Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku

Endokrinologický ústav Praha

MUDr. David Veselý

Úloha růstových faktorů v patogenezi papilárního karcinomu štítne žlázy

Autoreferát disertační práce

Praha 2005

Disertační práce byla vypracována na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku a v Endokrinologickém ústavu v Praze v letech 1999-2005.

Autor: MUDr. David Veselý

Adresa: Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
Endokrinologický ústav, Národní třída 8, 116 94 Praha 1

Obor: Experimentální chirurgie

Hlavní školitel: Prof. MUDr. Jan Betka, DrSc.

Spoluškolitel: Doc. MUDr. Ivan Šterzl, CSc.

Oponenti:

Autoreferát rozeslán dne:

Obhajoba disertace:

Předseda oborové rady Experimentální chirurgie:
Prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

OBSAH

1. PŘEHLED **2**

1.1 Karcinomy štítné žlázy 2

1.2 Cytokiny 3

1.3 Růstové faktory zkoumané v této práci 4

2. CÍLE PRÁCE **8**

3. METODIKA **9**

3.1 Stanovení sérových hladin růstových faktorů 9

3.2 Dynamický model průtokové tkáňové kultury 10

4. VÝSLEDKY A JEJICH ZHODNOCENÍ **11**

5. ZÁVĚRY **15**

6. LITERATURA **16**

7. PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK **19**

8. VLASTNÍ PUBLIKACE **20**

9. SUMMARY **22**

1. PŘEHLED

1.1 Karcinomy štítné žlázy

Karcinomy štítné žlázy představují 1-2 % všech maligních nádorů *(Astl 2002, Bauer 1993)*. Ženy bývají postiženy 3x častěji než muži. Incidence thyroidálních karcinomů má vzestupnou tendenci. V roce 2002 byla v České republice na 100 000 obyvatel u mužů 2,5 a u žen 7,8 *(ÚZIS ČR)*. Rizikovými faktory pro vznik karcinomů štítné žlázy jsou především zevní i vnitřní radiace a zvýšené hladiny thyrotropinu (TSH). Mezi dobře diferencované thyroidální karcinomy s poměrně příznivou prognosou patří karcinom papilární (PTC), folikulární a z Hurtleho buněk. Z parafolikulárních C-buněk vychází medulární karcinom. Velmi nepříznivou prognosu má anaplastický karcinom. PTC je nejčastější thyroidální malignitou (60-80 %).

V diagnostice karcinomů štítné žlázy má nezastupitelnou úlohu sonografie doplněná o punkční cytologii (FNAB) *(Cochand-Priolett et al. 1994)*. V pooperačním období je pro časný záchyt recidivy dobře diferencovaných karcinomů sledována sérová hladina thyroglobulinu *(Schlumberger 1999)*.

Léčebný postup u pacientů s karcinomem štítné žlázy závisí na histologickém typu karcinomu a stadiu onemocnění *(ACOR, UICC)*. U většiny dobře diferencovaných karcinomů (kromě mikrokarcinomů a velmi pokročilých stadií) se provádí

totální thyroidektomie (TTE) následovaná terapií I^{131} a trvalým substitučně-supresním podáváním thyroidálních hormonů.

1.2 Cytokiny

Cytokiny jsou buňkami produkované molekuly s informačními a regulačními účinky. Podílejí se na udržení homeostázy celého organismu. Působí především lokálně – autokrinně a parakrinně. Pro funkci cytokinů je důležitá přítomnost jejich receptorů na povrchové membráně buněk *(Klener 1997, Šterzl 1999)*. Jednou ze skupin látek patřících mezi cytokiny jsou růstové faktory, které se uplatňují při růstu a diferenciaci tkání.

Velká pozornost je v poslední době věnována úloze cytokinů při vzniku a růstu nádorů. Cytokiny ovlivňují růst nádorů nejen přímým působením na buněčnou proliferaci, ale i nepřímo svým vlivem na imunitní systém a angiogenezi *(Klener 1997)*. Podílejí se také na mechanismu nádorového metastazování. Existuje celá řada prací popisujících účast různých cytokinů při vzniku benigní a maligní strumy. Zkoumány byly především EGF (epidermální růstový faktor), IGF (insulinu podobný růstový faktor), FGF (fibroblastový růstový faktor), TGF (transformační růstový faktor), HGF (hepatocytární růstový faktor) a VEGF (vaskulární endotelový růstový faktor). Bylo zjištěno, že všechny tyto růstové faktory (kromě IGF) mají dediferenciační účinek na folikulární buňky štítné žlázy, a že všechny, s výjimkou TGFβ a

VEGF, jsou potenciálními mitogeny těchto buněk. Expanze thyroidální tkáně je provázena expanzí vaskulární sítě, neovaskularizací. Při angiogenezi se uplatňují hlavně bFGF, VEGF, PlGF (placentární růstový faktor) a endoteliny *(Bunone et al. 1999, Ramsden 2000)*.

1.3 Růstové faktory zkoumané v této práci

IGF-I (insulinu podobný růstový faktor I)

IGF-I stimuluje buněčnou utilizaci glukosy, účinkuje mitogenně a podporuje funkce mnoha typů buněk. Ve štítné žláze IGF-I stimuluje fibroblasty, folikulární buňky a snad i endotelie. Jako jeden z mála růstových faktorů podporuje specifické thyroidální funkce *(Bachrach et al. 1988)*. Pro stimulaci růstu a funkce folikulárních buněk je nezbytná synergie IGF-I s TSH, samotný IGF-I je neúčinný. TSH stimuluje produkci IGF-I v tkáni štítné žlázy *(Eggo et al. 1990)*.

IGF-I i jeho receptory byly prokázány v normální štítné žláze, u adenomů i diferencovaných karcinomů štítné žlázy *(Maiorano et al. 2000)*. Silva Filho 1999 popisuje u pacientů s papilárním karcinomem štítné žlázy zvýšenou produkci IGF-I ve více než 90 % nádorových buněk, a to jak v primárním tumoru, tak i v uzlinových metastázách *(Silva Filho et al. 1999)*.

HGF (hepatocytární růstový faktor)

HGF má velmi silný mitogenní efekt, uplatňuje se především ve fázi rychlého růstu buněčné masy *(Eccles et al. 1996)*. Produkce HGF a jeho receptoru (*c-met)* je typickým znakem papilárního karcinomu štítné žlázy. V tkáni normální štítné žlázy a thyroidálních adenomů je přítomnost HGF i jeho receptoru velmi nízká *(Trovato et al. 1998)*.

bFGF (bazický fibroblastový růstový faktor)

bFGF stimuluje růst folikulárních buněk štítné žlázy, má mitogenní a dediferenciační účinky *(Logan et al. 1992)*. Je také výrazným aktivátorem angiogeneze *(Šterzl 1999)*. Zvýšená produkce bFGF trvá jen po dobu rychlého růstu strumy, ve fázi stabilizace velikosti strumy syntéza bFGF i jeho receptorů ustává *(Becks et al. 1994)*.

Výrazně zvýšený výskyt bFGF byl prokázán ve folikulárních buňkách u diferencovaných i anaplastických karcinomů štítné žlázy a méně zvýšený výskyt u folikulárních adenomů. Ve folikulárních buňkách normální thyroidální tkáně se imunoreaktivní bFGF téměř nevyskytoval *(Eggo et al. 1995)*.

TGFβ1 (transformační růstový faktor β1)

TGFβ1 má většinou inhibiční vliv na buněčnou proliferaci, za určitých podmínek však může proliferaci buněk i stimulovat. Zvyšuje syntézu kolagenu a inhibitorů proteas a uplatňuje se při tvorbě extracelulární matrix *(Klener 1997)*.

TGFβ1 má antiproliferační efekt na thyrocyty. Je produkován i ve zdravé thyroidální tkáni, jeho tvorba stoupá po stimulaci TSH *(Mak et al. 1984)*. Po dosažení určité koncentrace pak indukuje pokles exprese mRNA pro TSH-receptory a snižuje TSH-indukovanou tvorbu cAMP. Uplatňuje se tak zřejmě při stabilizaci velikosti strumy *(Cowin et al. 1996, Franzén et al. 1999)*. Na povrchu nádorových thyrocytů byla prokázána snížená exprese TGFβ1-receptorů *(West et al. 2000)*.

VEGF (vaskulární endotelový růstový faktor)

Vlivem TSH dochází v thyrocytech k indukci tvorby VEGF, což vede k zástavě mitogenní TSH stimulace folikulárních buněk a k iniciaci angiogeneze *(Wang et al. 1998)*. VEGF se podílí také na tvorbě lymfatických cév a ovlivňuje tak šíření nádorových buněk do regionálních lymfatických uzlin. Jeho produkce je vysoká u papilárního karcinomu štítné žlázy, který metastazuje převážně lymfogenně *(Bunone et al. 1999, Fellmer et al. 1999)*.

Produkce VEGF je nízká ve zdravé thyroidální tkáni, stoupá však u adenomů a především papilárních karcinomů štítné žlázy *(Bunone et al. 1999, Fellmer et al. 1999)*.

2. CÍLE PRÁCE

Disertační práce se zabývá studiem úlohy růstových faktorů v procesu vzniku a růstu papilárního karcinomu štítné žlázy. Byly vyšetřovány koncentrace vybraných růstových faktorů v periferním séru pacientů s nádory štítné žlázy. V systému dynamické průtokové tkáňové kultury byla zkoumána role některých růstových faktorů v procesu onkogeneze nádorů štítné žlázy.

Cíle disertační práce:

- Stanovení rozdílů v produkci vybraných růstových faktorů (IGF-I, bFGF, HGF, TGFβ1 a VEGF) tkání papilárního karcinomu štítné žlázy v porovnání s tkání adenomu a zdravou tkání štítné žlázy.
- Studium úlohy růstových faktorů HGF a bFGF v onkogenezi papilárního karcinomu štítné žlázy.
- Možnosti využití růstových faktorů v diagnostice nádorů štítné žlázy, především v diferenciální diagnostice benigní a maligní strumy.

3. METODIKA

3.1 Stanovení sérových hladin růstových faktorů

Studie zahrnuje 28 pacientů (23 žen a 5 mužů) s nádorem štítné žlázy operovaných na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol od října 2000 do března 2001. U 14 osob (12 žen, 2 muži) byl zjištěn benigní adenom štítné žlázy, u dalších 14 pacientů papilární karcinom (11 žen, 3 muži).

Před operací bylo každému pacientovi odebráno 20 ml krve z kubitální žíly do zkumavky s EDTA (nesrážlivá krev). Centrifugací získané sérum bylo zamraženo v tekutém dusíku (-196 °C) a uchováváno v uzavřené plastové nádobce při –80 °C. Stejně byly zpracovány vzorky krve od kontrolní skupiny 8 zdravých osob. Sérové koncentrace IGF-I, HGF, bFGF, TGFβ1 a VEGF byly měřeny v laboratořích Oddělení klinické imunoendokrinologie Endokrinologického ústavu v Praze metodou ELISA (Enzyme Linked ImunnoSorbent Assay). Při statistickém zpracování naměřených hodnot byla použita jednocestná analýza rozptylu (pro IGF-I a TGFβ1) a Kruskal-Wallisův test (pro HGF, bFGF a VEGF).

3.2 Dynamický model průtokové tkáňové kultury

Vzorky tkání papilárního karcinomu štítné žlázy byly získány od pacientů operovaných na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku 1. LF UK a FN Motol. Odběr vzorku tkáně proběhl okamžitě po resekci tumorem postiženého laloku štítné žlázy. Vzorky zdravé thyroidální tkáně byly odebrány z makroskopicky zdravé části resekované štítné žlázy. Po nakrájení na 70 μm tlusté řezy byly tkáňové vzorky transportovány v kultivačním médiu k dalšími zpracování.

Tkáně byly kultivovány v systému ACUSYST-S™ (Endotronics Inc.), který představuje dynamický model průtokové tkáňové kultury simulující fyziologické podmínky. V experimentu bylo použito čtyř izolovaných cirkulačních okruhů, do dvou byla vložena tkáň papilárního karcinomu štítné žlázy, do dalších dvou zdravá thyroidální tkáň. Po úvodní 24 hodinové cirkulaci kultivačního média proběhlo 60 minutové promytí čerstvým médiem. Následoval 8 hodinový puls stimulující látky. Každý typ tkáně byl stimulován jednak thyrotropinem (TSH), jednak epidermálním růstovým faktorem (EGF). Puls byl ukončen opět 60 minutovým promytím čistým médiem. Po dobu stimulačního pulsu a následného promývání byly z každého samostatného okruhu odebírány vzorky média, v němž byly stanoveny koncentrace bFGF a HGF metodou ELISA.

4. VÝSLEDKY A JEJICH ZHODNOCENÍ

V tabulce 4.1 jsou uvedeny průměrné hodnoty sérových koncentrací růstových faktorů IGF-I, HGF, bFGF, TGFβ1 a VEGF u skupin pacientů s adenomem a papilárním karcinomem štítné žlázy a u skupiny zdravých osob.

Tab. 4.1 *Průměrné hodnoty sérových koncentrací růstových faktorů u pacientů s adenomem a papilárním karcinomem (PTC) štítné žlázy a u zdravých osob (včetně směrodatných odchylek). Tučně jsou znázorněny statisticky významné rozdíly.*

cytokin	*adenom*	*PTC*	*zdraví*
IGF-I (ng/ml)	**105,5 ± 38,2**	131,4 ± 47,2	163,6 ± 42,9
bFGF (ng/ml)	**4,93 ± 3,42**	**5,69 ± 5,58**	1,47 ± 1,77
TGFβ1 (ng/ml)	35,9 ± 10,5	37,7 ± 12,5	29,0 ± 18,7
HGF (pg/ml)	**1496 ± 810**	**1137 ± 862**	361 ± 83
VEGF (pg/ml)	213 ± 197	210 ± 179	227 ± 231

V dynamickém modelu průtokové tkáňové kultury dochází u zdravé štítné žlázy při stimulaci TSH k postupnému poklesu produkce HGF. Podobný efekt má i stimulace EGF. U tkáně papilárního karcinomu štítné žlázy bylo zjištěno přechodné zvýšení produkce HGF po stimulaci TSH i EGF. Produkce bFGF tkání

zdravé štítné žlázy i papilárního karcinomu měla po stimulaci TSH i EGF podobnou dynamiku. Po počátečním krátkodobém poklesu na začátku stimulace došlo k přechodnému zvýšení produkce bFGF. Následoval delší útlum a opětovné krátkodobé zvýšení produkce bFGF po skončení stimulačního pulsu.

Výsledky disertační práce lze shrnout do následujících bodů:

- Zjištěné nižší sérové koncentrace IGF-I u pacientů s adenomem štítné žlázy (statisticky významné) a PTC (bez statistické významnosti) nekorelují s literárně uváděnou produkcí IGF-I detekovanou imunohistochemicky přímo v tkáni štítné žlázy. Možným vysvětlením je přísně autokrinní úloha IGF-I v proliferaci folikulárních buněk *(Maiorano et al. 1994)*. Další možnou příčinou výsledků zjištěných v této studii je zvýšená konsumpce IGF-I přímo v nádorové tkáni štítné žlázy a z toho vyplývající nepřímá úměra mezi tkáňovými a sérovými hladinami IGF-I *(Iglesias et al. 2001)*.
- HGF je velmi silným mitogenem folikulárních buněk štítné žlázy, jeho účinky se uplatňují především ve fázi rychlého růstu strumy, kdy jsou pacienti často indikováni k operačnímu řešení *(Eccles et al. 1996)*. V souladu s tímto faktem byly zjištěny vyšší sérové koncentrace HGF u pacientů s thyroidálním adenomem a papilárním karcinomem. Mezi hladinami HGF v séru pacientů s adenomem a papilárním

karcinomem štítné žlázy však statisticky významné rozdíly prokázány nebyly. V dynamickém modelu průtokové tkáňové kultury bylo zjištěno, že TSH zvyšuje produkci HGF buňkami papilárního karcinomu štítné žlázy. Lze proto předpokládat, že HGF je důležitým faktorem udržujícím maligní potenciál nádorových buněk PTC. U zdravé štítné žlázy však stimulace TSH ani EGF nevedla k zvýšení produkce HGF, který se tak pravděpodobně nepodílí na iniciaci maligní transformace folikulárních buněk.

- bFGF stimuluje proliferaci folikulárních buněk štítné žlázy a je silným aktivátorem angiogeneze. Jeho produkce, podobně jako u HGF, stoupá ve fázi rychlého růstu strumy *(Becks et al. 1994)*. S uvedenými údaji korelují zvýšené sérové koncentrace bFGF u pacientů s adenomem a papilárním karcinomem štítné žlázy zjištěné v této studii. Výsledky z dynamického průtokového modelu tkáňové kultury vedou k hypotéze, že produkce bFGF v štítné žláze stoupá v závislosti na zvýšených metabolických nárocích tkáně. Následná aktivace angiogeneze a neovaskularizace pak zajistí zvýšené prokrvení tkáně a dostatečný přísun potřebných látek. Impulsem pro aktivaci produkce bFGF může být hypoxie v centru rostoucí tkáňové masy, stimulace růstu štítné žlázy vlivem proliferačních látek (TSH či EGF), ale paradoxně i náhlý útlum této stimulace, který může vést ke zvýšení produkce bFGF ve snaze udržet dostatečné podmínky pro buněčnou proliferaci.

- V této studii nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi sérovými hladinami TGFβ1 a VEGF u zdravých osob a pacientů s adenomem a papilárním karcinomem štítné žlázy. TGFβ1 i VEGF mají inhibiční vliv na proliferaci folikulárních buněk štítné žlázy, jejich tvorba je stimulována vlivem TSH *(Mak et al. 1984, Wang et al. 1998)*. Uplatňují se tak zřejmě při stabilizaci velikosti strumy. Pacienti s nodosní strumou jsou často léčeni supresními dávkami thyroidálních hormonů z důvodu dosažení zpětnovazebného snížení hladiny TSH. Nemůže tak u nich dojít k TSH-indukovanému zvýšení produkce TGFβ1 a VEGF.

5. ZÁVĚRY

- U pacientů s adenomem a papilárním karcinomem štítné žlázy jsou statisticky vyšší sérové koncentrace HGF a bFGF v porovnání se zdravou populací.
- Sérové hladiny růstových faktorů odrážejí mnoho fyziologických i patologických procesů v organismu. Nejsou specifické pro určitý typ tkáně či onemocnění.
- HGF se svým proliferačním a dediferenciačním účinkem pravděpodobně podílí na udržování maligního potenciálu papilárního karcinomu štítné žlázy, avšak nevede k maligní transformaci folikulárních buněk.
- Produkce bFGF se zdá být závislá na aktuálních metabolických potřebách tkáně štítné žlázy. bFGF pak zajišťuje neovaskularizaci rostoucí nádorové masy.
- Vhodnými sensitivními (ne však specifickými) periferními markery papilárního karcinomu štítné žlázy by mohly být HGF a bFGF.
- Terapeutické možnosti skýtá použití protilátek proti HGF a bFGF či jejich receptorům ve snaze zabránit růstu strumy.

6. LITERATURA

ACOR (Association of Cancer Online Resources): www.acor.org

Astl J. Diagnostika a léčba nádorů štítné žlázy. *Postgraduální medicina* 2002; 9 (4): 1016-1020.

Bachrach LK, Eggo MC, Hintz RL, Burrow GN. Insulin like growth factors in sheep thyroid cells: action, receptors and production. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 154 (3): 861-867.

Bauer J. Obecná a speciální onkologie. Praha: *Anomal*, 1993; 204.

Becks GP, Logan A, Phillips ID, Wang JF, Smith C, DeSousa D, Hill DJ. Increase of basic fibroblast growth factor (FGF) and FGF receptor messenger RNA during rat thyroid hyperplasia: temporal changes and cellular distribution. *J Endocrinol* 1994; 142 (2): 325-338.

Bunone G, Vigneri P, Mariani L, Buto S, Collini P, Pilotti S, Pierotti MA, Bongarzone I. Expression of angiogenesis stimulators and inhibitors in human thyroid tumors and correlation with clinical pathological features. *Am J Pathol* 1999; 155 (6): 1967-1976.

Cochand-Priolett B, Guillausscau PJ, Chagnon S, Hoang C, Guillausseau-Scholer C, Chanson P, Dahan H, Warnet A, Tran Ba Huy PT, Valleur P. The diagnostic value of fine-needle aspiration biopsy under ultrasonography in nonfunctional thyroid nodules: a prospective study comparing cytologic and histologic findings. *Am J Med* 1994; 97 (2): 152-157.

Cowin AJ, Heaton EL, Cheshire SH, Bidey SP. The proliferative responses of porcine thyroid follicular cells to epidermal growth factor and thyrotrophin reflect the autocrine production of transforming growth factor β1. *J Endocrinol* 1996; 148 (1): 87-94.

Eccles N, Ivan M, Wynford-Thomas D. Mitogenic stimulation of normal and oncogene transformed human thyroid epithelial cells by hepatocyte growth factor. *Mol Cell Endocrinol* 1996; 117 (2): 247-251.

Eggo MC, Bachrach LK, Burrow GN. Interaction of TSH, insulin and insulin like growth factors in regulating thyroid growth and function. *Growth Factors* 1990; 2 (2-3): 99-109.

Eggo MC, Hopkins JM, Franklyn JA, Johnson GD, Sanders DS, Sheppard MC. Expression of fibroblast growth factors in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80 (3): 1006-1011.

Fellmer PT, Sato K, Tanaka R, Okamoto T, Kato Y, Kobayashi M, Shibuya M, Obara T. Vascular endothelial growth factor-C gene expression in papillary and follicular thyroid carcinomas. *Surgery* 1999; 126 (6): 1056-1062.

Franzén A, Piek E, Westermark B, ten Dijke P, Heldin NE. Expression of transforming growth factor-beta 1, activin A, and their receptors in thyroid follicle cells: negative regulation of thyrocyte growth and function. *Endocrinology* 1999; 140 (9): 4300-4310.

Iglesias P, Bayon C, Mendez J, Gancedo PG, Grande C, Diez JJ. Serum insulin-like growth factor type 1, insulin-like growth factor-binding protein-1, and insulin-like growth factor-binding protein-3 concentrations in patients with thyroid dysfunction. *Thyroid* 2001; 11 (11): 1043-1048.

Klener P. Cytokiny ve vnitřním lékařství. 1. vyd. Praha: *Grada Publishing*, 1997; 260.

Logan A, Black EG, Gonzalez AM, Buscaglia M, Sheppard MC. Basic FGF: an autocrine mitogen of rat thyroid follicular cells. *Endocrinology* 1992; 130 (4): 2363-2372.

Maiorano E, Ciampolillo A, Viale G, Maisonneuve P, Ambrosi A, Triggiani V, Marra E, Perlino E. Insulin-like growth factor I expression in thyroid tumors. *Appl Immunohistochem Molecul Morphol* 2000; 8 (2): 110-119.

Maiorano E, Ambrosi A, Giorgino R, Fersini M, Pollice L, Ciampolillo A. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in multinodular goiters: a possible pathogenetic factor. *Pathol Res Pract* 1994; 190 (11): 1012-1016.

Mak WW, Eggo MC, Burrow GN. Thyrotropin regulation of plasminogen activator activity in primary cultures of ovine thyroid cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123 (2): 633-640.

Ramsden JD. Angiogenesis in the thyroid gland. *J Endocrinol* 2000; 166 (3): 475-480.

Schlumberger MJ. Diagnostic follow-up of well-differentiated thyroid carcinoma: historical perspective and current status. *J Endocrinol Invest* 1999; 22 (11 Suppl.): 3-7.

Silva Filho GB, Maciel RM, Takahashi MH, Alberti VN, Castro IV, Saldiva PH, Durazzo MD, Ferraz AR. Study of immunohistochemical expression of insulin-like growth factor I and proliferating cell nuclear antigen in thyroid gland papillary carcinoma and its metastasis. *Head Neck* 1999; 21 (8): 723-727.

Šterzl I. Cytokiny – struktura a funkce I., II. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa* 1999; 4 (2): 185-205.

Trovato M, Villari D, Bartolone L, Spinella S, Simone A, Violi MA, Trimarchi F, Batolo D, Benvenga S. Expression of the hepatocyte growth factor and c-met in normal thyroid, nonneoplastic, and neoplastic nodules. *Thyroid* 1998; 8 (2): 125-131.

UICC (International Union Against Cancer): www.uicc.com

ÚZIS (Ústav zdravotnických informací a statistiky): www.uzis.cz

Wang JF, Milosveski V, Schramek C, Fong GH, Becks GP, Hill DJ. Presence and possible role of vascular endothelial growth factor in thyroid cell growth and function. *J Endocrinol* 1998; 157 (1): 5-12.

West J, Munoz-Antonia T, Johnson JG, Klotch D, Muro-Cacho CA. Transforming growth factor-beta type II receptors and smad proteins in follicular thyroid tumors. *Laryngoscope* 2000; 110 (8): 1323-1327.

7. PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK

ACOR - Association of Cancer Online Resources
bFGF - bazický fibroblastový růstový faktor
cAMP - cyklický adenosinmonofosfát
EDTA - kyselina ethylendiaminotetraoctová
EGF - epidermální růstový faktor
ELISA - enzyme linked immunosorbent assay
FGF - fibroblastový růstový faktor
FNAB - aspirační biopsie tenkou jehlou
HGF - hepatocytární růstový faktor
IGF - insulinu podobný růstový faktor
mRNA - informační ribonukleová kyselina
PlGF - placentární růstový faktor
PTC - papilární karcinom štítné žlázy
TGF - transformační růstový faktor
TSH - thyrotropin, thyroideu stimulující hormon
TTE - totální thyroidektomie
UICC - International Union Against Cancer
ÚZIS - Ústav zdravotnických informací a statistiky
VEGF - vaskulární endotelový růstový faktor

8. VLASTNÍ PUBLIKACE

Veselý D, Astl J, Laštůvka P, Matucha P, Šterzl I, Betka J. Serum levels of IGF-I, HGF, TGFβ1, bFGF and VEGF in thyroid gland tumors. *Physiological Research* 2004; 53 (1): 83-89. (IF 1,140)

Ohlas práce:

Forbs D, Thiel S, Stella MC, Sturzebecher A, Schweinitz A, Steinmetzer T, Sturzebecher J, Uhland K. In vitro inhibition of matriptase prevents invasive growth of cell lines of prostate and colon carcinoma. *International Journal of Oncology* 2005; 27 (4): 1061-1070.

Veselý D, Astl J, Matucha P, Šterzl I, Betka J. Serum levels of angiogenic growth factors in patients with thyroid gland tumors and parathyroid adenoma. *Neuroendocrinology Letters* 2003; 24 (6): 417-419. (IF 1,592)

Veselý D, Astl J, Betka J, Šterzl I. Cytokiny u nádorů štítné žlázy. *Alergie* 2001; 3 (3): 247-252.

Astl J, Veselý D, Betka J, Šterzl I. Cytokiny a onemocnění příštítných tělísek. *Alergie* 2002; 4 (2): 140-145.

Astl J, Dušková J, Laštůvka P, Novák Z, Veselý D, Taudy M. Příspěvek k diagnostice a léčbě mediálních krčních cyst a píštělí. *Otorinolaryngologie a foniatrie* 2002; 51 (1): 24-31.

Astl J, Dvořáková M, Vlček P, Veselý D, Matucha P, Betka J. Thyroid surgery in children and adolescents. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 2004; 68 (10): 1273-1278.

9. SUMMARY

This thesis deals with the role of growth factors in the pathogenesis of thyroid gland tumors. There exist a lot of studies describing growth factors production or occurrence directly in the thyroid tissue. The aim of this thesis was to find possible differences in serum concentrations of growth factors in patients with thyroid adenoma and papillary cancer and in healthy people. The finding of suitable peripheral marker could be used in thyroid tumors diagnosis in the future. There was also detected growth factors production by normal thyroid gland and papillary thyroid cancer in a dynamic model of flow tissue culture, under the influence of stimulating substances. The aim was a more detailed understanding of particular growth factors role in a process of thyroid oncogenesis.

Growth factors are molecules with an informative and regulatory function. They have mainly local effects in tissues – autocrine and paracrine. Many growth factors are products of oncogenes and take part in a process of tumors origin and growth.

The most frequently refered growth factors related to thyroid gland tumors are IGF-I (Insuline-Like Growth Factor I), bFGF (basic Fibroblast Growth Factor), TGFβ1 (Transforming Growth Factor β1), HGF (Hepatocyte Growth Factor) and VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). All of these cytokines, except of IGF-I, have dedifferentiating effects on thyrocytes and

they are also strong mitogens (except of TGFβ1 and VEGF). In addition, VEGF and bFGF are important activators of angiogenesis.

In this thesis, there were detected peripheral serum concentrations of IGF-I, HGF, bFGF, TGFβ1 and VEGF in patients with thyroid adenoma and papillary cancer and compared with those in healthy people. There was also examined the production of bFGF and HGF by papillary thyroid cancer and normal thyroid gland in a model of flow tissue culture, after the stimulation by TSH (thyrotropin) and EGF (Epidermal Growth Factor).

There was found, that growth factors serum concentrations are not in accordance at all times with literary data about their occurrence in thyroid glang tissue. Significantly higher serum levels of HGF and bFGF in patients with thyroid adenoma and papillary cancer lead to a hypothesis, that these two growth factors could be sensitive (but not specific) markers of papillary thyroid cancer.

Experiments in tissue culture showed the HGF part in the maintaining of papillary thyroid cancer malignant potential. Nevertheless, HGF probably does not initiate the malignant transformation of thyroid follicular cells. Increased bFGF production can be induced by higher metabolic requirements of thyroid tissue; it ensures the sufficient vascularization. The

inhibition of HGF and/or bFGF effects could lead to the stop of benign and malignant goitre growth.