

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

**Tyreoidální autoimunita a elasticita tyreoidálních uzlů –
vztah k jejich biologické povaze**

MUDr. Jan Krátký

2019

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: 3. interní klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity
Karlovy a VFN v Praze

Školitel: doc. MUDr. Jan Jiskra, Ph.D.

Konzultant: MUDr. Jindřich Lukáš, CSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

1. Abstrakt.....	4
2. Abstract	4
3. Úvod.....	5
4. Elasticita tyreoidálních uzlů a možnosti jejího vyšetření.....	7
4.1. Elastografie	7
4.2. Analýza strain elastografie.....	8
5. Chronická lymfocytární tyreoiditida a tyreoidální karcinomy	9
6. Cíle práce.....	10
7. Hypotézy	10
8. Metodika	11
9. Výsledky	14
9.1. Vyšetření elasticity tyreoidálních uzlů	14
9.2. Chronická lymfocytární tyreoiditida a riziko TC.....	16
10. Diskuze.....	17
11. Závěr	19
12. Literatura	20
13. Seznam publikací autora	23

1. Abstrakt

Tyreoidální uzly představují velmi častou patologii. S využitím moderních ultrazvukových přístrojů jejich prevalence dosahuje až 68 %. Nejzásadnějším úkolem je včasná detekce tyreoidálního karcinomu, který sice tvoří asi 5-15 % klinicky signifikantních uzlů, ale jeho incidence stále stoupá. Ani s využitím aspirační biopsie tenkou jehlou není vždy možné rozhodnout o biologické povaze uzlu. Velká část těchto pacientů je pak nucena podstoupit diagnostickou operaci štítné žlázy, která je spojena s riziky pro pacienta a zároveň s finančními náklady pro zdravotní systém. V posledních desetiletích je snaha o zlepšení neinvazivní diagnostiky biologické povahy tyreoidálních uzlů. Elasticita tyreoidálních uzlů stanovená pomocí elastografického vyšetření a přítomnost tyreoidální autoimunity patří mezi zkoumané rizikové parametry.

S využitím strain elastografie jsme v naší práci prokázali, že tyreoidální karcinomy mají signifikantně sníženou elasticitu v porovnání s benigními tyreoidálními uzly. Elastografie tyreoidálních uzlů může být využita jako vhodný doplněk konvenčního sonografického vyšetření. Kombinace obou vyšetření zvyšovala negativní prediktivní hodnotu v porovnání s konvenčním přístupem. Výsledky naší práce dále naznačují, že pro potřebu semikvantitativní analýzy elastografie tyreoidálních uzlů pomocí strain ratio, lze v případě absence normálního tyreoidálního parenchymu využít jako referenční oblast okolní krční svaly anebo průřez a. carotis communis.

Pozitivita antityreoidálních autoprotilátek (proti tyreoperoxidáze a tyreoglobulinu) byla v naší práci signifikantně asociovaná s maligní povahou uzlu. S využitím mnohočetné logistické regrese byla pozitivita protilátek proti tyreoperoxidáze identifikována jako nezávislý rizikový faktor tyreoidálního karcinomu. Naopak spontánní suprese TSH pod 0,5 mIU/l představovala protektivní faktor.

2. Abstract

Thyroid nodules represent a very common pathology. Using modern high-resolution ultrasound, nodules could be found in up to 68 % of patients. The

most important task is the diagnosis of thyroid cancer which represents only about 5-15 % of nodules, however the incidence is still growing. Even with the use of a fine needle aspiration biopsy, it is not always possible to decide on the biological nature of the nodule. A significant proportion of such patients have to undergo thyroid surgery for diagnostic reason. Thyroid surgery is associated with risks to the patient and financial costs to the health-care system. In recent decades, the efforts to improve non-invasive diagnostics of thyroid nodules have been made. The thyroid elastography and thyroid autoimmunity are among the examined risk parameters.

Using real-time strain elastography, thyroid carcinomas elasticity has been significantly reduced compared to benign thyroid nodules in our group of patients. The elastography of thyroid nodules can be used as a suitable complement to conventional sonographic examination. In our work, the combination of both methods (conventional ultrasound and elastography) increased negative predictive value compared to both methods individually. The results of our work further indicate that, in case of absence of normal thyroid parenchyma, the surrounding cervical muscles or the content of the carotid artery can be used as an alternative reference region for assessment of strain ratio.

The positivity of antithyroid antibodies (against thyroperoxidase or thyroglobulin) was significantly associated with the thyroid cancer. Using multiple logistic regression, the positivity of the anti-thyroperoxidase antibodies were identified as an independent risk factor for thyroid cancer. On the contrary, the spontaneous suppression of TSH below 0.5 mIU/l was a protective factor.

3. Úvod

Tyreoidální uzly jsou definovány jako jakékoliv ložisko s odlišnou strukturou od okolního parenchymu štítné žlázy. Jde o patologii s vysokou prevalencí, která bývá často diagnostikovaná náhodně při radiodiagnostickém vyšetření krku z jiné indikace. S využitím moderních ultrazvukových přístrojů je možné určité uzlové nebo pseudocystické změny detekovat až u 68 %

populace (Guth S. et al., 2009). Tyreoidální uzly mohou být spojeny s těmito specifickými riziky:

1. Syndromy z útlaku okolních struktur na krku a v mediastinu
2. Hypertyreóza způsobená autonomní sekrecí tyreoidálních hormonů
3. Riziko malignity uzlu

Diagnostika prvních dvou rizik je relativně snadná. Naopak včasná diagnostika tyreoidálního karcinomu (TC) je složitější. TC je nejčastější endokrinologickou malignitou, jejíž výskyt v posledních desetiletích prudce narůstá. Nejčastější histologickou variantou je papilární karcinom štítné žlázy (PTC), který představuje nejméně 84 % (Aschebrook-Kilfoy B. et al., 2011). Na nárůstu incidence TC se jistě podílí i vysoká rozlišovací schopnost současných citlivých sonografických přístrojů, díky které nyní diagnostikujeme i mikrokarcinomy, které by se v minulosti nemusely klinicky vůbec manifestovat.

Ani s pomocí cytologického vyšetření pomocí aspirační biopsie tenkou jehlou (FNAB) není vždy možné jednoznačně rozhodnout o biologické povaze uzlu. Asi 20–25 % cytologií má nediagnosticský nebo neurčitý výsledek (Bongiovanni M. et al., 2012), který může vést k diagnostické operaci spojené s perioperačním rizikem a finančními náklady. Riziko malignity je však u těchto pacientů relativně nízké (do 30 %) (Cibas E. S. and Ali S. Z., 2017). Při vysoké prevalenci tyreoidálních uzlů je někdy problematické i rozhodnout, které uzly mají být indikované k FNAB.

Z výše zmíněných důvodů se v posledních letech se intenzivně studují rizikové faktory a hledají nové vyšetřovací možnosti, které by zlepšily současné možnosti neinvazivní diagnostiky. V tomto směru bylo opakovaně testováno vyšetření elasticity tyreoidálních uzlů pomocí elastografie a opakovaně bývá diskutován vztah mezi autoimunitním zánět štítné žlázy a rizikem TC. Těmito tématy jsem se zabýval během mého postgraduálního studia a jsou součástí této dizertační práce.

4. Elasticita tyreoidálních uzlů a možnosti jejího vyšetření

Růst buněk tumorů je odlišný od růstu normální zdravé tyreoidální tkáně, což může ovlivňovat mechanické vlastnosti nádorové tkáně. Zdá se, že většina maligních tumorů má v porovnání s benigními tkáněmi nižší elasticitu. Na nižší elasticitě maligních tumorů se kromě vyšší denzity maligních buněk podílí i vyšší tlak intersticiální tekutiny, který může dosahovat až 60 mmHg (Heldin C. H. et al., 2004). K nárůstu tlaku intersticiální tekutiny tumoru přispívá zvýšená propustnost cév a neefektivní drenáž infiltrovanými lymfatickými cestami. Díky vyšší koncentraci proteinů lokálně stoupá onkotický tlak a do intersticia tumoru je tak nasávána tekutina. Na „netěsnosti“ nádorových cév se může podílet lokální nadprodukce VEGF a cytokinů z aktivovaných imunitních buněk, které infiltrují stroma tumoru.

Ke snížené elasticitě maligních tumorů může dále přispívat hustší síť kolagenních vláken a zvýšený počet fibroblastů v extracelulární matrix. Tuhost tyreoidálních karcinomů mohou dále zvyšovat i tkáňové makrokalifikace i mikrokalifikace a okrajové kalifikace, které jsou typické pro některé karcinomy štítné žlázy (Yi L. et al., 2017). Faktory přispívající ke snížené elasticitě tumorózní tkáně jsou shrnuty v tabulce 1.

Faktory snižující elasticitu tumorózní tkáně

Vyšší denzita tumorózních buněk

Zvýšený tlak tekutiny v intersticiu tumoru

Kalifikace (mikrokalifikace, makrokalifikace, okrajové kalifikace)

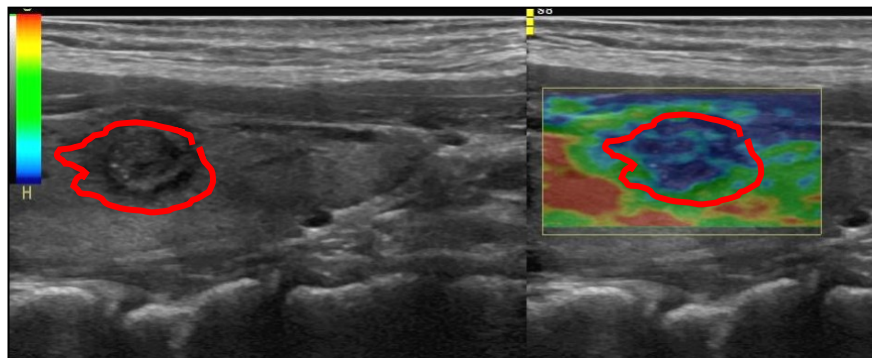
Hustší síť kolagenních vláken a fibroblastů

Tabulka 1: Faktory snižující elasticitu tumorózní tkáně

4.1. Elastografie

Elastografii poprvé představil již v roce 1991 Ophir (Ophir J. et al., 1991). Jedná se o modalitu sonografického vyšetření, která umožňuje stanovit elasticitu vyšetřované tkáně. Existují různé typy ultrazvukové elastografie -

strain elastografii (SE) je rozšířenější, jejím výstupem je tzv. elastogram – mapa s relativním rozložením elasticity nad vyšetřovanou oblastí. Princip SE je založen na snímání deformace vyšetřované tkáně pomocí tkáňového Dopplera při působení zevního tlaku. Příklad elastogramu PTC je uveden na obrázku 1.



Obr. 1: Elastogram papilárního karcinomu štítné žlázy (modrá barva znázorňuje tuhé tkáně) (archiv autora)

4.2. Analýza strain elastografie

Elastogram je možné hodnotit kvalitativně s využitím skórovacích systémů, pomocí kterých vizuálně posuzujeme rozložení elasticity vyšetřovaného uzlu v porovnání s okolním parenchymem.

Další možností je výpočet tzv. „strain ratio“. Jedná se o poměr relativních elasticit dvou definovaných oblastí. V elastografii tyreoidálních uzlů se jako referenční oblast obvykle využívá okolní normální tyreoidální tkáň. Některé studie ukazují, že má lepší výpovědní hodnotu než skórovací systémy (Razavi S. A. et al., 2013). Strain ratio redukuje interpersonální i intrapersonální variabilitu, nedokáže ji však zcela eliminovat, protože výsledek lze ovlivnit mimo jiné i nesprávně zvolenou referenční oblastí.

Vyšetření elasticity tyreoidálních uzlů se již objevuje jako doplňková metoda v posledních aktualizacích doporučení některých odborných

společností (ATA, ETA, ČES ČLS JEP) (Haugen B. R. et al., 2016, Russ G. et al., 2017). Hlavní limitace elastografie štítné žlázy jsou:

- velikost uzlu (>30 mm a <5 mm)
- uzly s makrokalcifikacemi
- cystické uzly
- uzly lokalizované hluboko dorzálně nebo istmická lokalizace uzlu
- absence referenční oblasti (zdravé tyreoidální tkáň)

5. Chronická lymfocytární tyreoiditida a tyreoidální karcinomy

Prevalence chronické lymfocytární tyreoiditidy (CLT) se odhaduje kolem 5-10 %, přičemž ženy jsou postiženy asi 5-8x častěji než muži a riziko onemocnění stoupá podobně jako u tyreoidálního karcinomu s věkem (McLeod D. S. and Cooper D. S., 2012). CLT bývá spojena s pozitivitou antityreoidálních autoprotilátek (proti tyreoidální peroxidáze [anti-TPO] a tyreoglobulinu [anti-Tg]) V oblastech s dostatečným zásobením jódem je CLT nejčastější příčinou hypotyreózy. Dlouhodobá iritace tkáň chronickým zánětem, produkce volných kyslíkových radikálů a imunologické změny v terénu chronického zánětu mohou být spojeny s buněčnými atypii, které zvyšují riziko kancerogeneze. Souvislost mezi autoimunitním zánětem a karcinomy štítné žlázy však zatím není plně objasněna.

Souvislost mezi tyreoidálními karcinomy a CLT poprvé popsal Dailey již v roce 1955, který v histologických vzorcích tyreoidálních tumorů pozoroval častou okolní lymfocytární infiltraci a vyslovil hypotézu o možné kauzální souvislosti (Dailey M. E. et al., 1955). Rozsáhlá meta-analýza od Lee et al. z roku 2013, prokázala signifikantní asociaci mezi PTC a histologickým nálezem CLT (Lee J. H. et al., 2013). Tyto výsledky sice ukazují častou koincidenci obou onemocnění, při absenci prospektivních studií však nelze považovat CLT za jednoznačný rizikový faktor tyreoidální kancerogeneze. Lymfocytární infiltraci v okolí tumoru lze totiž také vysvětlit jako přirozenou imunitní reakci organismu na přítomnost nádorových buněk. Vztah mezi tyreoidálními autoprotilátkami a rizikem PTC také není jasný. Některé práce

našly asociaci mezi pozitivním titrem anti-Tg a výskytem PTC (Azizi G. et al., 2014). V jiné práci Fiore et al. neprokázali asociaci mezi pozitivitou antityreoidálních protilátek a cytologickým nebo histologickým nálezem PTC, a to i přesto, že histologický průkaz lymfocytární infiltrace v okolí uzlu byl v jejich studii výrazně asociován s diagnózou PTC (Fiore E. et al., 2009).

Na druhou stranu je třeba uvést, že pozitivní antityreoidální protilátky (anti-TPO nebo anti-Tg) nebo sonografické známky tyreoiditidy se vyskytují nejméně u 10-12 % populace (Hollowell J. G. et al., 2002), přesto se u naprosté většiny těchto osob PTC nevyvine.

6. Cíle práce

- 1) Ověřit, zda u tyreoidálních karcinomů dochází ke změně mechanických vlastností nádorové tkáně, a tím ke změně jejich elasticity. K tomuto účelu jsme použili real-time strain elastografii. Elasticitu tyreoidálních uzlů jsme stanovili kvalitativně pomocí pětistupňového Tsukuba skóre a semikvantitvě pomocí strain ratio. Jako referenční oblast pro strain ratio sloužila okolní tyreoidální tkáň, ale i krční svaly a a. carotis communis. Pokud by se tkáň v okolí štítné žlázy ukázala jako vhodná referenční oblast pro elastografii tyreoidálních uzlů, umožnilo by to vyšetření i uzlů, které byly dosud nevyšetřitelné, eventuálně vyšetřitelné s výraznými limitacemi (objemné uzly, u kterých v okolí chybí normální tyreoidální tkáň, polynodálně přestavěné štítné žlázy a uzly v terénu CLT).
- 2) Zjistit, zda je biologická povaha tyreoidálních uzlů asociována s markery autoimunitní tyreoiditidy [anti-Tg, anti-TPO, sonografické známky autoimunitní tyreoiditidy] a tyreoidální funkce (TSH).

7. Hypotézy

- 1) Snížená elasticita tyreoidálních uzlů v porovnání s okolní tyreoidální tkání a s okolními anatomickými strukturami v oblasti krku (a. carotis

communis, krční svaly) je asociována s vyšším rizikem tyreoidální malignity.

- 2) Přítomnost tyreoidálních autoprotilátek, sonografických markerů chronické lymfocytární tyreoiditidy a snížená tyreoidální funkce (elevace TSH) jsou asociovány s vyšším rizikem malignity tyreoidálního uzlu.

8. Metodika

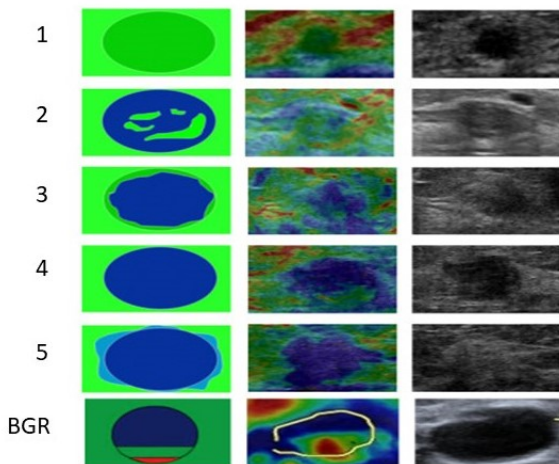
Výběr pacientů

Účastníci této práce se rekrutovali z pacientů, kteří byli odesláni k provedení FNAB na základě platných indikačních kritérií. K analýze tyreoidálních protilátek a markerů tyreoidální autoimunity byla použita i starší data získaná na pacientech podstupujících FNAB již od roku 2006. Všichni pacienti s TC měli histologickou verifikaci. Kontrolní skupina byla tvořena pacienty s histologicky benigními uzly anebo pacienty s benigní cytologií a s minimálně 1 rok stacionárním nálezem na ultrazvuku (bez signifikantní progresse velikosti uzlu).

Ultrazvukové a elastografické vyšetření

Sonografické a elastografické vyšetření tyreoidálních uzlů bylo provedeno na přístroji GE LogiQ před provedením FNAB. K pozdější analýze byl uložen podélný i transverzální B mode obrázk sledovaného uzlu a elastografická smyčka v obou rovinách. Konvenční sonografie tyreoidálních uzlů byla zaměřena na přítomnost klasických rizikových faktorů TC, tj. hypoechogenita uzlu, nepravidelný okraj uzlu, větší předozadní než transverzální rozměr uzlu a přítomnost tkáňových mikrokalcifikací nebo obvodových calcifikací. V okolním tyreoidálním parenchymu byla sonograficky hodnocena přítomnost změn typických pro CLT, tj. nehomogenní, hypoechogenní parenchym, se zvýšenou vaskularizací žlázy.

Vyšetření elasticity tyreoidálních uzlů bylo hodnoceno kvalitativně pomocí 5stupňového Tsukuba skóre (viz. obr. 2) (Itoh A. et al., 2006). Za rizikové bylo považováno skóre 4 nebo 5.

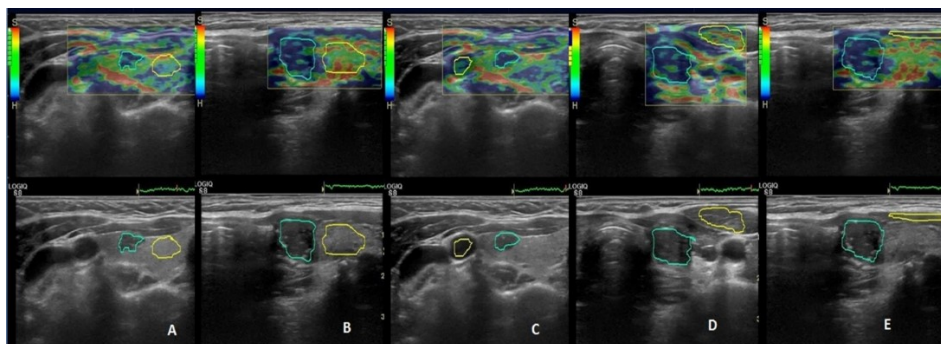


Obr 2. Tsukuba skóre k hodnocení strain elastografie (Itoh A. et al., 2006) (1 – celá plocha uzlu je elastická, 2 – většina plochy uzlu je elastická, 3 – elasticita v periferních částech uzlu, 4 – celý uzel se jeví jako tuhý, 5 – celý uzel a pozadí uzlu se jeví jako tuhé, BGR – typický fenomén pro cystické léze)

Semikvantitativní hodnocení elasticity uzlu (“strain ratio”)

Za oblast zájmu jsme zvolili vyšetřovaný tyreoidální uzel. Jako kontrolní oblast jsme použili nejen okolní tyreoidální parenchym (v podélné rovině [SR-ThyL], v transverzální rovině [SR-ThyT]), ale i okolní krční svaly (infrahyoidní svaly v podélné rovině [SR-MusL] a musculus sternokleidomastoideus v příčné rovině [SR-MusT]) a průřez a. carotis communis v transverzální rovině [SR-CarT]). A. carotis communis, vyplněná krví jako nestlačitelnou tekutinou, se může zdát kontroverzní jako kontrolní oblast pro elastografické vyšetření. Nicméně byla již v minulosti úspěšně použita v práci Zhang et al. jako referenční oblast při stanovení elasticity arteriální stěny (Zhang Y. H. et al., 2012). Navíc jsme tento přístup předem otestovali u 12 jedinců se zdravou štítnou žlázou, u kterých jsme stanovili SR mezi normálním tyreoidálním parenchymem a průřezem a. carotis communis. Získané výsledky byly velice

konzistentní. Příklady všech oblastí, které byly použity pro výpočet SR, jsou uvedeny na obrázku 7. Pokud to bylo možné, byla kontrolní oblast umístěna do stejné hloubky a měla podobnou velikost a tvar jako vyšetřovaný uzel.



Obr. 7 Příklady referenčních oblastí využitých k výpočtu strain ratio (SR)

- A) porovnání uzlu s tyreoidálním parenchymem transverzálně (SR-ThyT)
- B) porovnání uzlu s tyreoidálním parenchymem longitudinálně (SR-ThyL)
- C) porovnání uzlu s průřezem a. carotis communis transverzálně (SR-CarT)
- D) porovnání uzlu s krčními svaly transverzálně (SR-MusT)
- E) porovnání uzlu s krčními svaly longitudinálně (SR-MusL)

Hodnocení vztahu tyreoidální funkce a tyreoidálních autoprotilátek k riziku malignity uzlu

K hodnocení tyreoidální funkce jsme vyhledali nejbližší laboratorní výsledek předcházející biopsii štítné žlázy, hodnotili jsme hladinu TSH. Za normální hodnoty TSH jsme považovali rozmezí 0,5-5,0 mIU/l. Do studie nebyli zařazeni žádní pacienti s centrální poruchou tyreotropní osy. Spolu s tyreoidální funkcí jsme hodnotili i to, zda pacienti užívali v období odběru (tj. před FNAB) terapii levotyroxinem. Výsledky antityreoidálních protilátek (Anti-TPO a Anti-Tg) byly dostupné z různých laboratoří, které měly odlišné normy, proto jsme hodnotily pouze pozitivitu a negativitu jednotlivých protilátek. Do logistické regresní analýzy nebyla použita data týkající se anti-Tg z důvodu chybějících dat u některých pacientů.

9. Výsledky

9.1. Ultrazvukové a elastografické vyšetření tyreoidálních uzlů

Porovnání četnosti a absolutních hodnot sledovaných parametrů

Z pohledu klasických rizikových faktorů byla s TC signifikantně asociována přítomnost nepravidelného okraje uzlu, přítomnost mikrokalcifikací a přítomnost alespoň jednoho ze sledovaných konvenčních rizikových faktorů.

S využitím elastografického skóre byly TC signifikantně tužší v porovnání s benigními uzly, rizikové elastografické skóre (4 nebo 5) bylo nalezeno v obou rovinách častěji u karcinomů v porovnání s benigními uzly (viz. tabulka 2).

SR bylo u TC signifikantně vyšší v porovnání s benigními uzly ve všech případech kromě SR-ThyT. Výsledky jsou podrobně uvedeny v tabulce č. 3

	Karcinomy	Benigní uzly	P
Hypoechogenita	11/22 (50%)	13/39 (33%)	0.27
přítomnost calcifikací	14/22 (64%)	6/39 (15%)	<0.001
nepravidelný okraj	16/22 (73%)	12/39 (31%)	0.003
centrální vaskularizace	13/22(59%)	22/39 (56%)	1.00
alespoň 1 sonografický faktor	18/22 (82%)	21/39 (54%)	0.05
ES 4 nebo 5 podélně	13/21 (62%)	8/38 (21%)	0.004
ES 4 nebo 5 transversálně	14/21 (67%)	4/37 (11%)	<0.001

Tabulka 2. Rozložení konvenčních rizikových sonografických faktorů a rizikového elastografického skóre

	Karcinomy	Kontroly	Cut off	P
SR-ThyL	2.21 ± 1.28	1.21 ± 0.82	1.8	0.001
SR-ThyT	1.69 ± 0.77	1.30 ± 0.84	1.1	0.100
SR-MusL	1.61 ± 1.15	0.93 ± 0.67	0.8	0.007
SR-MusT	1.9 ± 1.01	0.76 ± 0.48	0.9	0.001
SR-CarT	0.86 ± 0.37	0.54 ± 0.17	0.6	<0.001

Tabulka 3: Rozložení strain ratio (SR) mezityreoidálními karcinomy a benigními kontrolami (vyjádřeno jako střední hodnota ± standardní odchylka), vypočtené prahové hodnoty

Analýza senzitivity

NPV elastografického skóre byla podobná jako u konvenčních sonografických faktorů (83 % vs. 81 % - alespoň 1 pozitivní rizikový sonografický faktor). Podobný výsledek byl i s využitím SR-ThyL (77%). Nejvyšší NPV izolovanou metodou bylo dosaženo s využitím SR-CarT a SR-MusL (89 % a 92 %). Kombinací SR-MusL a konvenčního ultrazvuku stoupla NPV dokonce na 100 %. V izolované skupině pacientů s CLT byla vypočtená NPV u SR-MusL (100 %) v porovnání s SR-ThyL (67 %) a elastografickým skóre (75 %). Podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

	Senzitivita	Specificita	PPV	NPV
alespoň 1 sonografický faktor	82%	46%	49%	82%
ES transverzálně	67%	89%	78%	83%
ES longitudinálně	62%	79%	62%	79%
SR-ThyL	53%	94%	83%	77%
SR-ThyT	75%	61%	56%	79%
SR-MusL	91%	59%	58%	92%
SR-MusT	62%	83%	68%	78%
SR-CarT	85%	66%	59%	89%
Konvenční US + SR-MusL	100%	33%	46%	100%

Tabulka 4. Senzitivita, specificita, negativní prediktivní hodnota (NPV) a pozitivní prediktivní hodnota (PPV) konvenční sonografie, elastografie a jejich kombinací

Závěr:

Výsledky práce ukazují, že tyreoidální onkogeneze je spojena se změnou mechanických vlastností tkáně, jejichž následkem se TC při elastografickém vyšetření jeví tužší v porovnání s benigními uzly. Elastografie tak má potenciál vylepšit neinvazivní diagnostiku tyreoidálních uzlů. S kombinovaným využitím SR a konvenčních sonografických faktorů jsme dosáhli až 100 % NPV, využití alternativních kontrolních oblastí pro stanovení SR (krční svaly, a. carotis communis) se zdá být vhodné v případech kdy není dostupný vhodný okolní parenchym (CLT, polynodozní struma, objemné uzly).

9.2. Chronická lymfocytární tyreoiditida a riziko TC

Celkem byla analyzována data od 2571 pacientů, z nich bylo vybráno 91 pacientů s TC, kontrolní skupinu tvořilo 182 pacientů s benigními tyreoidálními uzly. Pozitivita anti-TPO a anti-Tg byla v této práci asociována s tyreoidálním karcinomem (viz. tabulka 5). Pacienti s tyreoidálními karcinomy měli signifikantně vyšší TSH (medián 1,88 mIU/l u karcinomů, vs. 1,21 u benigních uzlů, $P < 0.001$). Pozitivita anti-TPO byla s využitím mnohočetné logistické regrese indentifikována jako nezávislý rizikový faktor tyreoidálního karcinomu (OR 2,21, $p = 0,018$). Ve skupině pacientů, kteří nebyli léčeni levotyroxinem, byla spontánní suprese TSH pod 0,5 mIU/l protektivním faktorem přítomnosti tyreoidálního karcinomu (OR 0,3; $p = 0,01$). Suprese TSH u pacientů léčených levotyroxinem nebyla asociována s nižším rizikem malignity (OR 1,09, $p = 0,914$). Sonografické známky tyreoiditidy se také vyskytovaly častěji u tyreoidálních karcinomů, rozdíl však nedosahoval statistické významnosti (35 % u karcinomů, vs. 27 % u benigních uzlů, $p = 0,16$).

	Karcinomy	Benigní uzly	P
Věk	57 (41-66)	57 (41-66)	0.95
Pohlaví (M:Ž)	20:71	40:142	1
Terapie levotyroxinem	21/91 (23%)	47/182 (26%)	0.72
Objem štítné žlázy (ml)	13.8 (9.5-19.5)	12.7 (9-18.5)	0.55
TSH (mIU/l)	1.88 (0.92-2.93)	1.21 (0.59-1.87)	< 0.001
Pozitivita Anti-TPO	40/91 (44%)	49/182 (27%)	0.005
Pozitivita Anti-Tg	27/78 (35%)	36/174 (21%)	0.018
Sonografické známky CLT	32/91 (35%)	49/182 (27%)	0.16
TSH pod 0.5 (mIU/l)	11/91 (12%)	40/182 (22%)	0.029
TSH nad 5 (mIU/l)	5/91 (5,5%)	7/182 (3,8%)	0.53

Tabulka 5: Porovnání karcinomů a kontrolní skupiny benigních uzlů

Závěr:

CLT diagnostikovaná dle positivity tyreoidálních autoprotilátek byla asociována s maligní biologickou povahou uzlu. Na základě tohoto výsledku však nelze CLT považovat za rizikový faktor vzniku TC. Vzhledem k tomu, že

se jednalo o průřezovou studii, není možné určit, zda byly protilátky pozitivní již před vznikem tyreoidálního karcinomu, anebo zda se jednalo o součást reaktivní zánětlivé reakce v přítomnosti tyreoidálního karcinomu. Lze však usuzovat, že pacienti s tyreoidálními uzly, kteří mají pozitivní anti-TPO nebo anti-Tg zasluhují větší pozornost, především pokud mají vyšší normální nebo zvýšené hladiny TSH.

10. Diskuze

Výsledky naší práce, podobně jako jiné předchozí studie ukazují, že tyreoidální karcinomy jsou tužší v porovnání s benigními tyreoidálními uzly. Rozdíl byl statisticky signifikantní s využitím Tsukuba skóre (v longitudinální i transverzální rovině uzlu). Rizikové skóre, za které jsem považoval hodnotu 4 nebo 5, jsem našel u 67 % karcinomů při vyšetření v transverzální rovině a u 62 % karcinomů při vyšetření v longitudinální rovině oproti 11 % benigních uzlů v transverzální rovině ($p < 0,001$) a 21 % benigních uzlů v longitudinální rovině ($p = 0,004$).

Rozdíl mezi elasticitou obou skupin jsem pozoroval také při využití SR. Distribuce SR v porovnání s okolním tyreoidálním parenchymem se však statisticky signifikantně lišila pouze v longitudinální rovině (průměr SR-ThyL 2,21 u karcinomů, vs. 1,21 u benigních uzlů; $p=0,001$). V případě transverzálního rozměru byl pouze naznačen trend. Navíc negativní prediktivní hodnota (NPV) SR-ThyL je mírně horší v porovnání s elastografickým skóre (transverzálně 77 % vs. 83 %). Mírně horší výsledky SR jsou částečně v rozporu s některými literárními zdroji. Například výsledky meta-analýzy Razavi et al. totiž naopak poukazovaly na lepší výsledky SR v porovnání s elastografickým skóre (Razavi S. A. et al., 2013). Vysvětlením této diskrepance v naší práci je pravděpodobně vysoký výskyt CLT (56 % pacientů s tyreoidálním karcinomem mělo pozitivní anti-TPO). Infiltrace zánětlivými buňkami, fibrotizace a edém tkáně může snižovat elasticitu parenchymu štítné žlázy a může vést k falešnému snížení poměru relativní elasticity mezi vyšetřovaným uzlem a tkání CLT (Sahin M. et al., 2014).

K eliminaci toho jevu jsem za referenční oblast zvolil okolní krční svaly (transverzálně i longitudinálně) a transverzální průřez a. carotis communis. Ve všech 3 referenčních oblastech jsem našel signifikantní rozdíl v distribuci SR, u tyreoidálních malignit byl vždy SR vyšší v porovnání s benigními uzly. Na základě těchto výsledků lze považovat okolní krční svaly a obsah a. carotis communis za potenciální vhodné alternativní referenční oblasti, není-li dostupný okolní normální tyreoidální parenchym. S využitím SR-CarT a SR-MusL bylo dosaženo výrazně lepší NPV než v případě SR s kontrolní oblastí v tyreoidálním parenchymu (89 % respektive 92 % vs. 79 %). Navíc, v podskupině pacientů s pozitivními anti-TPO protilátkami dosahovala NPV SR-MusL 100 %. Pokud jsem kombinoval klasické ultrazvukové rizikové faktory tyreoidálního uzlu s elastografickým vyšetřením (konkrétně SR-MusL) dosáhl jsem 100 % NPV.

Výsledky naší práce, která analyzovala data celkem od 2571 pacientů naznačují, že pacienti, kteří mají tyreoidální uzel a pozitivní antityreoidální autoprotilátky mohou mít vyšší riziko tyreoidální malignity. Anti-Tg byly pozitivní u 35 % pacientů s tyreoidálním karcinomem, oproti 21 % pacientů s benigními uzly ($p = 0,018$), anti-TPO protilátky u 44 % karcinomů v porovnání s 27 % u benigních uzlů ($p = 0,005$). V mnohočetné regresní analýze byly anti-TPO protilátky identifikovány jako nezávislý prediktor malignity tyreoidálního uzlu, který zvyšoval riziko 2,28krát v porovnání s anti-TPO negativními pacienty. Přítomnost sonografických známek CLT nekorelovala signifikantně s biologickou povahou uzlu (35 % u karcinomů, vs. 21 % u benigních uzlů, $p = 0,16$). Důvodem může být subjektivní pohledem vyšetřujícího, ale i lokální imunitní reakce omezená pouze na okolí tumoru, která nevyvolá difúzní tyreoiditidu, ale může způsobit produkci antityreoidálních protilátek. Tuto hypotézu podporuje i skutečnost, že 13 z 91 pacientů s TC mělo pozitivní antityreoidální protilátky a normální sonografický nález.

V kontrolní skupině pacientů s benigními tyreoidálními uzly jsme také našli signifikantně nižší plazmatické koncentrace TSH (medián 1,21 mIU/l u benigních uzlů vs. 1,88 mIU/l u tyreoidálních karcinomů, $p < 0,001$). Tyto

výsledky podobně jako v práci Boelaerta et al. naznačují, že vyšší hladina TSH, která stimuluje tyreocyty, může mít vliv na tyreoidální onkogenezi (Boelaert K. et al., 2006). CLT je přitom v oblastech s dostatečným zásobením jódu, nejčastější příčinou hypotyreózy. V logistické regresní analýze se riziko tyreoidální malignity snižovalo s klesající plazmatickou koncentrací TSH. Pacienti s TSH spontánně sníženým pod 0,5 mIU/l měli v mé práci 2,4krát nižší riziko tyreoidální malignity v porovnání s pacienty s normální nebo zvýšenou koncentrací TSH. Tento protektivní vliv nízkého TSH u našich pacientů nebyl patrný u pacientů léčených levotyroxinem.

Na základě našich dat lze usuzovat, že samotná pozitivita antityreoidálních protilátek by měla vést k obezřetnějšímu klinickému přístupu k pacientům s tyreoidálními uzly. Nelze však rozhodnout, zda zvýšená prevalence antityreoidálních protilátek je příčinou anebo následkem TC.

Aktivace cytotoxických CD8 T lymfocytů, které u pacientů s CLT patologicky reagují na tyreoidální autoantigeny může paradoxně chránit před progresí tyreoidálního karcinomu. V souladu s tím byla v rozsáhlé meta-analýze Lee et al. extratyroidální invaze tumoru a přítomnost pozitivních lymfatických uzlin asociována s absencí CLT, a naopak pacienti s CLT měli delší interval bez recidivy onemocnění (Lee J. H. et al., 2013). V naší práci se během sledování (medián 63 měsíců) vyskytly 2 (2,2 %) lokální recidivy. Tento počet je nedostatečný k vyvozování statisticky významných závěrů, nicméně obě se vyskytly u pacientů bez CLT.

11. Závěr

- 1) Výsledky naší práce ukazují, že snížená elasticita uzlu, vyšetřená pomocí elastografie je asociována s DTC. Přidání elastografie ke klasické sonografii zlepšuje diagnostické možnosti neinvazivního vyšetření tyreoidálního uzlu.
- 2) Pilotní výsledky mé práce naznačují, že v případě chybějícího normálního okolního tyreoidálního parenchymu lze k semikvantitativnímu hodnocení tyreoidální elasticity využít jiné krční struktury (krční svaly, obsah a. carotis communis). Tento přístup však potřebuje ověřit na větším počtu pacientů.

- 3) Pozitivita tyreoidálních autoprotilátek (anti-TPO nebo anti-Tg) byla v naší práci asociována s vyšším rizikem maligní povahy uzlu. Zůstává nejasné, zda je samotná přítomnost chronické lymfocytární tyreoiditidy predispozicí k tyreoidálnímu karcinomu, nebo je vyšší výskyt positivity antityreoidálních protilátek vyvolán reaktivně přítomností maligně transformovaných buněk.
- 4) Spontánní suprese TSH (TSH $<0,5$ mIU/l bez terapie levotyroxinem) byla v mé práci spojena s 2,4krát nižším rizikem maligní povahy tyreoidálního uzlu.

12. Literatura

Aschebrook-Kilfoy, B., Ward, M. H., et al. Thyroid cancer incidence patterns in the United States by histologic type, 1992-2006. *Thyroid* **21**, 125-134 (2011).

Azizi, G., Keller, J. M., et al. Association of Hashimoto's thyroiditis with thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* **21**, 845-852 (2014).

Boelaert, K., Horacek, J., et al. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration. *J Clin Endocrinol Metab* **91**, 4295-4301 (2006).

Bongiovanni, M., Spitale, et al. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: a meta-analysis. *Acta Cytol* **56**, 333-339 (2012).

Cibas, E. S. and Ali, S. Z. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid* **27**, 1341-1346 (2017).

Dailey, M. E., Lindsay, et al. Relation of thyroid neoplasms to Hashimoto disease of the thyroid gland. *AMA Arch Surg* **70**, 291-297 (1955).

Fiore, E., Rago, T., et al. Papillary thyroid cancer, although strongly associated with lymphocytic infiltration on histology, is only weakly predicted by serum thyroid auto-antibodies in patients with nodular thyroid diseases. *J Endocrinol Invest* **32**, 344-351 (2009).

Guth, S., Theune, U., et al. Very high prevalence of thyroid nodules detected by high frequency (13 MHz) ultrasound examination. *Eur J Clin Invest* **39**, 699-706 (2009).

Haugen, B. R., Alexander, 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* **26**, 1-133 (2016).

Heldin, C. H., et al. High interstitial fluid pressure - an obstacle in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **4**, 806-813 (2004).

Hollowell, J. G., Staehling, N. W., et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* **87**, 489-499 (2002).

Itoh, A., Ueno, E., et al. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology* **239**, 341-350 (2006).

Lee, J. H., Kim, Y., et al. The association between papillary thyroid carcinoma and histologically proven Hashimoto's thyroiditis: a meta-analysis. *Eur J Endocrinol* **168**, 343-349 (2013).

McLeod, D. S. and Cooper, D. S. The incidence and prevalence of thyroid autoimmunity. *Endocrine* **42**, 252-265 (2012).

Ophir, J., Cespedes, et al. Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imaging* **13**, 111-134 (1991).

Razavi, S. A., Hadduck, T. A., et al. Comparative effectiveness of elastographic and B-mode ultrasound criteria for diagnostic discrimination of thyroid nodules: a meta-analysis. *AJR Am J Roentgenol* **200**, 1317-1326 (2013).

Russ, G., Bonnema, S. J., et al. European Thyroid Association Guidelines for Ultrasound Malignancy Risk Stratification of Thyroid Nodules in Adults: The EU-TIRADS. *Eur Thyroid J* **6**, 225-237 (2017).

Sahin, M., Cakal, E., et al. Elastography in the differential diagnosis of thyroid nodules in Hashimoto thyroiditis. *Med Oncol* **31**, 97 (2014).

Yi, L., Qiong, W., et al. Correlation between Ultrasound Elastography and Histologic Characteristics of Papillary Thyroid Carcinoma. *Sci Rep* **7**, 45042 (2017).

Zhang, Y. H., Gao, Y., et al. Assessment of carotid arterial wall elasticity in type 2 diabetes mellitus patients with microalbuminuria by real-time ultrasound elastography. *Int J Endocrinol* **2012**, 340974 (2012).

13. Seznam publikací autora

Publikace s IF, které se zabývají problematikou dizertační práce

Krátký J, Vítková H, Jiskra J. Thyroid nodules: pathophysiological insight on oncogenesis and novel diagnostic techniques. *Physiol Res*. 2014;63 Suppl 2:S263-75 IF=1,32

Kratky J, Vitkova, Jiskra J. Neck Muscles and Content of Carotid Artery as Reference Tissue for Strain Ratio - a Novel Approach to Improve the Diagnostic Performance of Thyroid Elastography? *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2016 Mar;124(3):192-7 IF=1,62

Krátký J, Ježková J, Jiskra J. Positive Antithyroid Antibodies and Nonsuppressed TSH Are Associated with Thyroid Cancer: A Retrospective Cross-Sectional Study. *International Journal of Endocrinology*, vol. 2018, Article ID 9793850, 6 pages, 2018 IF=2,34

Publikace bez IF, které se zabývají problematikou dizertační práce

Kratky J, Jiskra J. Nové možnosti diagnostiky tyreoidálních uzlů, *DMEV* 2013 (3) 165-173

Kratky J, Jiskra J, Chronická lymfocytární tyreoiditida a karcinom štítné žlázy. *Vnitř Lek*. 2015 Oct;61(10):878-81

Publikace s IF, které se nezabývají problematikou dizertační práce

Jiskra J, Fait T, Bílek R, Krátký J, Bartáková J, Lukáš J, Límanová Z, Telička Z, Zamrazil V, Potluková E. Mild iodine deficiency in women after spontaneous abortions living in an iodine-sufficient area of Czech Republic: prevalence and impact on reproductive health. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Mar;80(3):452-8 IF=3,08

Bartáková J, Potluková E, Rogalewicz V, Fait T, Schöndorfová D, Telička Z, Krátký J, Jiskra J. Screening for autoimmune thyroid disorders after

spontaneous abortion is cost-saving and it improves the subsequent pregnancy rate. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013 Nov 22;13:217 IF=2,331

Jiskra J, Antořová M, Krátký J, Vítková H, Límanová Z, Marečková H, Potluková E. CXCR3, CCR5, and CRTH2 Chemokine Receptor Expression in Lymphocytes Infiltrating Thyroid Nodules with Coincident Hashimoto's Thyroiditis Obtained by Fine Needle Aspiration Biopsy. *J Immunol Res*. 2016:274361 IF=3,23

Cinkajzlová A, Lacinová Z, Kloučková J, Kaválková P, Trachta P, Kosák M, Krátký J, Kasalický M, Doležalová K, Mráz M, Haluzík M. An alternatively activated macrophage marker CD163 in severely obese patients: the influence of very low-calorie diet and bariatric surgery. *Physiol Res*. 2017 Sep 22;66(4):641-652 IF=1,32