартман, како и проширена лимфаденектомија во сегмент III/IV, кај пациенти со ПТК [10, 26,72].

## 8.2 Дискусија за вториот дел од истражувањето

Долг период по воведувањето на лабораториската анализа одредување на серумски тиреоглобулин (сТг) во следењето на ДТК, не е воведена дополнителна лабораториска анализа која би помогнала во следењето и дијагностиката на оваа група пациенти. Потребата од нови молекуларни маркери за ДТК постои особено кај пациентите со покачени анти тиреоглобулински антитела (аТг) кои ја ограничуваат примената на имунохистохемиската анализа на одредување сТг. Според податоците од литературата, во 25%-30% од пациентите перзистираат присутни аТг, а во нашата студија утврдивме кај 17 пациенти од вкупно 167 кај кои имавме податок за одредување на аТг (10,2%). Анализите покажале дека 1 g нормално тироидно ткиво резултира со сТг од приближно 1  $\mu\text{g/l}$  кога ТСХ е во нормални референтни вредности, а околу 0.5  $\mu\text{g/l}$  кога вредноста на ТСХ е супримирана, но на релевантноста на вредноста на сТг влијае и времетраењето на хипотироидната состојба, односно на ТСХ стимулацијата. Највообичаената метода за одредување на сТг е имунометриска, но на резултатите влијаат повеќе фактори како што е употребата на CRM-457 интернационален стандард, интеранализната прецизност, доволно ниска сензитивност и на мали ткива при ТСХ супресија, поради што се советуваат сериски мерења на сТг во тек на следењето на пациентот и одредување на трендот на промена на сТг и постои силна препорака од тие причини сериските мерења да се изведуваат во истата лабораторија [146].

Потребата од нови молекуларни биомаркери за заболувањето се зголемува и со промената во терапискиот тренд, според новите препораки на АТА 2015, укажува на рационализирање во хируршкиот пристап и препораките за исклучување на радиојодната аблација во ниско ризичната група пациенти со ДТК [26]. Оттука сТг, особено кај оваа група пациенти би имал извесни ограничувања, поради присуството на остаточен тироиден паренхим [147]. Инспирирани од слични стратегии во други онколошки заболувања, како кај карциномите на простата, дојка и колон, кај кои се опишани позитивни искуства во примената на одредување на циркулирачки туморски клетки во периферна крв со молекуларни методи на детекција, се иницираа истражувања за детекција на циркулирачки туморски клетки во периферна крв и кај пациентите со добро ДТК. Детекцијата на периферните циркулирачки туморски клетки се темели на принципот за мерење на експресија на тумор специфични транскрипти во примерокот, под претпоставката дека експресијата на транскриптите за соодветните гени е специфична за соодветниот тип на клетки и дека нема присуство на значајна количина тироидни клетки во циркулацијата кај здрави лица. Во нашата студија ја истражувавме можноста за детекција и семиквантитативно одредување на експресијата на транскрипти за *TSHR* и *Tg* во периферната крв кај пациенти со добро ДТК и здрава контролна група со цел да го истражиме потенцијалното значење на овие анализи како нови биомаркери.

Од откривањето на ПВР од страна на Cary Mullis во 1985 година се создадоа услови за брз развој на низа нови модификации на оваа техника, кои најдоа голема примена во

молекуларната биологија, но и голема апликативна вредност во различни медицински, но и други дисциплини. Покрај техниката на геномско ДНК секвенционирање, се развива и истражувањето на *mRNK* секвенци со ПВР методологијата. Мерењето на *mRNK* изискува дополнителен чекор на конвертирање на РНК во кореспондирачка ДНК (*cDNK*), која понатаму се употребува во ПВР амплификацијата. За овој тип на реакции е потребен реверзна транскриптаза ензим, изолиран за првпат од ретровирусите. По добивањето на *cDNK* се продолжува со амплификација и со користење на флуоресцентна боја се овозможува детекција на ампликоните во реално време. Акумулирањето на ампликоните е проследено со засилување на флуоресцентниот сигнал [148].

Со примена на искуствата од претходните истражувачи ја искористивме методата на релативна квантификација на степенот на промена во генетската експресија со  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  пресметка, според методот воведен од Livak и сор. за да ја евалуираме релативната експресија на *mRNK-Tg* и *mRNK-TSHR* кај пациенти со ДТК и да ги анализираме овие вредности споредено со здрави контроли. Во групата на ДТК беа вклучени 40 испитаници, од кои 25 со ПТК, 7 со фоликуларна варијанта на ПТК, 4 со ФТК, по 1 пациент со микропапиларен карцином и ПТК во *Cysta ducti thyreoglossus* и 2 случаи со Hurtle cell карцином. Слично на стандардните протоколи за динамичка ризик стратификација опишани од Tuttle и сор., и модифицирани од Vaisman и сор. во тек на следење ги групиравме пациентите во три групи и тоа; а) група 1 со некомплетен структурен и биохемиски одговор, перзистирачка болест, со вклучени 22 испитаници, б) група 2 со некомплетен биохемиски одговор, со вкупно 6 испитаници од кои двајца пациенти во оваа група се со фамилијарно појавување на болеста, односно мајка и син со ПТК, а кај кои детектиравме перзистирачки покачени анти тиреоглобулински антитела, поради што беа вклучени во соодветната група, а кај останатите пациенти од истата група лесно покачена вредност на нестимулиран сТг и в) група 3 пациенти со комплетен одговор на спроведената терапија, во која вклучивме 12 испитаници, кои ни претставуваа прва контролна група во анализата [83, 90]. Група 4 во нашата анализа се здравите испитаници без наоди на спроведениот преглед за тироидно заболување и без фамилијарна историја за ТК, а кои ја претставуваат втората контролна група во истражувањето.

Во нашата анализа за експресијата на *mRNK-TSHR*, преку одредување на праговниот циклус за *mRNK-TSHR* и за контролниот референтен ген кој го применивме, ја добивме  $\Delta\Delta Ct$  вредноста за пресметка на  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  вредноста за изразување на степенот на промена во експресијата меѓу групите и од анализата детектиравме степен на промена во експресијата од 8,57 за група 1 пациенти споредено со група 4 на здрави контроли; степен на промена во експресијата од 5,37 за група 1 пациенти споредено со група 3 пациенти со комплетен одговор; степен на промена во експресијата од 14,17 кај група 2 пациенти во однос на група 4 (здравите лица) и група 2 имаа 8,88 повисок степен на експресија во однос на група 3.

Спроведовме и дополнителна интергрупна споредба во однос на просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот. Сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) се



утврди помеѓу: а) група 1/група 3 во прилог на повисоки вредности во група 3; б) група 1/група 4 во прилог на повисоки вредности во група 4; в) група 2 /група 3 во прилог на повисоки вредности во група 3; и г) група 2/група 4 во прилог на повисоки вредности во група 4.

Статистичката анализа на вредностите за  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот и заедно меѓу двете групи на пациенти со некомплетен одговор на терапијата група 1 + група 2 во однос на контролните група 3 + група 4, при што се утврдија пониски вредности за пациентите со некомплетен одговор, споредено со контролите, односно 50% од испитаниците во двете групи имале вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот консеквентно над 9,9 vs 12,1.

Анализата укажа на сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот меѓу двете групи (Mann Whitney U test:  $Z = -3,928$   $p = 0,00008$ ).

Податоците во нашата студија покажаа сигнификантно пониска вредност за  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот кај група 1 и група 2, споредено со група 3 и група 4. Според математичкиот израз кој го применувавме во пресметката може лесно да се воочи дека  $\Delta Ct$  вредноста е обратнопропорционална на степенот на експресија, односно можеме да кажеме дека пониската вредност за  $\Delta Ct$  кореспондира со повисок степен на експресија. Според податоците можеме да заклучиме дека во нашата анализа утврдивме статистички значајно повисока експресија на транскриптите за *TSHR* во периферната крв кај ДТК пациентите со некомплетен одговор на терапијата, споредено со контролните групи, односно кај пациентите со комплетен одговор на терапијата и здравите лица.

Анализата на експресијата за *mRNK-Tg* во нашата студија покажа највисока просечна вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот во група 3 (целосен одговор на терапија), а најниска во група 1 (пациенти со некомплетен одговор) и тоа за консеквентно  $10 \pm 2,6$  vs  $6,17 \pm 5,37$  со минимални вредности од 6,01 vs -5,49 и максимални вредности од 15,4 vs 15. Педесет проценти од испитаниците во овие групи имале вредности за  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот од 9,6 vs 7,97.

Направена е допнителна интергрупна споредба во однос на просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот. Статистички сигнификантна разлика се утврди помеѓу: а) група 1/група 3 во прилог на повисоки вредности во група 3; и б) група 1 /група 4 во прилог на повисоки вредности во група 4. Во група 1+ група 2 во однос на група 3 + група 4 просечна вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот изнесува консеквентно  $6,8 \pm 4,9$  vs  $9,8 \pm 2,5$  со минимални вредности од -5,5 vs 5,7 и максимални вредности од 15 vs 15,4. Кај 50% од испитаниците во двете групи имале вредности на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот над консеквентно 8,3 vs 9,6.

Тестираната разлика, укажа на сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот меѓу двете групи (Mann Whitney U test:  $Z = -2,413$   $p = 0,016$ ).

Резултатите покажуваат за експресијата на *mRNK-Tg* генот статистички сигнификантна разлика меѓу групите, во прилог на повисока експресија детектирана во група 1, споредено со група 3 и група 4.

Сепак доколку внимателно ги анализираме резултатите можеме да констатираме значајно препокривање на рангот на дистрибуција на вредностите меѓу групите на пациенти (група 1 и група 2) и контролните (група 3 и група 4), особено за *mRNK-Tg*, додека во помала мера за *mRNK-TSHR*. Од овие причини можеме да заклучиме дека методата има можна примена во следењето на пациентите со ДТК, но потребна е понатамошна анализа и развивање на стандарди за апсолутна квантификација, која би овозможила поставување на егзактна праговна вредност.

Методологијата на молекуларната техника РТ-ПВР во детекција на тироидни циркулирачки клетки во примероци на периферна венска крв, како индикатор за метастатски ТК е првично опишана од Ditzkoff и сор. во 1996 година и во наредните години следи пораст на публикувани истражувања во оваа методологија [149-152]. Покрај истражувања во насока на примена на методата во следење на ДТК, објавени се студии во кои се евалуира одредувањето на *mRNK-TSHR* кај пациентите со неодредени цитолошки наоди од тенкоиглената аспирациона биопсија на тироидни јазли. Истражувањата укажуваат на можно подобрување на точноста во дијагностиката и избегнување на непотребни хируршки интервенции [153, 154].

Во нашето истражување кај значаен дел, односно 50/57 вкупно испитаници, беше детектирана експресија на транскрипти и за *Tg* и *TSHR* генот, исклучок беа 7 случаи, од кои тројца пациенти од група 1, од кои двајца со недетектибилни транскрипти за *TSHR* и еден пациент со недетектибилни транскрипти за двата гени, еден пациент од група 3 со недетектибилни транскрипти само за *Tg* и два испитаника од група 4 со недетектибилни транскрипти за *TSHR* и еден само за *Tg*. Постојат неколку објаснувања за овој наод, односно отсуството на експресијата кај тројцата пациенти со некомплетен одговор на терапијата може да се должи и на можна дедиференцијација на туморот и губиток на експресијата на соодветните тумор специфични гени. Преку ТСХ активација ТСХ рецепторот ја остварува својата основна функција во регулацијата на тироцитната пролиферација, диференцијација, како и во функцијата и развојот на тироидната жлезда. Епително-мезенхималната транзиција, фенотипска конверзија, која е есенцијална во морфогенезата на органите и во развојот и ремоделирањето на ткивата, се детектира во неоплазмите и при карциномската прогресија. Епително-мезенхималната транзиција се поврзува со метастаскиот потенцијал на туморите, овозможувајќи дисеминација поради инвазивни, слични на стем клетки карактеристики на туморските клетки. Проучувана е експресијата на *mRNK-TSHR* во клеточните линии на ДТК и било утврдено дека ниска експресија била асоцирана со полошо диференцирани форми на ТК и со почеста појава на далечни метастази. Односно истите автори укажуваат дека ТСХР ја инхибира миграцијата и инвазијата на тироидните туморски клетки. Имено истата студија покажала дека добро



ДТК покажувале висока експресија на ТСХР, што пак ја инхибирало експресијата на два класични мезенхимални клеточни маркери N-cadherin and vimentin, додека кога постои стишување на *TSHR*, експресијата на N-cadherin and vimentin се обновува. Овие резултати укажуваат дека ТСХР ја супримира клеточната инвазија и метастазирањето на ТК преку инхибирање на епително-мезенхималната транзиција [155].

Mira Milas и сор., како тим на истражувачи со најголемо искуство во примената на одредување на експресијата на *mRNK-TSHR* во дијагностика на ТК дошле до сознание дека експресијата на соодветните транскрипти е пониска и недетектибилна, кај поагресивните форми на ТК, а како причина се наведува можна дедиференцијација или мутации во испитуваниот ген [147]. Додека од друга страна присуството на транскрипти кај здравите лица може едноставно да се претпостави дека се должи на присуство на циркулирачки тироидни клетки во периферна крв и кај здравите контроли или пак поверојатно на нелегитимна транскрипција или експресија на *Tg* и *TSHR* и во други клетки, од нетироидно потекло [137].

*TSHR* генот е лоциран на 14q31 хромозомот. Екстраклеточниот домен е енкодиран од првите 9 егзони, додека трансембранскиот и интрацелуларниот сегмент е енкодиран од последниот егзон. *mRNK-TSHR* транскрипти и/или протеини се детектирани во лимфоцити, ретроокуларни фибробласти, адипоцити, нервни клетки и астроцити, но вистинското физиолошко или патофизиолошко значење во овие екстратироидни регии не е сè уште разјаснето [156].

Постојат студии во кои е докажана експресија со неколку методи на *Tg* и *TSHR* во нетироидни клетки. Во литературата е опишана експресија на тироидни специфични гени во фиброцитите. Фиброцитите се клетки за кои е докажано дека имаат значајна улога во процесите на заздравување на повреда, со продукција на цитокини, хемокини, фактори на раст, неопходни за процесот на заздравување, како и нивната улога на антиген презентирачки клетки и во ангиогенезата [157].

Slominski и сор. опишале експресија на *mRNK-TSHR* во примероци од биопсија на кожа, во епидермални кератиноцити и во кератиноцити во фоликули од влакна, меланоцити, дермални фибробласти и фибробласти во фоликули од влакна. Cianfarani и сор. покажале со примена на квантитативна РТ-ПВР дека кератиноцитите во кожата и фибробластите покажуваат експресија на тироидни специфични гени, но во значајно пониски нивоа споредено со тироцитите. Оваа појава како што претпоставиле Chelly и сор. 1989, би можела да се должи на нелегитимната транскрипција на тироидни специфични гени во кожни клетки, но од друга страна во студијата на Cianfarani и сор. со примена на имунохистохемиски методи и Western blot докажано е барем за генот за *TSHR* дека има експресија на протеинско ниво во кожните биоптички примероци и во култивираниите кератиноцити и фибробласти, што ја отфрла како можност нелегитимната транскрипција, а се претпоставува дека се работи за физиолошка улога на ТСХР во кожните функции [158].

Fernando и сор., докажуваат експресија на *Tg* и *TSHR* во циркулирачки фибробласти, изолирани од еднојадрени клетки од периферна крв (PBMCs) кај здрави лица. Fernando и сор., докажуваат со неколку методолошки пристапи во своето истражување дека фиброцитите покажуваат експресија на *Tg* и на *TSHR*, односно со примена на Western blot техника е докажана експресија на Tg, како 305-kDa протеин, кој може да се имунопреципитира со анти-Tg антитела, како и синтеза на Tg во фиброцитите со примена на [<sup>35</sup>S]methionine кој се инкорпорира во новосинтетизируваниот Tg. Во истата студија е најдена пониска експресија на *Tg* и *TSHR* во орбиталните фибробласти кои се мешавина на CD34+ и CD34- клетки кај пациенти со Grawe's Basedow, а со понатамошните истражувања детектирале повисоки нивоа на *mRNK-Tg* и *mRNK-TSHR*, кај CD34+ фибробласти. Овие наоди укажувале на фактот дека хуманите фиброцити покажуваат експресија на повеќе „тироидно-специфични“ протеини, чија експресија меѓутоа се редуцира по инфилтрацијата на фиброцитите во различните ткива [159].

Друга можна причина како извор на грешка во методологија е појавата на alternative-splicing, опишано за *Tg* генот, односно присуство на splice-варијанти на *Tg*. Во литературата постојат податоци од повеќе студии кои спровеле слична анализа, но резултатите варираат драстично помеѓу различните истражувачки групи. Ringel и сор. ги анализирале можните причини за ваквата голема варијација во резултатите меѓу различните истражувачи. Тие утврдиле неколку можни причини, почнувајќи од разликите во применетиот број на циклуси во ПБР, селекцијата на прајмерите, изборот на контролниот „housekeeping“ ген и разликата во крајниот сегмент од процесот, односно квантификацијата на продуктите од анализата [152].

Значајно прашање во методологијата е соодветната селекција на прајмер паровите. Gupta и сор. во нивното истражување користеле неколку прајмер парови во различни егзони. Оваа група истражувачи утврдиле дека прајмерите за *TSHR* кои биле таргетирани од 6. – 9. егзон и 1 – 5 за *Tg* биле специфични за тироидното ткиво и без реактивност во нормалните периферни мононуклеарни крвни клетки (PBMCs) исклучувајќи ја на тој начин можноста за нелегитимна транскрипција [88,154]. Од наведените причини се одлучивме во нашата студија да ги примениме соодветните прајмер парови, како и во студијата на Gupta и сор [154].

Постојат студии во литературата кои со примена на стандард од стабилно трансфектирана со *mRNK-TSHR* клеточна линија, креирале стандардна крива за апсолутна квантификација на експресијата на транскриптот. На овој принцип процениле дека е возможна детекција на најмалку 10 туморски клетки во 1ml периферна крв, односно ја одредиле вредноста > 1 ng/μg за значајна за присуство на ТК. Првичните искуства на M. Milas и сор., во клиничката примена во 1758 примероци покажале дека методата е применлива во рутинската пракса, но дека нејзината сензитивност, специфичност и точност како метод не дозволува примена, како единствен златен стандард во потврдување или исклучување на болеста, но дека допринесува значајно како комплементарен дијагностички

метод со рутинските анализи, како ултрасонографскиот наод, скенот на целото тело и сТг во предоперативното идентификување на ТК, кај фоликуларните неоплазми, односно, фоликуларни лезии/атипии од неодредено значење (FLUS/AUS) наодите од ФНАБ, комплементарно со податоците за суспектни ултрасонографски карактеристики на лезијата и исто така и во постоперативно мониторирање на ТК за рецидив или прогресија на болеста [147].

Chinnappa P и сор. го анализирале присуството на *mRNK-TSHR* и *mRNK-Tg* кај 51 здрави лица, 67 пациенти со ДТК, 27 пациенти со бенигна тироидна болест и 8 пациенти со ДТК постоперативно, методологијата која ја примениле е слична на онаа што ја применивме во нашата студија (38 циклуси, *GAPDH* како референтен ген и истите прајмери за *Tg* и *TSHR*), освен крајната точка во методологијата на квантификација. Chinnappa P и сор. за квантификација примениле 2% гел електрофореза и визуелизација на продуктите со етидиум бромид бојење, а проценката на сензитивноста на тестот ја извеле со сериски разредувања на тироидна карциномска RNK, со RNK добиена од нормални моноклеарни клетки од периферна крв и процениле дека сензитивноста изнесува најмалку 10 туморски клетки во 1 ml крв. Резултатите од студијата на Chinnappa P и сор. покажале отсуство на *mRNK-TSHR* и *mRNK-Tg* во примероците на периферна крв од здравите индивидуи, што драстично се разликува од резултатите кои ги добивме во нашата студија и во нашата популација, како и објавиле многу висока сензитивност за *mRNK-TSHR* и за *mRNK-Tg* и специфичност од 98% и 92% соодветно, според резултатите од пациентите со и без позната метастатска болест и групата со бенигни тироидни промени [88]. Причината за високата сензитивност и специфичност, авторите на оваа студија ја објаснуваат со внимателната и соодветна селекција на прајмерите [88].

Контрадикторни резултати во експресијата на тироидните транскрипти се добиени во различни студии. Првичните истражувања биле насочени кон одредување на транскрипти на *Tg* генот. Првичната студија на Ditzkoff и сор., демонстрирала присуство на транскрипти за *Tg* во периферна крв кај 9/9 пациенти со позната метастатска болест, кај 5/22 пациенти со позната лекувана метастатска болест и кај 2/56 пациенти без метастази, а кај ниеден од здравите контроли. Подоцна во 1998 година Takano и сор., исто така ја анализирале корисноста од одредувањето на експресијата на транскрипти за *Tg* и утврдиле присуство кај 15/24 пациенти со ТК, 4/20 пациенти со бенигна тироидна болест и отсуство кај контролната здрава група, но по зголемувањето на бројот на циклуси во ПВР од 30 на 40 циклуси, детектирале експресија и кај сите здрави контроли, но и кај 10 хумани клеточни линии. Овој наод укажува дека експресијата на транскрипти за *Tg* не е ексклузивна само кај ТК, и дека во пониски концентрации овие транскрипти се детектибилни и во периферна крв кај здрави лица и дека тоа делумно се должи на нелегитимната транскрипција [160]. Војунга и сор., во својата студија исто така ја анализирале експресијата на транскрипти за *Tg* и во други хумани клеточни линии и утврдиле дека со ПВР до 30 циклуси детектибилни биле транскрипти за *Tg* само во тироидно ткиво, додека, со 40 циклуси веќе детектирале

експресија и во тимус, надбубрежна жлезда, дуоденум, бели дробови, тестиси и апендикс [161].

Причините за разликите во резултатите во различните истражувачки групи се должат на многубројни фактори, како што е разликата во пристапите на RNK изолацијата, разлики во применетите прајмери, начинот на квантификација и изразување на резултатите.

По студиите кои покажале дека транскриптите за *Tg* се со ниска специфичност, односно се наоѓаат и во циркулацијата на здрави лица, истражувачите го ориентирале својот интерес кон одредување на експресијата на транскрипти за други тироидни специфични гени, како *TSHR*. Savagner и сор. укажале дека со соодветна квантификација може да се применат во детекција на резидуална болест или рецидив, но и на фактот дека алтернативните сплајсинг варијанти на *mRNK-Tg* корелираат со тироидниот волумен и висината на ТСХ [86, 162].

По истражувањата на експресијата на *mRNK-Tg*, се анализирани и други транскрипти, како *TSHR*, натриум-јодидниот симпортер (*NIS*), тироидна пероксидаза (*TPO*). Анализите за *mRNK-TSHR*, покажале присуство на помали *TSHR* транскрипти во хуманите лимфоцити поради што Gupta и сор., ја истражувале специфичноста на различните прајмери, кои ќе покажат специфичност за тироидното ткиво, но отсуство во нормалните периферни мононуклеарни клетки. Истражувале 4 прајмери, првите таргетирани за 9. и 10. егзон (873 - 1371, 498 bp), вториот и третиот за 10. егзон (1365 - 1851, 486 bp) и (1813 - 2316, 503 bp) и четвртиот за 6. до 9. егзон (555 - 767, 212 bp). Нивната студија покажала детектибилни транскрипти кога биле употребувани прајмерите за 10. егзон и во нормални лимфоцити, додека не се амплифицирале транскрипти при примена на четвртиот пар прајмери таргетирани за 6. до 9. егзон. Тоа беше и причината поради која и во нашата студија се одлучивме за посочениот пар прајмери за *TSHR* [163].

Wingo и сор., во својата студија утврдиле сензитивна анализа со квантитативен пристап во која детектирале *mRNK-Tg* и кај здравите контроли, а исто така прикажале голем ранг на варијабилност во резултатите, што може да се должи на фактот што не примениле нормализација на таргет генот во однос на референтен ген, поради што неможе да се дискутира околу причината за големата варијабилност во нивните резултати [164].

Една причина за големата варијабилност во резултатите може да биде и различната РНК екстракциона ефикасност и разлики во ефикасноста на РТ – ПВР.

М. Eszlinger и сор., спровеле студија во која ја анализирале експресијата на *mRNK-Tg*, кај пациенти со и без метастатска болест, здрави контроли и пациенти со автоимуна тироидна болест. Една од целите во анализата била одредување на ефикасност во изолација на RNK од различни примероци на периферна крв со различни антикоагуланси и со изолација на мононуклеарниот слој на клетки. Како ендоген референтен ген за нормализација го користеле  $\beta$ -актином, а *GAPDH* за евалуирање на ефикасност на RNK изолацијата. Исто така во својата студија креирале стандардна крива со серија на дилуции на плазмиди со клониран ПВР фрагмент во PGEM – Т вектор (Промега). Во нивната студија

не детектирале статистички сигнификантна разлика меѓу ниедна од анализираните групи, односно меѓу пациентите со и без метастаска болест, како меѓу пациентите и здравите контроли. Една можна причина за ваквите наоди, како што наведува и Војунга и сор., е експресијата на *mRNK-Tg*, и во други нетироидни клетки, како тимус, надбубрежни жлезди, дуоденум, бели дробови, тестиси, апендикс. Заклучокот на студијата на Markus Eszlinger и германските автори е дека детекцијата и квантификацијата на *mRNK-Tg*, од овие причини не претставува соодветна алтернатива за следење на пациентите со ДТК [165].

Savagner F и сор., во својата анализа ги истражувале можните ефекти на алтернативен сплајсинг (alternative splicing) со тоа што употребиле два различни прајмер парови од два непрепокривачки региони на *Tg* генот, првиот во 10. и 11. егзон во кои не е опишан феноменот на алтернативен сплајсинг и вториот 6. и 7-ми егзон, а во кои сегменти е опишан алтернативен сплајсинг. Оваа група истражувачи утврдиле дека алтернативните варијанти на *mRNK-Tg* претставуваат околу 30% од севкупната *mRNK-Tg* и кај контролите и пациентите [86]. Друга разлика споредено со методологијата во нашата студија е крајниот момент на квантификација. За разлика од нашето истражување во кое се одлучивме за одредување на релативната експресија, во студијата на Savagner и сор. е употребена апсолутна квантификација и генерирање на стандардна крива од серија на дилуции  $10^2$ - $10^5$  копии на *Tg-cDNK*, создадени преку плазмиди кои содржат соодветна *cDNK* инсертирана како темплејт. Како праговна *cutoff*-вредност за ТК пациентите била земена вредноста над  $1\text{pg } mRNK-Tg/\mu\text{g}$  тотална RNK. Во истата студија утврдиле средна вредност од  $10,6 \pm 3,1\text{pg } mRNK-Tg/\mu\text{g}$  тотална RNK кај здрави контролни индивидуи [86].

Во нашата анализа ја корелиравме висината на сТг со  $\Delta\text{Ct}$  вредноста и добивме силна сигнификантна негативна корелација, односно со зголемување на вредноста на серумскиот тиреоглобулин се намали разликата на праговните циклуси за ампликоните за *TSHR* и праговните циклуси за контролниот ген. Намалувањето на  $\Delta\text{Ct}$  вредноста е во прилог на зголемена експресија на испитуваниот ген. Ваквиот наод укажува на фактот дека со покачувањето на сТг како моментален лабораториски стандард се поставува сомнение за локален рецидив или далечни метастаски промени кај пациентот и дека кај соодветната група пациенти имаме повисока експресија на *TSHR* во примероците од периферната крв, додека корелацијата на сТг со  $\Delta\text{Ct}$  вредноста за *Tg*, покажа исто така сигнификантна умерена негативна корелација, односно, порастот на вредноста за сТг, корелира умерено со експресијата на *Tg* во периферната крв.

Бидејќи во следењето на пациентите со ДТК, покрај одредувањето на сТг, значајна улога како стандардни методи се и ултрасонографски преглед во вратна регија и дијагностички или посттераписки скен на целото тело со радиојод, направиме анализа на наодите од вклучените пациенти во истражувањето, а според кои наоди и пациентите беа стратифицирани во соодветните групи.

За да ја провериме корелацијата на експресијата на транскриптите во периферната крв со наодите од визуелизационите техники, ги бодувавме според тежина наодите од US



преглед и скенот на целото тело (WBS), односно, доколку пациентите немаат остаточено ткиво и немаат зголемени лимфогландули во вратната регија и имаат негативен скен на целото тело се бодувани со 0, присуство на остаточено тироидно ткиво, без наод на метастаски промени со 1, наод на лимфогландули зголемени во вратна регија со 3 и присуство на далечни метастази (бели дробови/скелет) со 4.

Корелацијата на US/WBS со  $\Delta C_t$  вредноста за *TSHR* и *Tg* генот покажа иста така сигнификантна негативна умерена корелација за двата транскрипти. Односно нашите наоди укажуваат на повисока експресија на транскриптите за *TSHR* и *Tg* генот кај пациентите со докажани присутни метастази во вратна регија или далечни метастатски промени.

Од вкупно 40 вклучени пациенти, кај 31 имаше податок за иницијалниот постоперативен стадиум на болеста според TNM класификациониот систем при што 15 беа во стадиум I, 2/стадиум II, 4 /III, 1/IV, 5/ IVa, 4/IVc. Корелацијата на експресијата на транскриптите за *TSHR* и *Tg* генот покажа несигнификантна негативна корелација, односно несигнификантно повисока експресија на транскриптите за двата иследувани гени во периферната крв кај пациентите кои примарно биле дијагностицирани во повисок стадиум на болеста. Несигнификантноста во оваа корелација е возможно да се должи на различното време на следење на пациентите кои беа вклучени во иследуваната група, а кое варира од 1 месец од поставување на дијагнозата до 405 месеци од моментот на поставување на дијагнозата и земањето на крв за анализата, односно вклучување на пациентот во студијата. Исто така постои можност за помала експресија на иследуваните гени кај поагресивните форми на ТК или појавата на дедиференцијација на туморот во еволуцијата на болеста. Во корелацијата на вкупно применетата радиојодна терапија и експресијата на транскриптите добивме дека постои несигнификантна слаба позитивна корелација, односно зголемувањето на применетата радиојодна доза слабо и несигнификантно корелира со зголемување на  $\Delta C_t$  вредноста и за *TSHR* и за *Tg* генот. Ringel и сор., го истражувале значењето на експресијата на транскрипти за *Tg* и констатирале дека квантитативна детекција на циркулирачката *mRNK-Tg* кореспондира со наодот од последниот радиојоден скен на целото тело. Исто така во студијата објавуваат дека постои корелација на вредноста за *mRNK-Tg* и висината на ТСХ, кај пациентите со ТК, но не е докажан механизмот на овој наод, а едно можно објаснување е дека се должи на зголемена *Tg* ген транскрипција под дејство на ТСХ [151].

Бидејќи ја детектиравме експресијата на транскриптите за двата гени и кај 14/17 здрави испитаници, ја анализиравме корелацијата на висината на ТСХ вредноста и  $\Delta C_t$  за *TSHR*, при што утврдивме постоење на несигнификантна негативна слаба корелација, а со  $\Delta C_t$  за *Tg*, детектиравме сигнификантна јака негативна корелација, односно со порастот на ТСХ имаме повисока експресија на *Tg* што исто така може да се објасни со стимулирачкиот ефект на ТСХ за транскрипција на *Tg* во тироцитите. Savagner F и сор. во нивната студија откриле повисоки нивоа на експресија кај контролите, кои биле зависни од висината на ТСХ. Експресијата кај здравите контроли била повисока отколку кај пациентите со метастатска болест, додека ниска експресија е регистрирана кај лицата со тироидектомија

и по спроведена аблативна радиојодна терапија, а без знаци за перзистирање на болеста [86].

Според анализираните податоци можеме да увидиме дека постои со интергрупното статистичко анализирање сигнификантно повисока експресија на иследуваните транскрипти кај групата на пациенти со некомплетен структурен и некомплетен биохемиски одговор (група 1 и група 2), во однос на пациентите со комплетен одговор на терапијата и здравите испитаници (група 3 и група 4). Но за откривање на суштинското значење на оваа анализа и нејзиното потенцијално место во лабораторискиот сет за следење на ТК потребна е понатамошна доработка, односно апсолутна квантификација.

Chia и сор., се дел од истражувачкиот тим кој има објавувано најголем дел од студиите во оваа област, направиле истражување на сензитивноста и специфичноста на методата, со тоа што вклучиле 51 здрав испитаник и 207 пациенти, од кои 119 пациенти со бенигна тироидна болест, 61 нови случаи на ДТК и 27 со рецидив на ТК. Применувајќи квантитативна анализа на *mRNK-TSHR*, детектирале присуство на транскриптите кај сите групи и кај здравите и кај бенигните тироидни пациенти, во дел и со значително препокривање на резултатите, но со сигнификантна разлика во просечните вредности меѓу групите и во просек, најниски детектирале кај здравите испитаници, потоа бенигните, а највисоки кај лицата со рецидив на болеста. Сензитивноста и специфичноста на методата значајно се зголемила кога се анализирала комплементарно со другите наоди, особено во споредба со предиктивните карактеристики од US и ФНАБ, со што се подобрила точност во дијагностиката на фоликуларните лезии. Еден од интересните факти кои произлегуваат од студијата е пад на вредностите на *mRNK-TSHR*, веќе по 1 ден по тироидектомијата, што укажува на краткиот полуживот на циркулирачките туморски клетки, односно на транскриптите во периферната крв, односно одржувањето на ниските вредности корелирало со отсуство на болест, додека порастот со појава на локо-регионален рецидив/ метастаза, односно корелира со наодите од WBS и сТг [166 -168].

Познати се фактите дека циркулирачките туморски клетки се под силно влијание на микросредината во циркулацијата и дејствата на имунолошкиот систем. Брз клиренс на циркулирачките туморски клетки посредуван од макрофаги, моноцити, неутрофили, природни клетки убијци е под континуирана опасност од развој на механизми кои можат да го избегнат имунолошкиот одговор, особено поради фактот што туморските клетки имаат зголемена експресија на протеини кои ја намалуваат фагоцитирачката активност на имунолошките клетки и антигените на главниот хистокомпатибилитет од класа I [168]. Периферната крв е неповолна средина за циркулирачките туморски клетки и во случај на ефективен имунолошки одговор има брз клиренс на истите, со што исто така може да се објасни отсуството на детекција на тумор специфични транскрипти кај дел од пациентите.

Друг недостаток од методолошки аспект е емпириски претпоставената 100% амплификациона ефиканост за таргетните и референтниот ген, а која може да се провери со воведување на прецизна квантификација. Ефектите на ектопична (нелегитимна)

транскрипција, алтернативен сплајсинг, дедиференцијација на туморот се можните причини за грешки во наодите [169-173]. Нашата анализа покажа дека со едноставна, повторлива лабораториска метода може да се детектира експресија на тумор специфични транскрипти. Утврдивме статистички сигнификантна разлика во релативната експресија на пациентите со некомплетен одговор, наспроти релативната експресија кај здравите лица и кај пациентите со комплетен одговор на терапијата, со поголема сигнификантност за експресијата на *mRNK-TSHR* во споредба со *mRNK-Tg*. Експресија на двата транскрипти детектиравме и кај повеќето здрави лица и кај пациентите со комплетен одговор на терапијата, односно пациенти кај кои е спороведена тотална тироидектомија и е дадена аблативна радиојодна терапија и имаат ниски вредност за сТг и остуство на перзистирачка болест на US и WBS. Овој наод може да се должи на ектопична транскрипција во лимфоцити, фибробласти и други клетки кај кои е докажана експресија на соодветните гени. Сепак вредностите се сигнификантно пониски споредено со вредностите за пациентите со перзистирачка болест. Нашата прелиминарна студија покажа дека може да се примени во следење на пациентите со ТК, но за точно евалуирање на сензитивност, специфичноста потребно е развивање на апсолутна квантитативна метода, генерирање на стандардна крива и вклучување на поголем број испитаници.



## 9. ЗАКЛУЧОЦИ

1. Постои тренд на пораст во инциденцијата на ТК во нашата популација споредено со претходните анализи од 1966 - 1988, а особено голем пораст е забележан во периодот 2011 - 2015.
2. Во нашата земја просечната инциденција на ТК во испитуваниот период од 17 години (1999 - 2015) изнесувала  $1,22/10^5$  жители. Нашите резултати укажуваат на зголемување на просечната инциденција на ТК и тоа: а) во периодот 2005 - 2010 во однос на периодот 1999 - 2004 за 27,8% ; б) во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 2005 - 2010 за 35,8%, а во периодот 2011 - 2015 во однос на периодот 1999 - 2004 за 52,8%.
3. Најчестиот хистопатолошки тип е ПТК со 75,3% / 79,8% / 81,2% застапеност во трите временски периоди, соодветно 1999 - 2004, 2005 - 2010, 2011 - 2015, по кој следи застапеноста на ФТК, со 8,6% / 12,9% / 10,5%, потоа МТК со 8,6% / 3,2% / 2,8% и АТК со 4,9% / 0,8% / 3,9%.
4. Порастот во инциденцијата главно се должи на пораст на ПТК и споредено со анализите од претходните автори за нашата територија 1966 - 1988, постои значајна редистрибуција меѓу хистопатолошките типови, односно значајно намалување на учеството на АТК и ФТК во вкупниот број на ТК, за сметка на ПТК, односно промена на хистопатолошките варијанти од поагресивни типови на тумори, кон поиндолентни ТК. Регистрираната промена во застапеноста на хистопатолошките варијанти најверојатно се должи на спроведената једна профилакса на нашата територија, а сличен ефект е детектиран и во други земји со јоден дефицит, по воведување на јодната суплементација.
5. Анализата на вкупната преваленција на ТК кај женскиот пол изнесува  $32,61/10^4$  додека кај испитаниците од машки пол таа изнесува  $9,27/10^4$ , односно соодносот Ж:М = 3,52:1.
6. Споредено со претходните студии за периодот 1966 - 1988, постои слична регионална дистрибуција со поголема преваленција во Северниот, Североисточниот Регион.
7. Постои статистички сигнификантна разлика меѓу просечната возраст на пациентите во петте групи, односно анализата на просечна возраст на која се дијагностицираат одделните хистопатолошки типови на ТК покажа значајна разлика, и тоа АТК се дијагностицира најчесто кај повозрасни пациенти, а најмлада возрасна група се пациентите со ПТК и МТК. Овие податоци од нашата популација соодветствуваат со анализите и во други студии.
8. Дистрибуцијата на хистопатолошките типови во етничките групи во нашата популација покажа сигнификантна асоцијација на испитаниците од македонска националност за АТК и за групата останати поретки хистопатолошки типови на тироидни тумори, споредено со албанската националност и групата останати националности, додека ПТК е најзастапениот хистопатолошки тип на тумор кај трите етнички групи кои се анализирани во студијата.

9. Постои тренд на опаѓање на дијагностицирање на туморите со димензии над 51 mm за 50% во последниот 4-годишен анализиран интервал (2011 - 2015), споредено со претходниот 6-годишен интервал (2005 - 2010), додека за 18% се намалил трендот на дијагностицирање на оваа група тумори во периодот 2005 - 2010, споредено со 1999 - 2004 година.
10. Најголем тренд на пораст во периодот 1999 - 2015 има за мултицентричните тумори, што најверојатно се должи на современите трендови во хистопатолошката анализа.
11. Утврдивме статистички значаен тренд на пораст во дијагностика на тумори помали од 15 mm.
12. Во поглед на ехогеноста, ТК најчесто биле опишувани како хипоехогени и нехомогени лезии, а анализата не покажа статистички сигнификантна асоцираност на ехогеноста на јазлите со пооделни хистопатолошки типови на ТК.
13. Според наодите од иницијалниот преглед може да се заклучи дека само 5,8% случаи имале далечни метастази во моментот на поставување на дијагнозата.
14. Според податоците од ФНАБ корелирани со хистопатолошките наоди на оперативниот примерок, пресметавме сензитивност за ФНАБ од 65,7%, а специфичност 50%, позитивна предиктивна вредност 56,9%, а негативна предиктивна вредност 59,2%. Резултатите се значајно пониски од опишаните во литературата. Сметаме дека тоа се должи на повеќе ограничувачки фактори, како долгиот период со кој е опфатена анализата за време на кој се променети методологијата на изведување на ФНАБ и има промена во класификациониот систем за евалуирање на цитопатолошките наоди.
15. Резултатите од униваријантната и мултиплата логистичка регресиона анализа покажа сигнификантно значење на димензијата на туморот и хистопатолошкиот тип на туморот како независни предиктори за појава на далечни метастази, односно туморите со димензии 15-50 mm, > 51 mm и мултицентричните тумори се сигнификантно почесто асоцирани со појава на далечни метастази, споредено со групата на тумори со димензии < 15 mm на иницијалниот преглед, наод што ја потврдува значајноста во раната дијагностика. Во поглед на хистопатолошкиот тип утврдивме дека групата ФТК е статистички сигнификантно асоциран во нашата популација со појава на метастази, односно кај ФТК е 2,568 пати поголема веројатноста за метастази споредено со ПТК.
16. Со анализата на предиктивната улога на повеќе фактори во вкупно применетата доза на радијодната терапија со метод на мултиплина регресиона анализа повторно се потврдија двата независни значајни предиктори за вкупната доза на радиојодна терапија, и тоа димензијата на туморот на иницијалниот преглед и хистопатолошкиот тип на тумор. Односно зголемувањето на димензијата на туморот за една група ја зголемува вкупната радиојодна терапија за 15,038 mCi.
17. Корелацијата на должината на временскиот период од операцијата до аплицирање на аблативната радиојодна терапија е значаен прогностички фактор, односно нашите резултати покажаа дека зголемувањето на времето од оперирање на пациентот до

аплицирање на аблативната радиојодна терапија ги намалува изгледите за комплетна ремисија на болеста, односно постои поголем ризик за локо-регионален рецидив или секундарни депозити во лимфните јазли во вратна регија.

18. Анализата утврди четири параметри како сигнификантни предиктори за времето на преживување и тоа: возраст, зголемени лимфни јазли на прв преглед, број на радиојодни терапии, и хистопатолошки наод. Возраста  $>45$  години во однос на онаа  $\leq 45$  години, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 42,9% секој месец и хистопатолошки наод - Ca folliculare во однос на Ca papillare, за  $p < 0,05$ , сигнификантно ја зголемува веројатноста за настанот (смрт) за 46,2% секој месец.
19. Во нашата студија 98% од пациентите со ПТК преживуваат повеќе од 16 години, додека прогнозата за ФТК е полоша и само 59% од пациентите преживуваат повеќе од 13 години. МТК во 94% според Kaplan–Meier кривата покажуваат преживување повеќе од 12,5 години.
20. Нашата анализа за експресијата на *mRNK-TSHR*, преку одредување на праговниот циклус за *mRNK-TSHR* и за контролниот референтен ген кој го применивме, ја добивме  $\Delta\Delta Ct$  вредноста за пресметка на  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  вредноста за изразување на степенот на промена во експресијата меѓу групите и од анализата детектиравме зголемување од 8.57 степени на промена во експресијата на група 1 пациенти споредено со група 4 на здрави контроли, 5.37 степени на промена во експресијата на група 1 пациенти споредено со група 3 пациенти со комплетен одговор, 14.17 степени на промена во експресијата на кај група 2 пациенти во однос на група 4 (здравите лица) и група 2 имаа 8.88 повисок степен на експресија во однос на група 3.
21. Статистичка анализа на вредностите за  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот посебно за секоја група пациенти и контроли и заедно меѓу двете групи на пациенти со некомплетен одговор на терапијата група 1+ група 2 во однос на контролните група 3 + група 4, покажа сигнификантна разлика меѓу просечната вредност при што се утврдија пониски вредности за пациентите со некомплетен одговор, споредено со контролите. Утврдивме статистички сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (TSHR - GAPDH)$  за *TSHR* генот меѓу двете групи за  $p < 0,05$  (Mann Whitney U test:  $Z = -3,928$   $p = 0,00008$ ).
22. Статистичката анализа со интергрупна споредба во однос на просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот утврди сигнификантна разлика помеѓу групите пациенти и контроли. Утврдивме статистички сигнификантна разлика меѓу просечната вредност на  $\Delta Ct = (Tg - GAPDH)$  за *Tg* генот меѓу двете групи за  $p < 0,05$  (Mann Whitney U test:  $Z = -2,413$   $p = 0,016$ ).
23. Утврдивме силна сигнификантна негативна корелација, односно со зголемување на вредноста на серумскиот тиреоглобулин се намали разликата на праговните циклуси за ампликоните за *TSHR* и праговните циклуси за контролниот ген.

24. Корелацијата на сТг со  $\Delta\text{Ct}$  вредноста за *Tg*, покажа исто така сигнификантна умерена негативна корелација, односно, порастот на вредноста за сТг, корелира умерено со експресијата на *Tg* во периферната крв.
25. Корелацијата на US/WBS со  $\Delta\text{Ct}$  вредноста за *TSHR* и *Tg* генот покажа иста така сигнификантна негативна умерена корелација за двата транскрипти. Односно нашите наоди укажуваат на повисока експресија на транскриптите за *TSHR* и *Tg* генот кај пациентите со докажани присутни метастази во вратна регија или далечни метастатски промени.
26. Корелацијата на експресијата на транскриптите за *TSHR* и *Tg* генот покажа несигнификантна негативна корелација, односно несигнификантно повисока експресија на транскриптите за двата иследувани гени во периферната крв кај пациентите кои примарно биле дијагностицирани во повисок стадиум на болеста.
27. Детектиравме експресија на транскриптите за двата гени и кај 14/17 здрави испитаници. Корелацијата на висината на TCX вредноста и  $\Delta\text{Ct}$  за *TSHR*, покажа несигнификантна негативна слаба корелација, а со  $\Delta\text{Ct}$  за *Tg*, детектиравме сигнификантна јака негативна корелација, односно со порастот на TCX имаме повисока експресија на *Tg* што исто така може да се објасни со стимулирачкиот ефект на TCX за транскрипција на *Tg* во тироцитите.
28. Утврдивме статистички сигнификантна разлика во релативната експресија на двете групи пациенти со некомплетен одговор, наспроти релативната експресија кај здравите лица и кај пациентите со комплетен одговор на терапијата.
29. Експресија на двата транскрипти детектиравме и кај повеќето здрави лица и кај пациентите со комплетен одговор на стандардизираната тераписка процедура. Овој наод може да се должи на ектопична транскрипција во лимфоцити, фибробласти и други клетки кај кои е докажана експресија на соодветните гени. Сепак вредностите се сигнификантно пониски споредено со вредностите за пациентите со перзистирачка болест.
30. Нашата студија за детекција на тумор специфични транскрипти во примерок на периферна крв покажа дека е можна примена на методата во следење на пациентите со ТК, но за точно евалуирање на сензитивност, специфичноста потребно е развивање на апсолутна квантитативна метода, генерирање на стандардна крива и вклучување на поголем број испитаници.

**ИНДЕКС НА КРАТЕНКИ**

$^{131}\text{I}$  – е радиоактивен изотоп на јодот со идентични хемиски и фармакокинетички особености како и стабилниот јод

$^{131}\text{I}$ -MIBG – метајодо-бензил-гванилат

$^{18}\text{F}$ FDG-PET – позитронска емисиона томографија со  $^{18}\text{F}$ -флуорордеоксиглукоза

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI – технициум обележан метокси-изобутил-изонитрил

$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  – пертехнетат

ACR – American College of Radiology

ALK – реаранжирања се резултат на фузијата на стријатин (STRN) генот и анапластичен лимфома киназа генот (ALK)

AUS/FLUS – атипича од неодредено значење / фоликуларна лезија од неодредено значење - III група според Bethesda класификациониот систем за цитолошки наоди

BIRADS – Breast Imaging and Reporting Data System

B-RAF – ген кој ги енкодира RAF фамилија на серин/треонин протеин кинази

BRAF - V600E – мутиран протеин при T1799A точкеста мутација на BRAF

cAMP – цикличен аденозин монофосфат (Cyclic Adenosine Monophosphate)

CASTLE – карциноми кои покажуваат тимус слична диференцијација (анг. Carcinoma showing thymus – like differentiation)

c-KIT – тирозин киназа рецептор

CT – компјутерска томографија

DUOX1 – тироидната дуал оксидаза ензим

EGF – епидермален фактор на раст

ERK – Extracellular signal Regulated Kinases (Екстраклеточен сигнал регулирани кинази)

FGF – фибробластен фактор на раст

FSH – фоликулостимулирачки хормон

GEC – Gene Expression Classifier

GTP – гванозин трифосфат (Guanosine Triphosphate)

- hCG – хуман хорионски гонадотропин
- IGF-1 – инсулин-сличен фактор на раст – 1
- LH – лутеинизирачки хормон
- MAPK – митоген активирачки протеин киназни патишта
- MBq – мега бекерели (мерна единица за радиоактивност)
- MRI – магнетна резонанца
- mRNK-Tg – информативна РНК за Тг ген
- mRNK-TSHR – информативна РНК за ТСХР ген
- mRNK – информативна РНК
- Na<sup>131</sup>I – натриум јодид со радиоактивен изотоп на јод (<sup>131</sup>I)
- NGF – нервен фактор на раст (nerve growth factor)
- NIS – натриум јодиден симпортер
- PAX8 – тироидниот специфичен транскриптен фактор
- PI3K – Phosphatidylinositol 3-kinase- $\gamma$
- PI3K-АКТ пат – Phosphatidylinositol 3-kinase- $\gamma$  сигнализирачки пат за прогресија и дедиференцијација на ТК
- PPAR $\gamma$  – јадрен хормон рецептор
- PTEN – ген кој го енкодира Phosphatase and Tensin homolog protein
- RAS – RAt Sarcoma онкоген (3 RAS онкогени - NRAS, KRAS, HRAS)
- RET ген – прото-онкоген кој енкодира тирозин киназа рецептор
- RET/PTC реаранжирања – RET генот може да се активира преку фузија на 3' од тирозин киназа доменот на RET со 5' доменот од друг ген
- SEER – US National Cancer Institute од Surveillance, Epidemiology and End Results
- SETTLE – вретенесто клеточен епителен тумор со тимус-слична диференцијација (анг. Spindle epithelial tumor with thymus-like differentiation)
- TGF $\beta$ 1 – трансформиращки фактор на раст  $\beta$ 1
- TIRADS – Thyroid Imaging and Reporting Data System
- tNGS – targeted Next Generation Sequencing
- TP53 – е тумор супресорски ген лоциран на 17 хромозом
- TRK – е прото-онкоген лоциран на хромозом 1 и енкодира тирозин киназа мембрански рецептор за нервен фактор на раст

TSHR – ген кој го енкодира ТСХР

US – ултрасонографија, ехо

VEGF – васкуларен ендотелен фактор на раст

WBS – скен на целото тело (анг. Whole Body Scan)

АТА – Американската тиродна асоцијација

аТг – анти тиреоглобулински антитела

АТК – анапластичен тироиден карцином

ДНК – дезоксирибонуклеинска киселина

ДТК – добро диференцирани тироидни карциноми

ЕТА – Европската тироидна асоцијација

ИТК – инсуларен тип на тироиден карцином

ЛДТК – лошо диференцирани тироидни карциноми;

МАЛТ – мукозно асоцирано лимфоидно ткиво

МЕН2 – мултипла ендокрина неоплазија тип 2

микроРНКи – некодирачки рибонуклеински киселини

МТК – медуларен тироиден карцином

ПТК – папиларни тироидни карциноми

РНК – рибонуклеинска киселина

СЗО – Светската здравствена организација

Тг – тиреоглобулин

ТК – тироиден карцином

ТКИ – тирозин киназа инхибитори

ТСХ – тиреостимулирачки хормон (тиреотропин)

ТСХР – ТСХ рецептор

ФА – фоликуларен аденом

ФНАБ – тенкоиглена аспирациона биопсија (анг. fine needle aspiration biopsy)

ФТК – фоликуларни тироидни карциноми;



## ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization (WHO) classification 2017. Pathology Outlines. com website.  
<http://www.pathologyoutlines.com/topic/thyroidwho.html>.
2. Katoh H, Yamashita K, Enomoto T and Masahiko W. Classification and General Considerations of Thyroid Cancer. *Ann Clin Pathol* 2015;3:1045-54.
3. De Groot LJ, Reed Larsen P, Hennemann G. The thyroid and its diseases, 6<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone; December 12, 1995.
4. Scopa CD. Histopathology of Thyroid Tumors. An Overview. *Hormones* 2004; 3:100-10.  
<http://www.hormones.gr/pdf/1116414588.pdf>
5. Kebebew E, Greenspan FS, Clark OH, Woeber KA, McMillan A. Anaplastic Thyroid Carcinoma, Treatment Outcome and Prognostic Factors. *Cancer* 2005;103:1330-5.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.20936/pdf>
6. Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary Thyroid Carcinoma Variants. *Head and Neck Pathol* 2011;5:51–56.  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037461/pdf/12105\\_2010\\_Article\\_236.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037461/pdf/12105_2010_Article_236.pdf)
7. Li Volsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod. Pathol.* 2011; 24:S1–S9.  
<http://www.nature.com/modpathol/journal/v24/n2s/pdf/modpathol2010129a.pdf>
8. Girardi FM, Barra MB, Zettler CG. Variants of papillary thyroid carcinoma: association with histopathological prognostic factors. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2013; 79:738-44.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24474487>
9. Al-Brahim N, Asa SL. Papillary Thyroid Carcinoma An Overview. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130:1057–62.  
<http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.1043/1543-2165%282006%29130%5B1057%3APTCOA%5D2.0.CO%3B2>
10. Schumberger M, Pacini F, Tuttle RM. Thyroid tumors, 4<sup>th</sup> edition, Paris: Institute Medico-Educatif, 2015.
11. Sobrinho-Simões M, Eloy C, Magalhães J, Lobo C, Amaro T. Follicular thyroid carcinoma. *Mod. Pathol.* 2011; 24:S10–S18.  
<http://www.nature.com/modpathol/journal/v24/n2s/pdf/modpathol2010133a.pdf>
12. Collini P, Sampietro G, Rosai J, Pilotti S. Minimally invasive (encapsulated) follicular carcinoma of the thyroid gland is the low-risk counterpart of widely invasive follicular carcinoma but not of insular carcinoma. *Virchows Arch* 2003;442:71.
13. D'Avanzo A, Treseler P, Ituarte PHG, Wong M, Streja L, Greenspan FS et al. Follicular Thyroid Carcinoma: Histology and Prognosis. *Cancer* 2004;100:1123–9.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.20081/pdf>
14. McHenry CR, Phitayakorn R. Follicular Adenoma and Carcinoma of thyroid gland. *The Oncologist* 2011;16:585-93.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3228182/pdf/onc585.pdf>
15. Volante M, Papotti M. Poorly differentiated thyroid carcinoma: 5 years after the 2004 WHO classification of endocrine tumours. *Endocr Pathol* 2010;21:1-6.



16. Pellegriti G, Giuffrida D, Scollo C, Vigneri R, Regalbuto C, Squatrito S et al. Long-Term outcome of patients with insular carcinoma of the thyroid the insular histotype is an independent predictor of poor prognosis. *Cancer* 2002;95:2076-85.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.10947/pdf>
17. Kini H, Nirupama M, Rau AR, Gupta S, Augustine A. Poorly differentiated (insular) thyroid carcinoma arising in a long-standing colloid goitre: A cytological dilemma. *Journal of Cytology / Indian Academy of Cytologists*. 2012;29:97-99.
18. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R et al. Poorly differentiated thyroid carcinoma: The Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1256-64.
19. Nagaiah G, Hossain A, Mooney CJ, Parmentier J, and Remick SC. Anaplastic Thyroid Cancer: A Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. *Journal of Oncology*. 2011;2011:542358. doi:10.1155/2011/542358.
20. Raue F, Frank-Raue K. Epidemiology and Clinical Presentation of Medullary Thyroid Carcinoma. *Recent Results Cancer Res*. 2015;204:61-90. doi: 10.1007/978-3-319-22542-5\_3.
21. Siun W, Aoife JL, Denis E, Enda WM, Ruth SP. Thyroid Lymphoma: Recent Advances in Diagnosis and Optimal Management Strategies. *The Oncologist* 2013;18:994–1003.
22. Giuffrida D, Attard M, Marasa L, Ferrau F, Marietta F, Restuccia N. Thyroid carcinosarcoma, a rare and aggressive histotype: A case report. *Annals of Oncology*. 2000;11:1497-1499.
23. Burns WR, Zeiger MA. Differentiated thyroid cancer, *Semin Oncol*, 2010; 37:557-66.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21167375>
24. Davies L, Welch HG. Increasing Incidence of Thyroid Cancer in the United States, 1973-2002, *JAMA* 2006; 295:2164-67. <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=202835>
25. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse SF et al. (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012, National Cancer Institute. Bethesda, MD. 2015.  
[http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2012/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/)
26. Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid* ©2015 American Thyroid Association doi: 10.1089/thy.2015.0020. <http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/thy.2015.0020>
27. La Vecchia C, Malvezzi M, Bosetti C, Garavello W, Bertuccio P, Levi F et al. Thyroid cancer mortality and incidence: A global overview. *Int. J. Cancer*, 2015;136:2187–95.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.29251/epdf>
28. Moriss LG, Sikora AG, Tosteson TD, Davis L. The increasing incidence of thyroid cancer: the influence of access to care. *Thyroid* 2013;23:885-91.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3704124/pdf/thy.2013.0045.pdf>
29. Hodgson NC, Button J, Solorzano CC. Thyroid Cancer: Is the Incidence Still Increasing? *Ann Surg Oncol* 2004;11:1093-97. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15576834>
30. Favus MJ, Schneider AB, Stachura ME, Arnold JE, Rio UY, Pinski SM et al. Thyroid Cancer Occurring as a Late Consequence of Head-and-Neck Irradiation — Evaluation of 1056 Patients. *N Engl J Med* 1976; 294:1019-1025. <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM197605062941901>

31. Refetoff S, Harrison J, Karanfilski B, Kaplan EL, De Groot LJ, Bekerman C. Continuing Occurrence of Thyroid Carcinoma after Irradiation to the Neck in Infancy and Childhood. *N Engl J Med* 1975;292:171-75.
32. Tucker MA, Morris Jones PH, Boice JD, Robison LL, Stone BJ, Stovall M et al. Therapeutic Radiation at a Young Age Is Linked to Secondary Thyroid Cancer. *Cancer Research* 1991;51:2885-88. <http://cancerres.aacrjournals.org/content/51/11/2885.full-text.pdf>
33. Furukawa K, Preston D, Funamoto S, Yonehara S, Ito M, Tokuoka S et al. Long-term trend of thyroid cancer risk among Japanese atomic bomb survivors: 60 years after exposure. *Int J Cancer*. 2013;132:1222–26. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3910094/pdf/nihms548819.pdf>
34. Schonfeld SJ, Lee C, Berrington de González A. Medical exposure to radiation and thyroid cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2011;23:244-50. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296564>
35. Cardis E, Hatch M. The Chernobyl accident — an epidemiological perspective. *Clin Oncol* 2011;23:251–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3107017/pdf/nihms281413.pdf>
36. Knobel M, Medeiros-Neto G. Relevance of Iodine Intake as a Reputed Predisposing Factor for Thyroid Cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007;51:701-12. <http://www.scielo.br/pdf/abem/v51n5/a07v51n5.pdf>
37. Horn-Ross PL, Moriss JS, Lee M, West DW, Whittemore AS, McDougall IR et al. Iodine and Thyroid Cancer Risk among Women in a Multiethnic Population: The Bay Area Thyroid Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10:979–85. <http://cebp.aacrjournals.org/content/10/9/979.full.pdf+html>
38. Vesel D, Astl J, Laatuva P, Matucha P, Aterzl I, Betka J. Serum Levels of IGF-I, HGF, TGFβ1, FGF and VEGF in Thyroid Gland tumors. *Physiol. Res* 2004;53:83-89.
39. Matsuo K, Friedman E, Gejman PV & Fagin JA. The thyrotropin receptor (TSH-R) is not an oncogene for thyroid tumors: structural studies of the TSH-R and the alpha-subunit of Gs in human thyroid neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76:1446–51.
40. Boelaert K. The association between serum TSH concentration and thyroid cancer. *Endocrine-Related Cancer*. 2009;16:1065–72.
41. Boelaert K, Horacek J, Holder RL, Watkinson JC, Sheppard MC, Franklyn JA. Serum Thyrotropin Concentration as a Novel Predictor of Malignancy in Thyroid Nodules Investigated by Fine-Needle Aspiration. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4295–301. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0527>
42. Jonklaas J, Nsouli-Maktabi H, Soldin SJ. Endogenous thyrotropin and triiodothyronine concentrations in individuals with thyroid cancer. *Thyroid*. 2008;18:943-52. doi: 10.1089/thy.2008.0061.
43. Haymart MR, Repplinger DJ, Levenson GE, Elson DF, Sippel RS, Jaume JC et al. Higher serum thyroid stimulating hormone level in thyroid nodule patients is associated with greater risks of differentiated thyroid cancer and advanced tumor stage. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:809-14.
44. Derwahl M, Broecker M, Kraiem Z. Thyrotropin May Not Be the Dominant Growth Factor in Benign and Malignant Thyroid Tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:829-34.
45. Kimura T, Keymeulen AV, Golstein J, Fusco A, Dumont JE, Roger P. Regulation of Thyroid Cell Proliferation by TSH and Other Factors: A Critical Evaluation of in Vitro Models. *Endocrine Reviews* 2001;22:631–656.

46. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, Jonasson JG, Masson G, Huiling H et al. Discovery of common variants associated with low TSH levels and thyroid cancer risk. *Nature genetics*. 2012;44:319-22. doi:10.1038/ng.1046.
47. Du Villard JA, Wicker R, Crespo P, Russo D, Filetti S, Gutkind JS et al. Role of the cAMP and MAPK pathways in the transformation of mouse 3T3 fibroblasts by a TSHR gene constitutively activated by point mutation. *Oncogene*. 2000;19:4896 – 905.
48. Rossing MA, Schwartz SM, Weiss NS. Thyroid cancer incidence in Asian migrants to the United States and their descendants. *Cancer Causes Control*. 1995;6:439-44.
49. Chen GG, Vlantis AC, Zeng Q, Van Hasselt CA. Regulation of cell growth by estrogen signaling and potential targets in thyroid cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008;8:367-77.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18690843>
50. Belfiore A, La Rosa GL, La Porta GA, Giuffrida D, Milazzo G, Lupo L et al. Cancer risk in patients with cold thyroid nodules: relevance of iodine intake, sex, age and multinodularity. *Am J Med*. 1992;93:363-69. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1415299>
51. Brehar AC, Brehar FM, Dumitrache C, Parhon CI, Arseni B, Davila C. Genetic and epigenetic alterations in differentiated thyroid carcinoma, *J Med Life*. 2013;6:403-8.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4034295/pdf/JMedLife-06-403.pdf>
52. Romei C and Elisei R. RET/PTC Translocations and Clinico-Pathological Features in Human Papillary Thyroid Carcinoma. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:54.
53. Schlumberg MJ. Papillary thyroid carcinoma, *Orphanet encyclopedia*, March 2004.  
<https://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-PTC.pdf>
54. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13:184-199. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3791171/pdf/nihms514651.pdf>
55. Nozhat Z, Hedayati M. PI3K/AKT Pathway and Its Mediators in Thyroid Carcinomas, *Mol Diagn Ther*. 2016;20:13-26.
56. Wiench M, Wloch J, Oczko M, Gubala E, Jarzab B. Rearrangement of the RET gene in papillary thyroid carcinoma, *Wiad Lek*. 2001;54:64-71. <http://europepmc.org/abstract/med/12182064>
57. Nikiforov YE. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors, *Endocr Pathol*. 2002; 13:3-16.
58. Faam B, Ghaffari MA, Ghadiri A and Fereidoun A. Epigenetic modifications in human thyroid cancer. *Biomed Rep*. 2015;3:3–8.
59. Chien W, Koeffler HP. *Molecular Biology of Thyroid Cancer*. G.D. Braunstein (ed.), *Thyroid Cancer, Endocrine Updates 30*, Springer Science+Business Media, LLC, 2012  
Doi: 10.1007/978-1-4614-0875-8\_2f
60. Orton RJ, Sturm OE, Vyshemirsky V, Calder M, Gilbert DR, Kolch W. Computational modelling of the receptor-tyrosine-kinase-activated MAPK pathway. *Biochem J* 2005;392:249-61.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1316260/pdf/bj3920249.pdf>.
61. Remonti LR, Kaercher Kramer C, Bauermann Leita C, Catani LF, Pinto and Gross JL. Thyroid Ultrasound Features and Risk of Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Thyroid*. 2015;25:538-50. Doi: 10.1089/thy.2014.0353
62. Horvath E, Majlis S, Rossi R, Franco C, Niedmann JP, Castro A et al. An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:1748–51.

63. Na DG, Baek JH, Sung JY, Kim JH, Kim JK, Choi YJ et al. Thyroid imaging reporting and data system risk stratification of thyroid nodules: Categorization based on solidity and echogenicity. *Thyroid*. 2016;26:562–72.
64. Lee MJ, Kim EK, Kwak JY, Kim MJ. Partially cystic thyroid nodules on ultrasound: probability of malignancy and sonographic differentiation. *Thyroid*. 2009;19:341–46.
65. Tessler FN, Middleton WD, Grant EG, Hoang JK, Berland LL, Teefey SA et al. ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TI-RADS): White Paper of the ACR TI-RADS Committee. *J Am Coll Radiol*. 2017;14:587-95.
66. Shin JH, Baek JH, Chung J, Ha EJ, Kim JH, Lee YH. Ultrasonography Diagnosis and Imaging-Based Management of Thyroid Nodules: Revised Korean Society of Thyroid Radiology Consensus Statement and Recommendations. *Korean J Radiol*. 2016;17:370–95.
67. Russ G, Bonnema S, Erdogan MF, Durante C, Ngu R, Leenhardt L. European Thyroid Association Guidelines for Ultrasound Malignancy Risk Stratification of Thyroid Nodules in Adults: The EU-TIRADS. *Eur Thyroid J*. 2017;6:225–37. doi.org/10.1159/000478927
68. Lee YH, Kim DW, In HS, Park JS, Kim SH, Eom JW et al. Differentiation between Benign and Malignant Solid Thyroid Nodules Using an US Classification System, *Korean J Radiol*. 2011;12:559–67.
69. Frates MC, Benson CB, Charboneau JW, Cibas ES, Clark OH. Management of Thyroid Nodules Detected at US: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement 1796. *Radiology*. 2005;237:3.
70. Suh I, Vriens MR, Guerrero MA, Griffin A, Shen WT, Duh QY et al. Serum thyroglobulin is a poor diagnostic biomarker of malignancy in follicular and Hurthle-cell neoplasms of the thyroid. *Am J Surg*. 2010;200:41–46.
71. Lee EK, Chung KW, Min HS, Kim TS, Kim TH, Ryu JS et al. Preoperative serum thyroglobulin as a useful predictive marker to differentiate follicular thyroid cancer from benign nodules in indeterminate nodules. *J Korean Med Sci*. 2012;27:1014–18.
72. Perros P, Colley S, Boelaert K, Evans C, Evans RM, Gerrard GE et al. Guidelines for the management of thyroid cancer. Third edition. British Thyroid Association. 2014. [onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.12515/pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.12515/pdf).
73. Giubbini R, Bertagna F. <sup>99m</sup>Tc-MIBI imaging in thyroid nodules: Is it useful? *Endocrine*. 2014;46:1-2. doi: 10.1007/s12020-013-0051-7
74. Gharib H, Dean D, Chapter 6d. Fine-Needle Aspiration Biopsy of the Thyroid Gland, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285544/>
75. Cibas ES and Ali SZ. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Am J Clin Pathol*. 2009;132:658-665. <http://ajcp.oxfordjournals.org/content/132/5/658>
76. Chow LS, Gharib H, Goellner JR, Van Heerden JA. Nondiagnostic thyroid fine-needle aspiration cytology: management dilemmas *Thyroid*. 2001;11:1147-51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12186502>
77. Paschke R, Cantara S, Crescenzi A. ETA Guidelines regarding Thyroid Nodule Molecular Fine – Needle Aspiration Cytology Diagnostics. *Eur Thyroid J*. 2017;6:115-29.
78. Layfield LJ, Abrams J, Cochand-Priollet B, Evans D, Gharib H, Greenspan F et al. Post-thyroid FNA testing and treatment options: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol*. 2008;36:442–48.

79. Cantara S, Capezzone M, Marchisotta S, Capuano S, Busonero G, Toti P et al. Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves the diagnostic accuracy of cytology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1365–69.
80. Ahn JE, Lee JH, Yi JS, Shong YK, Hong SJ, Lee DH et al. Diagnostic accuracy of CT and ultrasonography for evaluating metastatic cervical lymph nodes in patients with thyroid cancer. *World J Surg.* 2008;32:1552–58.
81. Gimm O, Dralle H. Differentiated thyroid carcinoma. In: Holzheimer RG, Mannick JA, editors. *Surgical Treatment: Evidence-Based and Problem-Oriented.* Munich: Zuckschwerdt; 2001. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6979/>
82. Eary JF, Winfried B. *Nuclear medicine therapy.* Informa Healthcare USA, Inc. New York, NY 10016, 2007.
83. Tuttle RM, Tala H, Shah J, et al. Estimating risk of recurrence in differentiated thyroid cancer after total thyroidectomy and radioactive iodine remnant ablation: using response to therapy variables to modify the initial risk estimates predicted by the new American Thyroid Association staging system. *Thyroid* 2010;20:1341–9.
84. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F 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;26:1.
85. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide Increasing Incidence of Thyroid Cancer: Update on Epidemiology and Risk Factors. *J Cancer Epidemiol.* 2013;2013:965212. doi: 10.1155/2013/965212.
86. Savagner F, Rodien P, Reynier P, Rohmer V, Bigorgne JC, Malthiery Y. Analysis of Tg Transcripts by Real Time RT PCR in blood of Thyroid Cancer Patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:635-39.
87. Ausavarat S, Sripraporn J, Satayaban B, Thongnoppakhun W, Laipiriyakun A, Amornkitticharoen B et al. Circulating thyrotropin receptor messenger ribonucleic acid is not an effective marker in the follow-up of differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid Research.* 2015;8:11. Doi 10.1186/s13044-015-0024-4.
88. Chinnappa P, Taguba L, Arciaga R, Faiman C, Siperstein A, Mehta AE. Detection of Thyrotropin-Receptor Messenger Ribonucleic Acid (mRNA) and Thyroglobulin mRNA Transcripts in Peripheral Blood of Patients with Thyroid Disease: Sensitive and Specific Markers for Thyroid Cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3705–9.
89. Omry-Orbach, Risk Stratification in Differentiated Thyroid Cancer: An Ongoing Process. *Rambam Maimonides Med J.* 2016;7:1.
90. Vaisman F, Momesso D, Bulzico DA, et al. Spontaneous remission in thyroid cancer patients after biochemical incomplete response to initial therapy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;77:132–8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.2012.04342>
91. Livak KJ and Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Method. *Methods.* 2001;25:402–8.
92. Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostat Bioinforma Biomath.* 2013;3:71-85.



93. Badulescu IC, Barbus E, Piciu D. Circulating tumor cells in thyroid carcinoma – the prognostic role of this biomarker. Review of the literature. Clujul Medical. 2017;90:256-61.
94. Karanfilski B, Serafimov N, Dolgova-Korubin V, Tadzer I, Shestakov Gj, Simova N et al. Klinički i laboratorijski karakteristiki na karcinomot na tiroidnata zhlezda vo SR Makedonija, Prilozi MANU: Oddelenie za biološki i medicinski nauki – Skopje. 1982;3:13-27.
95. Karanfilski B, Tadzer I, Serafimov N, Dolgova-Korubin V, Loparska S, Miceva-Ristevska et al. Karcinom na tiroidnata zhlezda vo SR Makedonija, Nauchen sober, Maligni zaboluvanja: problemi i dilemi, Bitola 1990.
96. State statistical office of R Macedonia, Regions of the Republic Macedonia, 2009. ISSN 1857-6141, 2010. <http://www.stat.gov.mk/Publikacii/GodisnikRegioni2009.pdf>
97. Agate L, Lorusso L, Elisei R. New and old knowledge on differentiated thyroid cancer epidemiology and risk factors. J Endocrinol Invest 2012;35:3 – 9.
98. Figge JJ. Epidemiology of Thyroid Cancer. In: Wartofsky L., Van Nostrand D. (eds) Thyroid Cancer. Springer, New York, NY. 2016:9-15.
99. Calvo J, Torrealba G, Sáenz A, Santamaría C, Morera E, Alvarado S et al. Genetic and Clinical Features of Medullary Thyroid Carcinoma: The Experience of a Single Center in Costa Rica. Journal of Cancer Epidemiology. 2016;2016:9637173.
100. Machens A, Lorenz K, Sekulla C, Hoßpner W, Frank-Raue K, Raue F et al. Molecular epidemiology of multiple endocrine neoplasia 2: implications for RET screening in the new millennium. European Journal of Endocrinology. 2013;168:307–14.
101. Jovanovic R, Kostadinova Kunovska S, Janevska V, Bogoeva B, Spasevska L, Miladinova D et al. Novel RET mutations in Macedonian patients with medullary thyroid carcinoma: Genotype-phenotype correlations. Contributions, Sec. Med. Sci. 2015;36:1.
102. Van der Zwan JM, Mallone S, Van Dijk B, Bielska-Lasota M, Otter R, Foschi R et al. Carcinoma of endocrine organs: Results of the RARECARE project. European Journal of Cancer 2012;48:1923– 31.
103. Slijepcevic N, Zivaljevic V, Paunovic I, Diklic A, Zivkovic P, Miljus D et al. Rising incidence of thyroid cancer in Serbia. Hippokratia 2016;20:9-13.
104. Stojanovic M, Stojanovic D, Rancic N, Ignjatovic A, Antic Z, Miljkovic S et al. Trends in thyroid cancer incidence and mortality in Central Serbia, 1999-2014. Ann Ist Super Sanità 2017;53:299-304.
105. Vučemilo L, Znaor T, Kuliš T, Šekerija M, Znaor A. Thyroid Cancer incidence and mortality trends in Croatia 1988-2010. Acta Clin Croat. 2015;54:30-37
106. Steliarova-Fouchere E, O’Callaghan M, Ferlay J, Masuyer E, Forman D, Comber H et al. European Cancer Observatory: Cancer incidence, mortality, Prevalence and Survival in Europe. European network of Cancer registries, international Agency for research on Cancer; 2012.
107. Šimunović D, Cvjetko I, Gladić V, Elez M, Glasanović M, Leniček T et al. Possible effects of the 1990-1995 war in Croatia on thyroid cancer epidemiology. Acta clin Croat 2000;39:155-60.
108. Cancer of The Thyroid SEER Stat Fact Sheets, available at <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/thyro.html> accessed on December 10, 2012.
109. Cancer Research UK 2011 (<https://anp204-snyde125.weebly.com/bioecological.html>)
110. Rahbari R, Zhang L, Kebebew E. Thyroid cancer gender disparity. Future Oncol. 2010;6:1771–79 <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=202835>

111. Kumar A, Klinge CM, RICHARD E. Goldstein. Estradiol-induced proliferation of papillary and follicular thyroid cancer cells is mediated by estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Int J Oncol.* 2010;36:1067-80.
112. Chen D, Qi W, Zhang P, Guan H, Wang L. Expression of the estrogen receptor  $\alpha$ , progesterone receptor and epidermal growth factor receptor in papillary thyroid carcinoma tissues. *Oncol Lett.* 2015;10:317–20.
113. Zamora-Ros R, Rinaldi S, Biessy C, Tjnneland A, Halkjær J, Fournier A et al. Reproductive and menstrual factors and risk of differentiated thyroid carcinoma: The EPIC study. *Int. J. Cancer;* 2015;136:1218–27.
114. Vaskova O, Kuzmanovska S, Josifovska T, Bogdanovska A, Majstorov V, Zdravkovska M et al. Thyroid malignomas before and after correction of mild iodine deficit. *Radioactive Isotopes in clinical Medicine and Research 27<sup>th</sup> International Symposium, Bad Gastein, Austria. Nuklearmedizin 6, 2005.*
115. Zimmermann M and Galetti V. Iodine intake as a risk factor for thyroid cancer: a comprehensive review of animal and human studies. *Thyroid Research.* 2015;8:8.
116. Guan H, Ji M, Bao R, Yu H, Wang Y, Hou P et al. Association of high iodine intake with the T1799A BRAF mutation in papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:1612-7.
117. Fiore AP, Fuziwara CS, Kimura ET, High iodine concentration attenuates RET/PTC3 oncogene activation in thyroid follicular cells. *Thyroid.* 2009;19:1249-56. doi: 10.1089/thy.2008.0408
118. Hedinger Chr, Williams D, Sobin LH and Pathologists in 8 countries. Second edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1993.
119. [www.ceecis.org/iodine/10\\_monitoring/.../MACEDONIA%20final%20FINALreport.d](http://www.ceecis.org/iodine/10_monitoring/.../MACEDONIA%20final%20FINALreport.d)
120. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures, 2017. <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2017/cancer-facts-and-figures-2017.pdf>
121. Rich T, Feng L, Busaidy N, Cote GJ, Gagel RF, Hu M et al. Prevalence by Age and Predictors of Medullary Thyroid Cancer in Patients with Lower Risk Germline RET Proto-Oncogene Mutations. *Thyroid.* 2014;24:1096–1106.
122. Moo-Young TA, Traugotta AL, Moleyb JF. Sporadic and Familial Medullary Thyroid Carcinoma, State of the Art. *Surg Clin North Am.* 2009;89:1193–1204.
123. Reddi HV, Kumar A, Kulstad R. Anaplastic thyroid cancer – an overview of genetic variations and treatment modalities. *Advances in Genomics and Genetics.* 2015;5:43-52.
124. Younis E. Oncogenesis of Thyroid cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017;18:1191-99.
125. Dal Maso L, Lise M, Zambon P et al. Incidence of thyroid cancer in Italy, 1991-2005: time trends and age-period-cohort effects. *Annals of Oncology.* 2011;22:957–63.
126. Ahn HS, Kim HJ, Welch HG. Korea's Thyroid-Cancer „Epidemic“ – Screening and overdiagnosis. *N Engl J Med.* 2014;371:19.
127. Lukas J, Drabekb J, Lukasc D, Dusekd L, Gateke J. The epidemiology of thyroid cancer in the Czech Republic in comparison with other countries, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2013;157:266-75.

128. Slijepcevic N, Zivaljevic V, Marinkovic J, Sipetic S, Diklic A, Paunovic I. Retrospective evaluation of the incidental finding of 403 papillary thyroid microcarcinomas in 2466 patients undergoing thyroid surgery for presumed benign thyroid disease, *BMC Cancer* 2015;15:330. <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles>
129. Davies L, Morris LGT, Haymart M, Chen AY, Goldenberg D, Morris J et al. American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology disease state clinical review: The increasing incidence of thyroid cancer. *Endocr Pract.* 2015;21:686-96.
130. Jung CK, Little MP, Lubin JH et al., The increase in thyroid cancer incidence during the last four decades is accompanied by the high frequency of BRAF mutations and sharp increase in RAS mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:E276-E285.
131. Carlberg M, Hedendahl L, Ahonen M, Koppel T, Hardell L. Increasing incidence of thyroid cancer in the Nordic countries with main focus on Swedish data. *BMC Cancer.* 2016;16:426. Doi 10.1186/s12885-016-2429-4.
132. Hsiao SJ and Nikiforov YE. Molecular Approaches to Thyroid Cancer Diagnosis. *Endocr Relat Cancer.* 2014;21:T301–T313. doi:10.1530/ERC-14-0166.
133. Hedinger C, Williams D, Sobin LH. The WHO Histological Classification of Thyroid Tumors: A Commentary on the Second edition. *Cancer* 1989;63:908-11.
134. Corapcioglu D, Sak SD, Delibasi T, Tonyukuk V, Kamel N, Uysal A et al. Papillary microcarcinomas of the thyroid gland and immunohistochemical analysis of expression of the p53 protein in papillary microcarcinomas. *J Transl Med* 2006;4:1-6.
135. Butros R, Boyvat F, Ozyer U, Bilezikci B, Arat Z, Aytakin C et al. Management of infracentrimetric thyroid nodules with respect to ultrasonographic features. *Eur Radiol.* 2007;17:1358-64.
136. Muratli A, Erdogan N, Sevim S, Unal I, and Akyuz S. Diagnostic efficacy and importance of fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules. *J Cytol.* 2014;31:73–78. doi: 10.4103/0970-9371.138666
137. Poller DN, Stelow EB, Yiangou C. Thyroid FNAC cytology: can we do it better? *Cytopathology.* 2008;19:4-10.
138. Majstorov V. Ultrasonographic Findings in Patients with Benign and Malignant Thyroid Nodules who underwent Ultrasound Guided Fine Needle Aspiration Cytology. *OA Maced J Med Sci.* 2015;3:689-93.
139. Zhong LC, Feng L, Fang M, Xu HX, Li DD, Guo LH, Sun LP. Ultrasound –guided fine – needle aspiration of thyroid nodules: does the size limit its efficiency? *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8:3155-59.
140. Ho AS, Sarti EE, Jain KS, et al. Malignancy rate in thyroid nodules classified as Bethesda category III (AYS/FLUS). *Thyroid.* 2014;24:832-9. <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2013.0317> PMID:24341462.
141. Gweon HM, Son EJ, Youk JH, Kim JA. Thyroid nodules with Bethesda system III cytology: can ultrasonography guide the next step? *Ann Surg Oncol.* 2013;20:3083-88. <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-013-2990-x> PMID:23700214.
142. Mazzaferri EL, Kloos RT. Clinical review 128: Current approaches to primary therapy for papillary and follicular thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1447-63.



143. Lee EK, Chung KW, Min HS, Kim TS, Kim TH, Ryu JS et al. Preoperative Serum Thyroglobulin as a Useful Predictive Marker to Differentiate Follicular Thyroid Cancer from Benign Nodules in Indeterminate Nodules. *J Korean Med Sci.* 2012;27:1014-18.
144. Rouxel A, Hejblum G, Bernier MO, Lle PY, Gaux FM, Mansour G et al. Prognostic Factors Associated with the Survival of Patients Developing Loco-Regional Recurrences of Differentiated Thyroid Carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5362–68.
145. Lin JD, Liou MJ, Chao TC, Weng HF, Ho YS. Prognostic variables of papillary and follicular thyroid carcinoma patients with lymph node metastases and without distant metastases. *Endocr Relat Cancer.* 1999;6:109-15.
146. Mazzaferri EL, Robbins J, Spencer CA, Braverman LE, Pacini F, Wartofsky L et al. A Consensus Report of the Role of Serum Thyroglobulin as a Monitoring Method for Low-Risk Patients with Papillary Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1433–41.
147. Milas M, Shin J, Gupta M, Novosel T, Nasr C, Brainard J. Circulating thyrotropin receptor mRNA as a novel marker of thyroid cancer. *Annal of Surgery.* 2010;252:643-51.
148. Panov S. Osnovi na molekularna biologija i molekularna genetika. Univerzitet „Sv. Kiril I Metodij“ Skopje, 2013.
149. Badulescu IC, Barbus E, Piciu D. Circulating tumor cells in thyroid carcinoma – the prognostic role of this biomarker. Review of the literature. *Clujul Medical.* 2017;90:256-61. doi: 10.15386/cjmed-712
150. Barzon L, Boscaro M, Paenti M, Taccaliti A, Palu G. Evaluation of circulating thyroid-specific transcripts as markers of thyroid cancer relaps. *Int J Cancer* 2004;110:914-20.
151. Ringel MD, Balducci Silano-PL, Anderson JS, Spencer CA, Silverman J, Sparling YH, et al. Quantitative reverse transcription-PCR of circulating thyroglobulin messenger ribonucleic acid for monitoring Patients with thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4037-42.
152. Ringel MD. Molecular Detection of Thyroid Cancer: Differentiating „Signal“ and „Noise“ in Clinical Assays. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:29-32. doi.org/10.1210/jc.2003-031956
153. Teama SH, Agwa SHA, Fawzy A, Sayed MM, Ibrahim WA, Eid YM. Molecular detection of circulating thyroid specific transcripts (TSHR/Tg-mRNAs) in thyroid cancer patients: Their diagnostic significance. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics.* 2011;12:201-9.
154. Gupta M, Chia Su-Ynn. Circulating thyroid cancer markers. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity.* 2007;14:383-88.
155. Liu T, Men Q, Su X, Chen W, Zou L, Li Q et al. Downregulated expression of TSHR is associated with distant metastasis in thyroid cancer. *Oncol. Lett.* 2017;14:7506-12.
156. Szkudlinski MW, Fremont V, Ronin C, Weintraub BD. Thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor structure-function relationships. *Physiol Rev.* 2002;82:473-502.
157. Blakaj and Bucala. Fibrocytes in health and disease. *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2012;5:S6.
158. Cianfarani F, Baldini E, Cavalli A, Marchioni E, Lembo L, Teson M et al. TSH Receptor and Thyroid-Specific Gene Expression in Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology.* 2010;130: 93–101. doi:10.1038/jid.2009.1800
159. Fernando R, Atkins S, Raychaudhuri N, Lu Y, Li B, Douglas SR et al. Human fibrocytes coexpress thyroglobulin and thyrotropin receptor. *PNAS.* 2012;109:7427–32.

160. Takano T, Miyauchi A, Yoshida H, Hasegawa Y, Kuma K, Amino N. Quantitative measurement of thyroglobulin mRNA in peripheral blood of patients after total thyroidectomy. *Br J Cancer*. 2001;85:102–6. doi: 10.1054/ bjoc.2001.1904
161. Bojunga J, Röddiger S, Stanisch M, Kusterer K, Kurek R, Renneberg H et al. Molecular detection of thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of patients with thyroid disease by RT–PCR. *Br J Cancer*. 2000;82:1650-55. doi:10.1054/bjoc.1999.1209
162. Ruggeri RM, Campenni A, Baldari S, Trimarchi F, Trovato M. What is new on thyroid cancer biomarkes, *Biomark Insights*. 2008;3:237-252.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2688342/pdf/bmi-03-237.pdf>
163. Gupta M, Taguba L, Arciaga R, Siperstein A, Faiman C, Mehta A et al. Detection of Circulating Thyroid Cancer Cells by Reverse Transcription-PCR for Thyroid-stimulating Hormone Receptor and Thyroglobulin: The Importance of Primer Selection. *Clinical Chemistry*. 2002;48:1862-65.
164. Wingo ST, Ringel MD, Anderson JS, Patel AD, Lukes YD, Djuh YY, et al. Quantitative reverse transcription-PCR measurement of thyroglobulin mRNA in peripheral blood of healthy subjects. *Clin Chem*. 1999;45:785–9.
165. Eszlinger M, Neumann S, Otto L, Paschke R. Threoglobulin mRNA quantification in the peripheral blood is not a reliable marker for the follow-up of the patients with differentiated thyroid cancer. *European Journal of Endocrinology*. 2002;147:575-82.
166. Chia SY, Milas M, Sethu K Reddy, Siperstein A, Skugor M. Thyroid – Stimulating Hormon Receptor Messenger Ribonucleic Acid Measurment in Blood as a Marker for Circulating Thyroid Cancer Cells and Its Role in the Preoperative Diagnosis of Thyroid Cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:468-75.
167. Grammatopoulos D, Elliot Y, Smith SC, Brown I, Grieve RJ, Hillhouse EW et al., Measurment of thyroglobulin mRNA in peripheral blood as an adjunvtive test for monitoring thyrod cancer. *J Clin Pathol: Mol Pathol*. 2003;56:162-66.
168. Banys-Paluchowski M, Krawczyk N, Fehm T. Potential Role of Circulating Tumor Cell Detection and Monitoring in Breast Cancer: A Review of Current Evidence. *Front Oncol*. 2016;6:255.
169. Verburg FA, Lips CJM, Lentjes EGWM, De Klerk JMH. Detection of circulating Tg-mRNA in the follow-up of papillary and follicular thyroid cancer: how useful is it? *BJC*. 2004;91:200-4. doi: 10.1038/sj.bjc.6601991
170. Torosian L, Manrique G, Alvarez B, Lago G, Roca R, Belzarena C. Blood thyroglobulin and TSH receptor mRNA detection by RT-PCR in the follow-up of differentiated thyroid cancer patients. *Rev Esp Med Nucl*. 2010;29:109-13.
171. Elisei R, The Vivaldi, Agate L, Molinaro And Nencetti C, G Grasso et al. Low specificity of blood thyroglobulin messenger ribonucleic acid assay Prevents its use in the follow-up of differentiated thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:33-9.
172. Vaisman F, Momesso D, Bulzico DA, et al. Spontaneous remission in thyroid cancer patients after biochemical incomplete response to initial therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;77:132–8.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.2012.04342>
173. Mendes RS, Vaisman M, Pires de Carvalho D. Thyroglobulin amplification mRNA in peripheral blood of Patients with differentiated thyroid carcinoma: what does it really mean? *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50:3. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302006000300004>