

Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové

**Využití galektinu – 3, cytokeratinu 19,  
neural cell adhesion molecule a  
E – cadherinu v diagnostice a diferenciální  
diagnostice nádorů štítné žlázy**

**Disertační práce**

**MUDr. Jan Laco**

Hradec Králové, 2006

Využití galektinu – 3, cytokeratinu 19, neural cell adhesion  
molecule a E – cadherinu v diagnostice a diferenciální  
diagnostice nádorů štítné žlázy

MUDr. Jan Laco

Fingerlandův ústav patologie  
Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové  
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Obor studia: Patologie

Téma studia: Využití imunohistochemických markerů  
v diagnostice a diferenciální diagnostice nádorů štítné žlázy

MUDr. Jan Laco  
Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN  
500 05 HRADEC KRÁLOVÉ

tel.: 49 583 2548

fax: 49 583 2004

e-mail: [lacoj@lfhk.cuni.cz](mailto:lacoj@lfhk.cuni.cz)

## Obsah

1. Seznam použitých zkratek .....	5
2. Teoretický úvod .....	7
2.1. Epidemiologie nádorů štítné žlázy .....	8
2.2. Klasifikace nádorů štítné žlázy .....	10
2.3. Charakteristika nádorů štítné žlázy .....	11
2.3.1. Adenom štítné žlázy a příbuzné nádory .....	11
2.3.2. Karcinomy štítné žlázy .....	12
2.3.3. Jiné nádory štítné žlázy .....	17
2.3.4. Nádory štítné žlázy u dětí .....	18
2.4. Diferenciální diagnostika nádorů štítné žlázy .....	19
2.5. Prognóza nádorů štítné žlázy .....	21
2.6. Charakteristika jednotlivých imunohistochemických markerů .....	24
2.6.1. Charakteristika galektinu - 3 (gal3) .....	24
2.6.2. Charakteristika cytokeratinu 19 (CK 19) .....	39
2.6.3. Charakteristika neural cell adhesion molecule (NCAM) .....	45
2.6.4. Charakteristika E - cadherinu (Ecad) .....	50
3. Cíle disertační práce .....	60
4. Materiál a metodika .....	61
4.1. Charakteristika souboru .....	61
4.2. Imunohistochemické vyšetření .....	63
4.3. Metodika hodnocení exprese jednotlivých markerů .....	65
4.4. Statistické zpracování dat .....	65
5. Výsledky .....	67
5.1. Deskriptivní charakteristiky souboru .....	67
5.2. Expresa gal3, CK 19, NCAM a Ecad v normální štítné žláze .....	75
5.3. Expresa gal3, CK 19, NCAM a Ecad v nádorech .....	76
5.4. Prediktivní charakteristiky gal3, CK 19, NCAM a Ecad .....	89

5.5. Exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad v nádorech s folikulárními rysy .....	94
5.6. Exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad ve variantách papilárního karcinomu .....	96
5.7. Logistická regrese .....	97
6. Diskuze .....	98
7. Závěry práce .....	107
8. Literatura .....	109
9. Seznam tabulek a grafů .....	136
10. Fotodokumentace .....	138
11. Poděkování .....	147

## 1. Seznam použitých zkratek

AC	nediferencovaný (anaplastický) karcinom
CASTLE	karcinom s diferenciací podobnou thymu („carcinoma showing thymus-like differentiation“)
CK 19	cytokeratin 19
CK	cytokeratiny
Ecad	E - cadherin
FA	folikulární adenom
FC - MI	minimálně invazivní varianta folikulárního karcinomu
FC - SI	široce invazivní varianta folikulárního karcinomu
FC	folikulární karcinom
FNAC	tenkojehlová aspirační cytologie
Gal3	galektin - 3
HTT	hyalinizující trabekulární tumor
MC	medulární karcinom
MEN	mnohočetná endokrinní neoplázie
NCAM	neural cell adhesion molecule
OA	onkocytární adenom
OC - MI	minimálně invazivní varianta onkocytárního karcinomu
OC - SI	široce invazivní varianta onkocytárního karcinomu
OC	onkocytární karcinom
PC - F	folikulární varianta papilárního karcinomu
PC - J	jiné varianty papilárního karcinomu
PC - K	klasická varianta papilárního karcinomu
PC - M	papilární mikrokarcinom
PC	papilární karcinom
PDC	nízce diferencovaný karcinom („poorly differentiated carcinoma“)

SETTLE vřetenobuněčný nádor s diferenciací podobnou thymu („spindle cell tumour with thymus-like differentiation“)

TNM Tumor Node Metastasis

## 2. Teoretický úvod

Nádory štítné žlázy jsou nejčastěji se vyskytující endokrinní tumory a jejich incidence stále stoupá. Vyskytují se v každém věku, včetně dětí a seniorů, a představují široké spektrum biologických entit od náhodně zastižených papilárních mikrokarcinomů až po velmi agresivní nediferencované karcinomy. V poslední době byl učiněn značný pokrok v poznání etiologie, histogeneze a patofyziologie těchto nádorů stejně jako v jejich klinické diagnostice. Do rutinní klinické praxe byly zavedeny četné nové vyšetřovací metody, např. ultrasonografie, scintigrafie či tenkojehlová aspirační cytologie. V mikroskopické diagnostice zůstává základním vyšetřením morfologické vyšetření daného nádoru v klasickém barvení hematoxylin – eozin, doplněné případně o imunohistochemický průkaz určitých molekul či markerů, které, ač jsou předmětem intenzivního výzkumu, mají spíše pomocný charakter. Metody molekulárně genetické, které v poslední době zaznamenaly výrazný pokrok a přispěly k částečnému pochopení etiopatogeneze některých nádorů štítné žlázy, zatím nejsou v současné době v rutinní bioptické diagnostice běžně používány.

## 2.1. Epidemiologie nádorů štítné žlázy

Celosvětově se incidence (na 100 000 obyvatel) maligních nádorů štítné žlázy udává v rozmezí 0,8 – 5,0 u mužů a 1,9 – 19,4 u žen (57) a stále stoupá.

U mužů činila incidence (na 100 000 obyvatel) v České republice v letech 1983 -1987 1,3, v letech 1988 - 1992 1,5 a v letech 1993 - 1995 již 1,8. U žen je incidence vyšší a ve stejných časových obdobích narostla od 3,9 (1983 -1987), přes 4,3 (1988 -1992) až po 6,0 (1993 -1995) (International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France; součást WHO, internetová stránka: <http://www-dep.iarc.fr>). Přehledně je incidence maligních nádorů štítné žlázy v České republice (na 100 000 obyvatel) uvedena v *tab. 1*.

*Tab. 1:* Incidence maligních nádorů štítné žlázy v České republice (na 100 000 obyvatel)

	1983 - 1987	1988 – 1992	1993 - 1995
<b>Muži</b>	1,3	1,5	1,8
<b>Ženy</b>	3,9	4,3	6,0

V roce 2002 činil záchyt maligních nádorů štítné žlázy v České republice celkem 529 případů, z toho 406 u žen a 123 u mužů, což představuje incidenci 7,8 u žen a 2,5 u mužů. V Královehradeckém kraji bylo ve stejném roce nahlášeno celkem 35 případů, 24 u žen a 11 u mužů, což představuje incidenci 8,5 resp. 4,1.

U mužů byl v České republice v roce 2002 nejvyšší záchyt maligních nádorů štítné žlázy – 23 případů - ve věkové skupině 70 -74 let, což představuje incidenci 13,9; u žen byl největší záchyt – 53 případů - ve věkové skupině 55 - 59 let, což představuje incidenci 14,6. Vysokou incidenci maligních nádorů štítné žlázy v Královehradeckém kraji je možné vysvětlit koncentrací pacientů s chorobami štítné žlázy do Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Úmrtí v důsledku maligního nádoru štítné žlázy bylo v roce 2002 v České republice hlášeno u 38 mužů, což představuje úmrtnost 0,8, a u 77 žen, což



představuje úmrtnost 1,5. U obou pohlaví byla úmrtnost - 17 žen a 8 mužů - nejvyšší ve věkové skupině 75 - 79 let.

U mužů představují maligní nádory štítné žlázy 0,4% z celkového počtu malignit v České republice, u žen pak 1,3% (Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR 2002 a Národní onkologický registr 2002).

Na trvale vzrůstající incidenci maligních nádorů štítné žlázy se zčásti pravděpodobně podílí zlepšení klinické diagnostiky onemocnění štítné žlázy celkově, dále pak zavedení terapeutické aktinoterapie oblasti krku pro jiné, např. hematologické onemocnění, a v neposlední řadě také neterapeutická iradiace ze zevního prostředí, např. havárie jaderné elektrárny Černobyl na Ukrajině v roce 1986 (1).

Papilární karcinom představuje přibližně 75%, folikulární karcinom 5 - 15% a medulární karcinom 10% všech zhoubných nádorů štítné žlázy. V oblastech s dostatečným přívodem jódu v potravě se častěji vyskytuje papilární karcinom, zatímco v oblastech s jódovým deficitem je častější folikulární karcinom a angiosarkom (57).

## 2.2. Klasifikace nádorů štítné žlázy

V současné době platí klasifikace nádorů štítné žlázy v podobě, která byla schválena na Editorial and Consensus Conference v Lyonu ve Francii (23. – 26. 4. 2003) (57). Její graficky upravenou podobu podává *tab. 2*.

*Tab. 2:* WHO klasifikace nádorů štítné žlázy

<b>Adenom štítné žlázy a příbuzné nádory</b>	
Folikulární adenom	8330/0
Hyalinizující trabekulární tumor	8336/0
<b>Karcinomy štítné žlázy</b>	
Papilární karcinom	8260/3
Folikulární karcinom	8330/3
Nízce diferencovaný karcinom	
Nediferencovaný (anaplastický) karcinom	8020/3
Dlaždicobuněčný karcinom	8070/3
Mukoepidermoidní karcinom	8430/3
Sklerózující mukoepidermoidní karcinom s eozinofilii	8430/3
Mucinózní karcinom	8480/3
Medulární karcinom	8345/3
Smíšený medulární a folikulární karcinom	8346/3
Vřetenobuněčný nádor s diferenciací podobnou thymu (SETTLE)	8588/3
Karcinom s diferenciací podobnou thymu (CASTLE)	8589/3
<b>Jiné nádory štítné žlázy</b>	
Např. teratom, primární lymfom, ektopický thymom, angiosarkom, sekundární nádory atd.	

## 2.3. Charakteristika nádorů štítné žlázy

Ačkoli je možné nádory štítné žlázy dělit podle několika hledisek (např. epiteliální *versus* mezenchymální, z folikulárních buněk *versus* z parafolikulárních buněk apod.), jsou jednotlivé nádory v následujícím textu rozděleny do tří velkých skupin (bez ohledu na svou histogenezi) dle rozdělení použitého ve WHO klasifikaci z roku 2004 (57).

### 2.3.1. Adenom štítné žlázy a příbuzné nádory

#### Folikulární adenom (ICD-O 8336/0)

Folikulární adenom (FA) je definován jako benigní opouzdřený nádor z folikulárních buněk. Většinou se jedná o solitární uzel v jinak normální štítné žláze obvykle průměru 1 - 3 cm, na řezu šedobílé barvy. Nádor je obdán intaktním tenkým vazivovým pouzdem. Častým nálezem je přítomnost sekundárních regresivních změn (např. nekrózy, čerstvého či staršího krvácení, fibrózy, hyalinizace apod.), nezřídka jako následek předchozí aspirační cytologie (7). Mikroskopicky se popisují čtyři základní varianty FA, jejichž rozlišení ovšem nemá klinický význam: solidně trabekulární (embryonální), mikrofolikulární (fetální), normofolikulární a makrofolikulární. Kromě těchto základních variant byly popsány též další, vzácněji se vyskytující varianty, které mají spíše diferenciálně diagnostický význam – světlobuněčný adenom (včetně adenomu z buněk tvaru pečetního prstenu („signet-ring cell“)), mucinózní adenom, lipoadenom, adenochoondrom a další (57, 201).

Jako atypický adenom je označován hypercelulární FA, který je charakterizován inkompletní kapsulární invazí nádorových buněk, příp. výskytem buněk vykazujících jaderné atypie či zvýšenou mitotickou aktivitu. Tento nádor je v současné době pokládán za benigní (57).

### Hyalinizující trabekulární tumor (ICD-O 8336/0)

Hyalinizující trabekulární tumor (HTT) je nádor charakterizovaný výraznou extracelulární hyalinizací a solidně trabekulárně uspořádanými nádorovými buňkami, které ve své cytoplazmě obsahují „yellow bodies“. Vzhledem k některým společným charakteristikám tohoto nádoru s papilárním karcinomem, např. translokaci RET/PTC, vzhledu jader nádorových buněk, přítomnosti psamomatózních tělísek a příležitostnému zakládání lymfogenních metastáz, považují někteří autoři tento nádor za prognosticky příznivou variantu papilárního karcinomu (39, 129, 136, 175).

### 2.3.2. Karcinomy štítné žlázy

#### Folikulární karcinom (ICD-O 8330/3)

Folikulární karcinom (FC) je definován jako maligní nádor z folikulárních buněk, který není možné zařadit do jiné specifické skupiny nádorů štítné žlázy. Tento nádor představuje 5 – 15% maligních nádorů štítné žlázy a vyskytuje se častěji u žen ve vyšším věku; vyšší incidence byla zaznamenána v oblastech s deficitem jódu (164). Podle makroskopického vzhledu nádoru se rozlišují dvě základní varianty: minimálně invazivní (FC – MI), která je daleko častější, a široce invazivní (FC – SI). V prvním případě jsou kritéria malignity, tedy kompletní transkapsulární invaze nádorových buněk a/nebo angioinvaze, prokazatelná pouze mikroskopicky, zatímco ve druhém případě je invazivní růst nádoru patrný již makroskopicky. Zatímco prognóza minimálně invazivní varianty je příznivá a srovnatelná s papilárním karcinomem, prognóza široce invazivní varianty je výrazně horší a srovnatelná s prognózou nízce diferencovaného karcinomu (260). Pro FC je typické predilekční zakládání hematogenních metastáz, nejčastěji do kostí, mozku a plic. Mezi varianty FC patří např. světlobuněčná varianta, včetně varianty FC tvořené buňkami tvaru pečetiho prstenu („signet-ring cell“). Molekulárně geneticky byly u části FC prokázány translokace PAX8/PPAR $\gamma$  a mutace ras genů (224).

## Papilární karcinom (ICD-O 8260/3)

Papilární karcinom (PC) je maligní nádor vycházející z folikulárních buněk, které vykazují určité specifické jaderné charakteristiky. Přítomnost papil paradoxně není nutnou podmínkou diagnózy PC a u některých variant PC se papily nevyskytují vůbec. Jedná se o nádor, který se vyskytuje v každém věku včetně dětství, postihuje častěji ženy a predilekčně metastazuje lymfogenně do regionálních krčních lymfatických uzlin. Představuje asi 75% všech maligních nádorů štítné žlázy (57, 201). Rizikovými faktory PC jsou ozáření krku (náhodně či terapeuticky), Hashimotova tyreoiditida a dále některé choroby gastrointestinálního traktu, např. familiární adenomatózní polypóza či Cowdenova choroba (184). Mikroskopicky obsahují nádorové buňky tzv. matnicová jádra, tj. zvětšená hypochromní jádra, která obsahují intranukleární rýhy a pseudoinkluze. Ve stromatu nádoru bývají přítomna psamomatózní tělíka, což jsou koncentrické mikrokalcifikace vznikající z odumřelých nádorových buněk.

Je známo několik dobře definovaných variant PC, které vykazují stejné cytologické charakteristiky nádorových buněk a obdobné biologické chování jako klasická varianta. Jedná se např. o folikulární variantu (PC – F), u které se dále rozlišuje subvarianta opouzdřená, multifokální a makrofolikulární, onkocytární varianta, světlobuněčná varianta, PC s fasciitidě podobným stromatem, solidně trabekulární varianta, difúzní sklerózující varianta a varianty s agresivnějším chováním – z vysokých buněk („tall cell“) a z cylindrických buněk („columnar cell“) (57). Naopak, papilární mikrokarcinom (PC – M) je nádor menší než 1 cm, který se chová zpravidla indolentně, v některých případech již ovšem může zakládat metastázy (182).

Pozoruhodná je skutečnost, že není zatím znám benigní protějšek PC, i když v literatuře je diskutována možnost vzniku PC z tzv. solidních buněčných hnízd (28).

Molekulárně genetické metody odhalily mutace četných genů, např. mutace RAS genů, BRAF genu či rearrangement genu TRK (224). Nejvýznamnější je však pravděpodobně translokace genu kódujícího

tyrosinkinázový receptor (RET) označovaná RET/PTC, kterou je možné prokázat až u 80% PC. Molekulární podstatou RET/PTC je fúze tyrosinkinázové domény RET (lokus 10q11.2) s 5' terminálními sekvencemi různých genů lokalizovaných na dlouhém raménku 10. chromozómu (10q) nebo na jiných chromozómech, čímž mohou vznikat různé formy RET/PTC. Nejčastější typem rearrangement v klasické variantě PC (PC – K) je RET/PTC1 s výjimkou PC, které vznikly u dětí po expozici záření, u kterých je nejčastější formou rearrangement RET/PTC3. U všech typů RET/PTC dochází ke ztrátě extracelulární domény RET, která za normálních okolností váže ligand, což vede k aktivaci RET kinázy nezávislé na ligandu, klonální expanzi a nádorové transformaci folikulárních buněk. Typ RET/PTC ovlivňuje fenotyp PC; RET/PTC1 je častější u PC – M a PC – K, zatímco RET/PTC3 převažuje ve folikulární variantě papilárního karcinomu (PC – F) a v „tall cell“ variantě PC (224).

#### Nízce diferencovaný karcinom

Nízce diferencovaný karcinom („poorly differentiated carcinoma“) (PDC) představuje maligní nádor, který podle histologického vzhledu a biologického chování stojí na pomezí mezi dobře diferencovanými karcinomy (FC a PC), ze kterých dediferenciací může vznikat, a nediferencovaným (anaplastickým) karcinomem (183). Dobře popsanou variantu PDC představuje inzulární karcinom tvořený monotónní populací malých kulatých nádorových buněk uspořádaných do ostrůvků. Jedná se o zhoubný, lymfogenně i hematogenně metastazující a nezřídka smrtící nádor, jehož prognóza je špatná (57).

#### Nediferencovaný (anaplastický) karcinom (ICD-O 8020/3)

Anaplastický karcinom (AC) je agresivní zhoubný nádor postihující především ženy ve starším věku, který často již v době diagnózy široce prorůstá štítnou žlázou a jejím okolí a lymfogenně a hematogenně metastazuje. Předpokládá se, že vzniká dediferenciací dobře diferencovaných nádorů (FC a PC) štítné žlázy (57). Mikroskopicky se rozlišují tři varianty – skvamoidní, vřetenobuněčná a obrovskobuněčná, které se mohou vyskytovat i v rámci

jednoho nádoru. Prognóza nádoru je špatná, většina pacientů umírá do šesti měsíců po stanovení diagnózy (57).

Dlaždicobuněčný karcinom (ICD-O 8070/3), mukoepidermoidní karcinom (ICD-O 5430/3), sklerózující mukoepidermoidní karcinom s eozinofilii (ICD-O 8430/3), mucinózní karcinom (ICD-O 8430/3)

Jedná se o vzácné maligní nádory s variabilní, spíše však špatnou prognózou (57). Jejich histogeneze je nejasná, u některých se uvádí možnost vzniku z tzv. solidních buněčných hnízd.

### Onkocytární nádory

Onkocytární nádory jsou definovány jako nádory tvořené výhradně nebo převážně (více jak 75%) folikulárními buňkami, které vykazují známky onkocytární transformace. Ačkoli je někteří autoři považují za samostatné nozologické jednotky (230), nová WHO klasifikace je uvádí pouze jako varianty FA, FC, PC, resp. MC (57).

Molekulární podstatou onkocytární transformace buněk je mutace genů mitochondriální DNA nebo jaderné DNA kódující mitochondriální enzymy vedoucí ke snížení energetického metabolismu buňky a následné kompenzatorní hyperplázii mitochondrií, které vykazují tvarové i funkční abnormality. Mitochondriální dysfunkce vede k poruchám mechanismů apoptózy a k protrahovanému přežívání onkocytárně transformovaných buněk, čímž se zvyšuje možnost jejich nádorové transformace. Poruchou mechanismů apoptózy lze také vysvětlit vyšší tendenci onkocytárních nádorů k ischemické nekróze, ať už spontánní či postaspirační (148). Ve světelném mikroskopu imponují onkocyty jako buňky s objemnou jemně granulovanou eozinofilní cytoplazmou a velkým, často nepravidelným či hyperchromním jádrem s prominujícím jadérkem.

Onkocytární adenom (OA) je benigní opouzdřený nádor tvořený onkocyty. Makroskopicky imponuje jako hnědý uzel, častým nálezem je přítomnost regresivních změn (např. nekrózy) vznikajících spontánně či jako následek předchozí aspirační cytologie.

Onkocytární karcinom (OC) je maligní nádor tvořený onkocyty. Stejně jako u FC se rozlišuje minimálně (OC – MI) a široce invazivní (OC – SI) varianta. Prognóza OC je udávána horší než FC (57), ačkoli někteří autoři tento rozdíl neprokázali (64).

#### Medulární karcinom (ICD-O 8345/3)

Medulární karcinom (MC) je zhoubný nádor vycházející z C parafolikulárních buněk. Tyto buněčné elementy, původu z neurální lišty, spoluvytvářejí v průběhu embryonálního vývoje ultimobranchiální tělísko (vznikající ze IV. a V. žaberní výchlípků) a následně spolu s ním migrují do základu štítné žlázy a diferencují se zde v C parafolikulární buňky. U člověka ultimobranchiální tělísko posléze zaniká; jen ojediněle se lze setkat s jeho zbytky ve formě tzv. solidních buněčných hnízd lokalizovaných v subkapsulární oblasti posterolaterálních partií laloků štítné žlázy.

MC představuje asi 10% všech maligních nádorů štítné žlázy (57). Může se vyskytovat sporadicky (zhruba 70% případů) nebo familiárně. Familiární MC je charakterizován autozomálně dominantním typem dědičnosti. Může se vyskytovat izolovaně nebo se může kombinovat s feochromocytomem a adenomem či hyperplázií příštítných tělísek v rámci syndromu mnohočetné endokrinní neoplázie (MEN) II, resp. IIA, příp. ještě s ganglioneuromy gastrointestinálního traktu a marfanoidním habitem v rámci MEN III, resp. IIB. Sporadický MC se vyskytuje převážně ve středním věku, zatímco familiární forma se nejčastěji vyskytuje v dětství či adolescenci, bývá často multifokální a je spojena s hyperplázií C buněk. Prognosticky se obě formy příliš neliší, 5leté přežití se pohybuje kolem 80% (21).

Mikroskopicky se MC vyznačuje výraznou variabilitou vzhledu nádorových buněk, které mohou být kulaté, polygonální či vřetenité a bývají uspořádány lobulárně, trabekulárně či inzulárně. Zhruba u 80% případů MC se vyskytuje endokrinní amyloid, který vzniká z kalcitoninu či jeho prekurzorů, a kolem jehož deponit může být přítomna obrovskobuněčná reakce. Byla popsána celá řada variant MC, např. tubulární, papilární, malobuněčná, obrovskobuněčná,



světlobuněčná, pigmentovaná, onkocytární, skvamózní a paraganglioma-like varianta. MC metastazuje lymfogenně do regionálních krčních lymfatických uzlin a hematogenně, např. do plic, kostí a nadledvin.

#### Smíšený medulární a folikulární karcinom (ICD-O 8346/3)

Vzácně se vyskytující maligní smíšený nádor z folikulárních a parafolikulárních buněk ve formě medulárního-folikulárního karcinomu či medulárního-papilárního karcinomu (57).

#### Vřetenobuněčný nádor s diferenciací podobnou thymu (ICD-O 8588/3)

Vřetenobuněčný nádor s diferenciací podobnou thymu („spindle cell tumour with thymus-like differentiation“, SETTLE) je maligní nádor postihující převážně mladé jedince, který je charakterizován monotónní populací vřetenitých epiteliálních buněk a přítomností žlazových struktur. Jedná se o nízcce maligní nádor, který může zakládat pozdní metastázy v plicích, mediastinu a ledvinách (38).

#### Karcinom s diferenciací podobnou thymu (ICD-O 8593/3)

Karcinom s diferenciací podobnou thymu („carcinoma showing thymus-like differentiation“, CASTLE) je nízcce maligní nádor s tendencí k pozdním lokálním recidivám tvořený lobulárně uspořádanými nádorovými buňkami s vezikulárními jádry a prominujícími jadérky v lymfoidním stromatu (57).

### *2.3.3. Jiné nádory štítné žlázy*

Do této skupiny patří kromě sekundárních nádorů štítné žlázy (tj. metastáz) celá řada ve štítné žláze vzácně se vyskytujících benigních i maligních nádorů, z nichž jsou ve WHO klasifikaci z roku 2004 (57) jmenovitě uvedeny následující nádory: teratom, primární lymfom a plasmacytom, ektopický thymom, angiosarkom, hladkosvalové nádory (leiomyom a leiomyosarkom), nádory z pochvy periferních nervů (schwannom, maligní nádor z pochvy periferních

nervů), paragangliom, solitární fibrózní tumor, Rosai-Dorfmanova choroba, nádor z folikulárních dendritických buněk a histiocytóza X.

V rámci sekundárních nádorů ve štítné žláze se může jednat o přímé šíření maligního nádoru z okolních orgánů (např. hltanu, hrtanu, průdušnice či jícnu), z okolních lymfatických uzlin či o hematogenní metastázu. Nejčastěji do štítné žlázy metastazuje karcinom plic, karcinomy gastrointestinálního traktu, karcinom prsu, konvenční světlobuněčný karcinom ledviny a maligní melanom (159). Ačkoli mohou příležitostně způsobit hypotyreózu v důsledku destrukce tkáně štítné žlázy, představují spíše diferenciálně diagnostický problém v bioptické praxi.

#### *2.3.4. Nádory štítné žlázy u dětí*

Nádory štítné žlázy se mohou vyskytovat i v dětském věku, kde se (stejně jako u seniorů) vyskytují relativně častěji nádory maligní. Nejčastěji se vyskytujícím zhoubným nádorem je PC, následován familiární formou MC a onkocytárními nádory; PDC a AC se téměř nevyskytují (223).

## 2.4. Diferenciální diagnostika nádorů štítné žlázy

Relativně specifická diagnostická (např. jaderné charakteristiky nádorových buněk PC) či diferenciálně diagnostická kritéria (např. kapsulární a vaskulární invaze) jednotlivých nádorových lézí štítné žlázy, jejichž hodnocení může být zatíženo subjektivním pohledem, mohou být zdrojem celé řady diagnostických úskalí. Za zmínku stojí především následující aspekty.

### Diagnostická kritéria malignity

Jedná se především o diferenciální diagnostiku FA a FC – MI, kde základním předpokladem správné diagnózy, a tedy příp. zastižení kompletní transkapsulární invaze a/nebo angioinvaze nádorových buněk je vyšetření celého nádorového uzlu. Hodnocení těchto diagnostických kritérií je však i přes jejich podrobně popsanou a specifikovanou mikroskopickou charakteristiku (57) značně subjektivní. Situace je navíc komplikována zavedením diagnózy tzv. atypického adenomu, tedy benigního nádoru s inkompletní transkapsulární invazí nádorových buněk či s výraznými jadernými atypii nádorových buněk. Dále do této skupiny patří odlišení FA a PC – F, papilární hyperplazie v hyperplastických uzlech a PC, sklerózující varianty PC a fibrotizující varianty Hashimotovy tyreoiditidy, paucicelulární varianty AC a Riedlovy strumy, příp. správná klasifikace nádorů s onkocytárními rysy. V těchto případech spočívá stanovení správné diagnózy v pečlivém morfologickém zhodnocení dané léze, imunohistochemie má spíše podpůrnou úlohu.

### Diferenciální diagnostika histogeneticky odlišných nádorů

Obtížná bývá též diferenciální diagnostika histogeneticky odlišených lézí, např. malobuněčné varianty AC a MC a maligního lymfomu či diferenciální diagnostika AC a epiteloidního angiosarkomu. V těchto případech má imunohistochemie naopak úlohu zcela zásadní.

## Sekundární změny v nádorech

V neposlední řadě mohou být zdrojem obtíží při diagnostice nádorů štítné žlázy též arteficiální změny ve tkáni, které mohou být následkem palpce štítné žlázy při fyzikálním vyšetření (tzv. palpační tyreoiditida), předchozího vyšetření pomocí tehkojehlové aspirační cytologie, či které mohou vznikat spontánně zvláště ve FA či OA. Z postaspiračních změn je třeba zmínit především nekrózu, kapsulární a vaskulární pseudoinvazi, papilární endoteliální hyperplazii či přítomnost sarkoidních granulomů (4, 7, 63, 138, 142).

## 2.5. Prognóza nádorů štítné žlázy

V současné době existuje několik prognostických systémů, např. AGES (Age, Grade, Extent, Size), AMES (Age, Distant Metastasis, Extent, Size), EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer), TNM (Tumor Node Metastasis) (tab. 3) s následným rozdělením do klinických stádií (tab. 4) apod., ve kterých se považují za nejdůležitější prognostické faktory věk, pohlaví, histologický typ nádoru a stage nádoru (57).

Se stoupajícím věkem, tj. více než 40 let u mužů a více než 50 let u žen, významně klesá doba přežití u dobře diferencovaných nádorů (FC a PC) (29). Mužské pohlaví je prognostickým faktorem znamenajícím horší prognózu u dobře diferencovaných nádorů (FC a PC) (214).

Z histologických charakteristik znamenají horší prognózu vyšší grade nádoru, rozměr nádoru větší než 5 cm, multilocularita (vyšší riziko uzlinových a plicních metastáz), šíření mimo štítnou žlázu a přítomnost vzdálených metastáz (201).

**Tab. 3:** TNM klasifikace zhoubných nádorů štítné žlázy dle WHO klasifikace 2003  
(57)

<b>T0</b>	bez známek primárního nádoru
<b>T1</b>	nádor 2 cm nebo méně v největším rozměru, omezen na štítnou žlázu
<b>T2</b>	nádor více než 2 cm, ale ne více než 4 cm ve svém největším rozměru, omezen na štítnou žlázu
<b>T3</b>	nádor větší než 4 cm v největším rozměru, omezen na štítnou žlázu nebo jakýkoli nádor s minimální extratyroidální invazí
<b>T4</b>	nádor jakékoliv velikosti šířící se mimo pouzdro štítné žlázy a a – invadující podkožní měkké tkáně, hrtan, tracheu, jícen nebo n. recurrens b – invadující prevertebrální fascii nebo a. carotis nebo mediastinální cévy
<b>N0</b>	v regionálních mízních uzlinách nejsou metastázy
<b>N1</b>	metastázy v regionálních mízních uzlinách a – metastázy ve stejnostranné krční mízní uzlině (uzlinách) b – metastázy v uzlinách oboustranných, ve střední čáře nebo druhostranné krční či mediastinální uzlině (uzlinách)
<b>M0</b>	nejsou vzdálené metastázy
<b>M1</b>	vzdálené metastázy

Pozn.: TNM klasifikace rozlišuje čtyři hlavní histologické typy zhoubných nádorů štítné žlázy: PC (včetně PC – F), FC (včetně OC), MC a AC. Pro tyto nádory je též rozdílné rozdělení do klinických stádií. Regionální mízní uzliny jsou mízní uzliny krční a horní mediastinální.

**Tab. 4:** Rozdělení zhoubných nádorů štítné žlázy do klinických stádií dle WHO klasifikace 2004 (57)

<b>PC nebo FC</b>			
<i>Mladší 45 let</i>			
<b>Stádium I</b>	jakékoliv T	jakékoliv N	M0
<b>Stádium II</b>	jakékoliv T	jakékoliv N	M1
<i>Starší 45 let</i>			
<b>Stádium I</b>	T1	N0	M0
<b>Stádium II</b>	T2	N0	M0
<b>Stádium III</b>	T3	N0	M0
	T1-T3	N1a	M0
<b>Stádium IVa</b>	T4a	N0	M0
	T4a	N1a	M0
	T1-T3	N1b	M0
	T4a	N1b	M0
<b>Stádium IVb</b>	T4b	jakékoliv N	M0
<b>Stádium IVc</b>	jakékoliv T	jakékoliv N	M1
<b>MC</b>			
<b>Stádium I</b>	T1	N0	M0
<b>Stádium II</b>	T2	N0	M0
<b>Stádium III</b>	T3	N0	M0
	T1-T3	N1a	M0
<b>Stádium IVa</b>	T4a	N0	M0
	T4a	N1a, b	M0
	T1-T3	N1b	M0
<b>Stádium IVb</b>	T4b	jakékoliv N	M0
<b>Stádium IVc</b>	jakékoliv T	jakékoliv N	M1
<b>AC*</b>			
<b>Stádium IVa</b>	T4a	jakékoliv N	M0
<b>Stádium IVb</b>	T4b	jakékoliv N	M0
<b>Stádium IVc</b>	jakékoliv T	jakékoliv N	M1

\*Pozn.: U AC jsou všechny případy hodnoceny jako stádium IV.

## 2.6. Charakteristika jednotlivých imunohistochemických markerů

Vzhledem k obtížné diagnostice a diferenciální diagnostice nenádorových a nádorových lézí štítné žlázy je intenzivně studována exprese celé řady markerů, jejichž imunohistochemický průkaz by byl v diagnostice a diferenciální diagnostice nenádorových a nádorových lézí štítné žlázy v bioptické praxi přínosem.

### 2.6.1. Charakteristika galektinu - 3

Obecná charakteristika galektinů

Galektiny jsou velkou skupinou fylogeneticky konzervativních proteinů patřících do rodiny lektinů, tedy skupiny biologických látek schopných rozpoznávat a vázat specifické oligosacharidové části molekul glykoproteinů a glykolipidů. Narozdíl od C - lektinů, které vyžadují k vazbě na oligosacharid kalcium, galektiny, patřící mezi S - lektiny, kalcium pro tuto vazbu nevyžadují (9, 51, 75, 177).

Pro galektiny jsou typické následující vlastnosti, jejichž přítomnost je též nutnou podmínkou pro zařazení dané biologické látky mezi galektiny:

1. afinita k beta-galaktosidům,
2. přítomnost určitých konzervativních sekvencí aminokyselin v té části molekuly, která váže oligosacharidy (135).

V současné době je u savců známo celkem 14 různých typů galektinů, nicméně galektiny byly nalezeny též u ptáků, obojživelníků, ryb, hlístů a hub (fungi) (111). Předpokládá se, že se vyskytují též u rostlin a virů (46).

Každý člen galektinové rodiny obsahuje nejméně jednu doménu tvořenou přibližně 130 aminokyselinami, která se nachází na C - terminálním konci molekuly a je zodpovědná za vazbu na oligosacharid. Označuje se proto jako „carbohydrate recognition domain“ (CRD) (72).



Srovnáním aminokyselinových sekvencí jednotlivých typů galektinů bylo možno vytvořit určité podrodiny galektinů podle struktury a organizace jejich domén (45, 135):

- a) „prototype group“ obsahující pouze jednu doménu, a to CRD. Do této podrodiny patří galektin - 1, - 2, - 5, - 7, - 10, - 11, - 13 a - 14.
- b) „tandem repeat group“ obsahující dvě CRD domény. Do této podrodiny patří galektin - 4, - 6, - 8, - 9 a - 12.
- c) „chimera group“, která kromě CRD domény obsahuje na N - terminálním konci molekuly unikátní doménu tvořenou přibližně 130 aminokyselinami, které vytvářejí tandemové repetitivní sekvence po devíti aminokyselinách, mezi kterými je zastoupen především prolin (Tyr-Pro-Gly-Gln/Pro-Ala/Thr-Pro/Ala-Pro-Gly-Ala). Pomocí této domény je příslušný galektin schopen vazby RNA (256).

Dosavadní výsledky obecně biologického výzkumu galektinů lze shrnout následovně (135):

- a) každý živý organismus obsahuje rozdílné množství jednotlivých typů galektinů.
- b) rozdílné buňky jednoho organismu obsahují rozdílné typy galektinů.
- c) naprostá většina buněk obsahuje alespoň jeden typ galektinu.

### Obecně biologické charakteristiky galektinu - 3

#### Obecné vlastnosti galektinu - 3

Galektin - 3 (gal3) je znám pod několika odlišnými synonymními názvy podle toho, kde byl kterými autory izolován a popsán - IgE - binding protein (izolovaný z buněk bazofilní leukémie krysy) (133), Mac - 2 antigen (izolovaný z makrofágů myši) (37), CBP35, CPB - 30, L - 29, L - 34 (izolovaný z fibroblastů) (147, 198, 199). Je zatím jediný známý galektin s chimérickou strukturou molekuly; jeho molekulová hmotnost se uvádí v rozmezí 29 - 35 kDa (9). Gen kódující gal3 je označován LGALS3 (177).

## Lokalizace gal3 v buňce a v tkáni

Gal3 se vyskytuje jak extracelulárně (méně často), tak intracelulárně, přičemž v buňce se může nacházet intranukleárně, intracytoplazmaticky a v buněčné membráně (49, 95, 96, 256).

V experimentech *in vitro* bylo prokázáno, že rozdílná distribuce gal3 v buňce závisí do značné míry na jejím proliferačním stavu. Např. v klidových kulturách 3T3 myších fibroblastů je gal3 přítomen intracytoplazmaticky, naopak v proliferujících kulturách těchto buněk se nachází převážně intranukleárně (261). *In vitro* studiemi bylo dále zjištěno, že gal3 tvoří také jednu z komponent intracelulárních vezikul některých buněk, např. fagozomu J774 myších makrofágů a exozómů dendritických buněk (73, 236). Zda je přítomen na lumenální či cytoplazmatické straně membrány vezikuly, není zatím zcela objasněno. Mechanismus externalizace galektinů není zatím zcela zřejmý, protože galektiny neobsahují ve své molekule běžné signální sekvence, které jsou nutné pro klasickou cestu externalizace dané látky přes endoplazmatické retikulum a Golgiho systém (135).

Při výzkumu intracelulární lokalizace gal3 *in vitro* byly identifikovány některé proteiny, které mohou sloužit jako jeho ligandy, a mohou se tak podílet na jeho rozmanitých biologických funkcích. Jedná se především o bcl - 2 protein (262), Alix/AIP-1 (135), protein Gemin4 (176), CBP70 (218), Chrp (151), CEA (170) a cytokeratiny (77). Gal3 dále může vázat pomocí své unikátní domény též RNA a ssDNA (256). Tyto ligandy mají významný podíl na vlivu gal3 na apoptózu a sestřih (splicing) pre-mRNA (135). S výjimkou vazby gal3 – cytokeratin se v těchto případech jedná o vazbu typu protein - protein a nikoli o vazbu typu lektin - sacharid. Vazba gal3 na cytokeratiny je pravděpodobně zprostředkována částmi molekuly cytokeratinů, které obsahují N-acetyl-galaktozaminové zbytky (77). Ne všechny ligandy gal3 *in vitro* jsou však také jeho skutečnými ligandy *in vivo*.

## Biologické funkce gal3

### Sestřih (splicing) pre-mRNA

Gal3 se uplatňuje při procesu sestřihu pre-mRNA, jak ukazují následující experimentálně zjištěné výsledky (53, 253): a) extrakt z jader HeLa buněk využívaný k výzkumu sestřihu pre-mRNA obsahuje gal3, b) sestřih pre-mRNA je inhibován přidáním sacharidů, které váží gal3, c) odstranění gal3 a galektinu - 1 z jaderných extraktů těchto buněk vede k přerušení sestřihu pre-mRNA a k zástavě formování spliceozómu. Tato funkce gal3 je zřejmě významně ovlivněna vazbou na jeho intranukleárně lokalizovaný ligand protein Gemin4 (176).

### Regulace buněčného růstu a diferenciaci

V několika studiích in vitro byla zjištěna pozitivní korelace mezi expresí gal3 a proliferací buněk. Stimulace myších 3T3 fibroblastů k proliferaci má za následek zvýšenou transkripci genu pro gal3, zvýšenou akumulaci mRNA pro tento protein a jeho zvýšenou expresi (2). Gal3 je také ve zvýšeném množství přítomen v T-lymfocytech, které jsou vystaveny působení stimulátorů proliferace, např. interleukinu (IL) - 2, IL - 4 a IL - 7 (108). Navíc byla zjištěna vysoká exprese gal3 v nádorových buněčných kulturách, např. v buňkách K-1735 melanomu, UV-2237 fibrosarkomu a A31 angiosarkomu (190, 191).

Na druhé straně gal3 sám in vitro stimuluje růst fibroblastů (101), mezangiálních buněk (210) a též podporuje růst neuritu gangliových buněk zadních kořenů míšních (179).

Gal3 se také významně uplatňuje při diferenciaci epiteliálních buněk in vitro, která je vázána na přítomnost proteinu hensinu v extracelulární matrix v okolí epitelií. Diferenciaci epiteliálních buněk je možná pouze v přítomnosti polymerizované formy hensinu, kterou je schopen vyvolat právě gal3, pro něhož je hensin jedním z ligandů (86). Gal3 se podílí též na diferenciaci buněk trofoblastu (144, 243) a tubulogenezi v ledvinách (8). Dále bylo prokázáno, že gal3 stimuluje endoteliální buňky pupečnickové žíly k tvorbě kapilárních pupenů in vitro a že obecně stimuluje angiogenezi in vivo (160, 161).

## Regulace apoptózy

Ačkoli přesný mechanismus účinku gal3 na proces apoptózy není zcela přesně znám, lze shrnout, že gal3 má antiapoptotický účinek, na němž se podílí více faktorů a že antiapoptotický účinek má pouze fosforylovaná forma gal3 (131). Významně se uplatňuje též spolupůsobení bcl - 2 proteinu (135). Pro tuto domněnku hovoří několik následujících poznatků. Gal3 a bcl - 2 protein vykazují značnou podobnost sekvence aminokyselin, oba proteiny obsahují velké množství aminokyselin prolinu, glycinu a alaninu v N - terminální části své molekuly a konečně obě látky obsahují tzv. „NWGR“ kvartet v C - terminální části své molekuly. „NWGR“ kvartet je přítomen v BH - 1 doméně bcl - 2 proteinu a jeho přítomnost je nutná pro jeho antiapoptotický účinek a pro jeho heterodimerizaci s proteinem bax (266). Přítomnost tohoto kvartetu je také nutnou podmínkou obecné schopnosti galektinů vázat sacharidy, a také pro antiapoptotický účinek gal3, jak bylo prokázáno in vitro na kulturách buněk lidského karcinomu prsu (3). Navíc bylo zjištěno, že gal3 je schopen vázat bcl - 2 protein in vitro a vytvářet s ním heterodimer. Tento mechanismus antiapoptotického účinku gal3 byl posléze experimentálně prokázán u T-lymfocytů (262). Experimentálně bylo dále prokázáno, že gal3 je schopen zablokovat apoptózu T-lymfocytů in vitro navozenou protilátkou proti Fas a nespecifickým proteinkinázovým inhibítorem staurosporinem (262). Gal3 také inhibuje apoptózu nádorových buněk zprostředkovanou ischemií a působením oxidu dusnatého v in vitro modelu metastatického postižení jater karcinomem prsu (157).

Při indukci apoptózy in vitro dochází v buňkách k akumulaci gal3 v perinukleární membráně a v mitochondriích, kde gal3 zabraňuje jejich poškození a degradaci cytochromu c. Přesun gal3 do mitochondrií zprostředkovává protein synexin (267).

Na antiapoptotickém účinku gal3 se mohou podílet též extracelulární mechanismy, především jím zprostředkovaná vazba buňky na laminin, fibronectin, vitronectin a kolagen IV (257), tedy glykoproteiny běžně přítomné v extracelulární matrix. Zvýšená adheze buňky k extracelulární matrix

zprostředkovaná gal3 má na buňku antiapoptotický účinek. Gal3 vykazuje dále antiapoptotický účinek tím, že chrání buňky před zvláštním typem apoptózy (anoikis) indukované ztrátou "ukotvení" buňky k okolí (135).

### Regulace buněčného cyklu

Gal3 je nejen regulátorem růstu buněk a regulátorem apoptózy, ale uplatňuje se také při kontrole buněčného cyklu.

In vitro, BT549 buňky exprimující gal3, reagují na ztrátu buněčného "ukotvení" vstupem do klidové části G1 fáze, bez zahájení procesu programované buněčné smrti (115). Tento efekt je vysvětlován tím, že gal3 se podílí na downregulaci cyklinu E a cyklinu A a navíc zvyšuje množství inhibitoru těchto cyklinů, tedy proteinu p21 a p27 (135). Vlivem jeho působení dochází též k hypofosforylaci Rb proteinu a tyto změny vedou ve svém důsledku k tomu, že buňky nejsou schopné vstoupit do S fáze buněčného cyklu. Stejně jako v případě vlivu gal3 na apoptózu je i jeho vliv na buněčný cyklus limitován přítomností NWGR kvartetu v C - terminální části jeho molekuly (135). Dále bylo ve studiích in vitro prokázáno, že proapoptoticky působící protein p53, označovaný též jako strážce genomu, má vliv na downregulaci promotoru, který se nachází na druhém intronu genu pro gal3 (188).

### Buněčná adheze

Z podstaty své struktury a funkce jsou galektiny obecně významnými mediátory adheze jak mezi buňkami navzájem, tak mezi buňkami a mezibuněčnou matrix (177). Gal3 je schopen vázat laminin, fibronectin, vitronectin a kolagen IV, tedy běžné komponenty extracelulární matrix. Kromě toho se v modulaci buněčné adheze uplatňuje i N - terminální doména gal3 (177). Tato doména totiž současně představuje substrát pro enzymy metaloproteinázy 2 a 9 (168), které jsou často v nadbytku produkovány nádorovými buňkami. Degradace molekuly gal3 vede ve svém důsledku ke snížené adhezi nádorových buněk a zvýšené možnosti jejich dalšího šíření (132).

### Expresce gal3 v normálních tkáních

Expresce gal3 byla prokázána v nejrůznějších buňkách a tkáních živočichů i člověka. Gal3 je např. exprimován v enterocytech krypt tlustého střeva, kde se mění jeho intracelulární lokalizace v závislosti na diferenciaci buňky a jejím přesunu z bazálních partií krypty směrem do lumina tlustého střeva (141). Dále byl prokázán jeho výskyt v epiteliálních buňkách prsu, ledviny, v endoteliálních buňkách cév a v monocytech (kde zvyšuje syntézu a uvolňování IL – 1) a makrofázích (8, 34, 134, 139). Ačkoli normální T - lymfocyty gal3 neexprimují, některé lidské viry, např. HTVL - 1 virus, jsou schopné pomocí svého tax proteinu jeho expresi v těchto buňkách indukovat (91). Gal3 je dále schopen vázat molekuly IgE s Fc receptory na buněčných površích, a tím zahájit aktivaci žírných buněk a neutrofilů (267). Kromě toho se podílí i na aktivaci neutrofilů a tvorbě superoxidázy (255) a byl prokázán v Langerhansových buňkách kůže (22). Uplatňuje se tedy významně i v mechanismu zánětu. Při imunocytochemickém vyšetření kostní dřeně byla prokázána jeho přítomnost v buňkách myeloidní řady; v buňkách erythropoetické či lymfopoetické řady však prokázán nebyl (120).

### Expresce gal3 v nádorech

Zvýšená expresce gal3 byla prokázána v celé řadě lidských i zvířecích nádorů. Z lidských nádorových onemocnění se jedná např. o anaplastický velkobuněčný lymfom (117), melanom (103), hepatocelulární karcinom (90), karcinom pankreatu (17), karcinom žaludku (140) a nádory CNS (27).

V některých lidských nádorech je jeho expresce naopak snížena. Jedná se např. o karcinom tlustého střeva (215), karcinom prsu (34), ovariální karcinomy (241), karcinomy dělohy (242) a karcinom prostaty (244). Příčina rozdílné úrovně expresce gal3 v rozdílných typech nádorů není zatím zcela objasněna.

Ukazuje se, že stanovení koncentrace gal3 v krevním séru může sloužit jako ukazatel metastatického potenciálu daného nádoru (105).

### Expres gal3 ve štítné žláze

Ve studii in vitro s buňkami fetální lidské štítné žlázy TAD-2 byla zjištěna zvýšená exprese gal3 u buněk s maligním fenotypem, který se vyznačoval ztrátou kontaktní inhibice, růstem buněk nezávislým na složení séra a klonalitou růstu. Přítomnost gal3 ale nepostačovala pro získání invazivního fenotypu buněk (229).

### Expres gal3 ve fetální štítné žláze a v normální štítné žláze

V průběhu intrauterinního vývoje dochází ve štítné žláze k postupnému formování folikulů obsahujících koloid. Rozlišuje se stádium prekoloidní (7. - 13. týden gestace), iniciální koloidní stádium (13. - 14. týden gestace) a stádium folikulární (od 14. týdne gestace). Nově zformované folikly jsou postupně "přidávány" k již existujícím, a proto pozdější stádia vývoje štítné žlázy obsahují též struktury stádií předchozích. Ve studii, která zkoumala expresi gal3 ve 23 fetálních lidských štítných žlazách v různém vývojovém stádiu, nebyla jeho exprese folikulárními buňkami zastižena. Naopak, průkaz galektinu - 1 byl ve folikulárních buňkách pozitivní. Stroma štítné žlázy vykazovalo pozitivitu obou studovaných markerů (212).

Téměř ve všech studiích zkoumajících expresi gal3 v nenádorových a nádorových lézích štítné žlázy je zahrnuto i hodnocení exprese gal3 v parenchymu normální štítné žlázy buď formou vyšetření samostatných vzorků normální štítné žlázy, nebo hodnocení exprese gal3 v parenchymu normální štítné žlázy v okolí vyšetřovaných nenádorových či nádorových lézí.

V naprosté většině studií nebyla zaznamenána exprese gal3 folikulárními buňkami štítné žlázy a nebyla zjištěna jeho přítomnost v koloidu (10, 12, 33, 43, 56, 68, 74, 102, 113, 119, 145, 146, 186, 205). V ojedinělých studiích bylo nicméně zjištěno, že i folikulární buňky v parenchymu normální štítné žlázy a v parenchymu v okolí hyperplastických či nádorových lézí mohou vykazovat slabou pozitivitu gal3 (150), pravděpodobně se však jedná o fenomén závislý na použitém ředění primární protilátky, a tedy spíše o metodologický problém (85). C - parafolikulární buňky jsou rovněž při průkazu gal3 negativní (65), na rozdíl od

buněk solidních buněčných hnízd, které jsou při průkazu gal3 pozitivní (65, 174), čehož lze využít v diferenciální diagnostice mezi hyperplastickými parafolikulárními buňkami a solidními buněčnými hnízdy.

Pozitivitu při průkazu gal3 lze zaznamenat ve stromatu štítné žlázy, kde lze prokázat gal3 v endoteliích a hladkosvalových buňkách cév, ve fibroblastech, v nervových vláknech, v neutrofilních granulocytech, histiocytech a intrafolikulárních makrofázích (43, 68, 85). V případě posledně uvedeného buněčného typu se ve většině případů jedná o silnou nukleární pozitivitu, což je ve shodě se studii in vitro, které prokázaly expresi gal3 v aktivovaných makrofázích. Tuto skutečnost lze využít jako pozitivní vnitřní kontrolu při imunohistochemickém průkazu gal3.

#### Expres gal3 v nenádorových lézích štítné žlázy

#### Expres gal3 v zánětlivých lézích

Expres gal3 v případech DeQuervainovy tyreoiditidy byla zjištěna pouze v jedné studii, kde byla zastižena fokální pozitivita folikulárních buněk (119).

Ačkoli byla expres gal3 v případech Hashimotovy tyreoiditidy zkoumána v několika studiích, výsledky nejsou příliš konzistentní. V některých studiích expres gal3 nebyla zjištěna vůbec (74), v některých byla zastižena fokální pozitivita folikulárních buněk v okolí lymfatických folikulů (10, 119). Jako jedno z možných vysvětlení se uvádí možnost inkorporace gal3 folikulárními buňkami z extracelulárního prostoru, kde se v menším množství nachází za normálních podmínek a kam může být též ve zvýšeném množství secernován zánětlivými buňkami (70).

V některých studiích byla navíc prokázána silná expres gal3 v onkocytárně změněných folikulárních buňkách (119, 150), což vede některé autory k otázce, zda tyto buňky nelze již považovat za maligně transformované (119).



### Exprese gal3 v hyperplastických lézích

Ve většině studií zkoumajících expresi gal3 v hyperplastických lézích byl zjištěn negativní výsledek jeho detekce v případě hyperplastických uzlů a v případech nodózních strum. Ve všech těchto studiích nebyla také zastižena pozitivita folikulárních buněk vytvářejících intrafolikulární pseudopapilární formace, což podle autorů může být využito v diferenciální diagnostice PC (10, 43, 68, 74, 85, 102, 119). Výsledky dalších studií však nebyly tak jednoznačné. Exprese gal3 byla např. zjištěna v 16 - 60% případů nodózních strum; převážně se však jednalo o pozitivitu slabou a fokální, která nebyla lokalizována v buňkách vytvářejících intrafolikulární pseudopapilární formace, ale převážně v buňkách vykazujících určité cytologické atypie, a která je vysvětlována klonální expanzí těchto folikulárních buněk (12, 33, 145, 186). V koloidních strumách byla též pozorována silná pozitivita gal3 v intrafolikulárních makrofázích (119). Pouze v jedné studii byla v jednom z osmi vyšetřovaných případů hyperplastických uzlů zaznamenána pozitivita folikulárních buněk vytvářejících pseudopapilární formace (67).

Výsledek imunohistochemické detekce gal3 v případech Graves - Basedowovy choroby byl až na jediný případ v jedné studii negativní (10, 186).

### Exprese gal3 v nádorech

Obecně je možno shrnout, že případná pozitivita nádorových buněk je převážně cytoplazmatická a že buňky pouze s jadernou pozitivitou jsou považovány spíše za buňky proliferující, jak dokládá i pozitivní průkaz proliferačního antigenu Ki- 67 právě v těchto buňkách (119).

### Folikulární adenom

Výsledky jednotlivých studií zkoumajících expresi gal3 ve FA se dosti liší. V některých studiích byl průkaz gal3 v těchto nádorech kompletně negativní (68, 102), zatímco v dalších studiích byla zjištěna exprese gal3 v dosti širokém rozmezí 2% - 63% případů FA (10, 12, 43, 56, 67, 74, 76, 85, 113, 119, 145, 146, 150, 169, 186). Ve většině případů se jednalo o slabou fokální pozitivitu méně

než 20% nádorových buněk, které byly lokalizovány převážně subkapsulárně, příp. vykazovaly určité cytologické atypie. V jedné z těchto studií však tato distribuce pozitivita pozorována nebyla, gal3 byl buňkami exprimován difúzně v rámci celého nádoru (150).

V několika studiích byla zjištěna pozitivní exprese gal3 v 60 - 86% případů atypických adenomů. Většinou se jednalo o středně silnou až silnou difúzní pozitivitu exprese gal3. Pokud byla pozitivita fokální, byla lokalizována převážně v těch nádorových buňkách, které invadovaly do pouzdra (10, 74, 186). Autoři proto doporučují tyto léze označovat jako časně FC, kde v důsledku včasného chirurgického odstranění léze nedošlo ještě ke kompletní transkapsulární invazi nádorových buněk, ačkoli již jsou přítomny molekulární známky maligní transformace nádorových buněk, spočívající právě v pozitivitě imunohistochemického průkazu gal3.

#### Folikulární karcinom

Při výzkumu exprese gal3 v FC bylo v různých studiích dosaženo různých výsledků. V některých studiích byla zjištěna difúzní silná exprese gal3 ve 100% případů FC (12, 74, 102), ve většině dalších studií byla zjištěna exprese gal3 v poměrně širokém rozmezí 50 - 94% případů FC. Pozitivita nádorových buněk byla jak fokální (v těchto případech se jednalo o nádorové buňky, které invadovaly přes nádorové pouzdro či do cév, příp. vykazovaly určité cytologické atypie), tak difúzní (43, 68, 85, 113, 119, 145, 146, 150, 186, 205).

Ve dvou studiích byla rozlišována minimálně a široce invazivní varianta FC. V jedné studii byla exprese gal3 zjištěna v 93% případů minimálně invazivních FC a ve 100% případů široce invazivních FC (10), zatímco ve druhé studii byla exprese gal3 zjištěna pouze ve 40% případů minimálně invazivních FC, kde byla navíc slabá a fokální, a v 83% případů široce invazivních FC, kde byla silná a difúzní (169).

## Papilární karcinom

Celá řada studií prokázala vysoké procento případů PC, které vykazují pozitivitu exprese gal3. Exprese gal3 byla prokázána v 83 - 100 % případů PC, kde se jednalo převážně o pozitivitu difúzní a silnou (10, 12, 33, 43, 56, 67, 68, 74, 76, 85, 102, 113, 119, 145, 150, 169, 186).

V několika studiích byla zkoumána exprese gal3 v jednotlivých variantách PC. V případě folikulární varianty PC byla pozitivita zastižena v 33% (85), 83% (169) a 100% (43, 67) případů. Koloid v nádorových foliklech vykazoval též pozitivitu gal3, který je do koloidu pravděpodobně secernován nádorovými buňkami. Exprese gal3 byla dále zjištěna ve 100% případů solidní varianty PC, Warthin-like varianty PC, tall cell varianty PC, columnar cell varianty PC, difúzně-sklerózujícího PC a papilárního mikrokarcinomu (85). V případě onkocytární varianty PC byla zastižena silná difúzní pozitivita gal3 v 97% případů (249).

V některých studiích bylo prokázáno, že metastázy v lymfatických uzlinách vykazují stejnou pozitivitu jako primární PC ve štítné žláze (102), v některých byla naopak zjištěná pozitivita metastáz slabší než v primárním nádoru (43), některé metastázy byly dokonce v průkazu gal3 negativní, zatímco primární nádorové ložisko vykazovalo silnou pozitivitu (113).

## Onkocytární nádory

Předem je nutno předeslat, že onkocytárně transformované buňky obecně obsahují velké množství endogenního biotinu, a proto použití detekčních systémů s biotinem při imunohistochemickém vyšetření může být zdrojem falešně pozitivních výsledků (249).

Imunohistochemický průkaz gal3 byl v OA v některých studiích kompletně negativní (186, 205), v některých studiích byla v ojedinělých případech zjištěna pouze fokální slabá pozitivita nádorových buněk lokalizovaných převážně subkapsulárně (10, 249). Pouze v jedné studii byla zjištěna pozitivita gal3 v 83% případů OA (169). V případech OA s cytologickými atypii a inkompletní transkapsulární invazí nádorových buněk byla zjištěna pozitivita gal3 ve 100% případů (205).

Pozitivita gal3 byla zjištěna v 78 - 100% případů OC, a to včetně minimálně invazivních OC (10, 43, 186, 205, 249).

#### Nízce diferencovaný karcinom

V několika studiích, které zkoumaly expresi gal3 v PDC byla zjištěna pozitivita v 25% (85), 65 % (10) a 66% (43, 68) případů. Pozitivita byla obecně slabší (fokální i difúzní) než u dobře diferencovaných maligních nádorů. Validita těchto výsledků je jistě ovlivněna nízkým počtem vyšetřených případů.

#### Anaplastický karcinom

Validita výsledků exprese gal3 v AC je také jistě ovlivněna nízkým počtem vyšetřených případů.

Pozitivita gal3 byla zastižena v 50 -100 % případů (10, 43, 68, 74, 85, 102, 186), ovšem počet vyšetřených případů v těchto studiích byl v řádu několika jednotek. Nejvalidnější je výsledek studie, kde byla pozitivita zastižena v 18 z 20 případů AC (10). Pozitivita byla obecně slabší (fokální i difúzní) než u dobře diferencovaných maligních nádorů současně zkoumaných v těchto studiích.

#### Medulární karcinom

Expese gal3 v medulárních karcinomech se v různých studiích liší a je uváděna v poměrně širokém rozmezí positivity ve 43 - 100% případů (10, 12, 52, 68, 85, 119). Pozitivita byla zaznamenána jak fokální, tak difúzní, slabá i silná, přičemž silná pozitivita byla pozorována u pokročilejšího stádia nádoru (52).

#### Detekce mRNA gal3

Výsledky studií zkoumajících přítomnost mRNA gal3 v nenádorových a nádorových lézích štítné žlázy se liší. Někteří badatelé detekovali mRNA gal3 pouze v maligních nádorech štítné žlázy (74), někteří detekovali mRNA gal3 i ve 40% případů FA (205) a konečně někteří ji detekovali jak v parenchymu normální štítné žlázy, tak v nenádorových i nádorových lézích štítné žlázy (67, 102).

Rozdílné výsledky jsou pravděpodobně způsobeny několika faktory. Především je otázka z jakých typů buněk byla mRNA odebrána, protože je známo, že např. endotelie cév či zánětlivé buňky exprimují za normálních okolností gal3 a mohou být tedy zdrojem falešně pozitivních výsledků. Dále není možné zjistit, zda se gal3 v dané buňce nachází intranukleárně či intracytoplazmaticky. Kromě toho není známo nic o dalších úpravách mRNA gal3 v benigních lézích, takže vypovídající hodnota zjištění přítomnosti mRNA gal3 v benigních lézích je diskutabilní. Obecně je tato metoda považována za příliš sensitivní, než aby mohla být běžně využívána v rutinní bioptické praxi, kde se dává přednost imunohistochemickému vyšetření (102, 249, 250).

#### Imunocytochemická detekce gal3 v nátěrech získaných pomocí FNAC

V několika studiích byla pomocí imunocytochemie zjišťována přítomnost gal3 v nátěrech získaných pomocí FNAC. V nátěrech získaných ze zánětlivých a hyperplastických lézí byl průkaz gal3 negativní, s výjimkou pozitivních onkocytárně transformovaných buněk v nátěrech získaných z Hashimotovy tyreoiditidy. V nátěrech z benigních nádorů byla zaznamenána pozitivita gal3 pouze v ojedinělých buňkách v minimálním počtu případů FA a OA, zatímco v nátěrech získaných z maligních nádorů (především z FC a PC) byl průkaz gal3 pozitivní ve více jak 90% případů (10, 74, 76, 102, 165). Sensitivita a specificita gal3 pro odlišení benigní a maligní léze vyšla v jedné studii 100%, resp. 98% (10).

#### Shrnutí

Z výše uvedeného přehledu exprese gal3 v nenádorových a nádorových lézích štítné žlázy je patrné, že výsledky jednotlivých studií se navzájem dosti liší. Příčin může být celá řada. Na prvním místě se může jednat o metodologický problém. Velmi záleží na typu použité primární protilátky a jejím ředění a dále na typu použitého detekčního systému, kde se doporučuje používat detekční systémy s digoxigeninem namísto detekčních systémů s biotinem (85, 250). Dále záleží na definici kvantifikace positivity imunohistochemického vyšetření dané

léze. Obecně je doporučováno daný případ považovat za pozitivní, pokud se barví více jak 10% nádorových buněk (33). Výsledky exprese gal3 u některých méně častých nádorů, např. PDC a AC, jsou jistě ovlivněny malým počtem vyšetřených případů.

Sensitivita a specifická gal3 pro odlišení benigních nádorů od maligních se proto pohybuje v širokém rozmezí 86 - 94%, resp. 36 - 98%. Sensitivita a specifická gal3 pro odlišení FA od FC se udává 70 - 90%, resp. 55 - 79% (10, 119, 145, 150, 169, 186, 249). Sensitivita a specifická gal3 pro odlišení PC od pseudopapilárních formací u hyperplastických lézí se udává 100%, resp. 40% (33).

Je možné shrnout:

1. Pozitivita gal3 svědčí spíše pro malignitu vyšetřované léze a měla by vést k pátrání po diagnostických kriteriích malignity, popř. k extenzivnímu vyšetření dané léze (169, 204).
2. Pozitivita gal3 u onkocytárních lézí neznamena nutně malignitu (249).
3. Někteří autoři doporučují považovat atypické adenomy s pozitivním výsledkem detekce gal3 za časně FC (74).
4. Nebyla zjištěna korelace mezi expresí gal3 s věkem pacienta, velikostí léze, přítomností transkapsulární invaze či angioinvaze a přítomností metastáz (146).
5. Pozitivita gal3 v nátěrech získaných FNAC svědčí spíše pro malignitu dané léze (10).
6. Někteří autoři doporučují sledovat hladinu gal3 v krevním séru pacienta (10).

## 2.6.2. Charakteristika cytokeratinu 19

### Obecná charakteristika cytokeratinů

Cytokeratiny (CK) patří mezi intermediární filamenta s průměrem vlákna 10 nm a společně s mikrofilamenty a mikrotubuly vytvářejí cytoskelet buňky. Intermediární filamenta sdílí společnou základní molekulární strukturu a též určité konzervativní aminokyselinové sekvence. Základní částí molekuly CK je centrální alfa-helikální doména, která se významně uplatňuje při následné heterodimerizaci CK. Na tuto doménu navazuje na N - terminálním konci non - helikální „head“ doména a na C - terminálním konci non - helikální „tail“ doména (123).

CK jsou tradičně děleny do dvou základních skupin podle hodnoty pH svého izoelektrického bodu (pI) (123):

- a) CK I – kyselé (CK 9 – 20) s hodnotou pI ~ 4,9 – 5,7,
- b) CK II – neutrální či zásadité (CK 1 – 8) s hodnotou pI ~ 6,1 – 7,8.

Jednotlivé CK jsou dále v rámci jednotlivých skupin číslovány podle své klesající molekulové hmotnosti.

Jednou ze základních vlastností CK je schopnost vytvářet dimery. Na rozdíl od jiných intermediárních filament se jedná vždy o heterodimery, přičemž tyto heterodimery jsou vytvářeny kombinací jednotlivých CK ze skupin I a II v ekvimolárním množství. Heterodimery se dále organizují v antiparalelně uspořádané heterotetramery a ty potom následně vytvářejí filamentum (228). Předpokládá se, že přítomnost „head“ a „tail“ domény nemá na vytváření heterotetrameru významný vliv, ačkoli „tail“ doména má stabilizující účinek na nově vzniklé filamentum (82).

### Struktura cytokeratinu 19

Cytokeratin 19 (CK 19) má poněkud odlišné vlastnosti od ostatních CK, které vyplývají z jeho odlišné struktury. CK 19 je CK s nejkratší délkou molekuly a s nejmenší molekulovou hmotností – 40 kDa. Příčinou je velmi krátký úsek „tail“ domény, kterou tvoří pouze 13 aminokyselin (226). CK 19 také nevytváří

heterodimer s žádným dosud známým CK typu II. Gen kódující CK 19 se označuje jako KRT19 (186).

Biologické vlastnosti a exprese CK 19 v různých tkáních a nádorech

CK 19 je typicky exprimován v jednoduchých a žlazových epitelech. Výjimkou z jednoduchých epitelů jsou pouze hepatocyty a epiteliální buňky ledvinných tubulů, kde CK 19 exprimován není. Ve vrstevnatých epitelech (např. epidermis) nebývá exprimován příliš často, většinou pouze v bazálních zónách daného epitelu (92, 98).

Exprese CK 19 byla prokázána ve sliznici jazyka, epiglottis, gastrointestinálního traktu, žlučníku, močového měchýře, trachey a dále v apokrinních, potních a prsní žláze (155). Exprese CK 19 byla také prokázána v několika typech maligních nádorů, např. adenokarcinomu žaludku, tlustého střeva, jícnu, pankreatu, karcinomu prsu, dlaždicobuněčném karcinomu jícnu, epiglottis a v ameloblastomu (155).

Obecně se vyskytuje v místech variabilní buněčné diferenciaci a předpokládá se, že ho buňky využívají jako tzv. neutrální CK (226). Jeho exprese se zvyšuje působením kyseliny retinové (61, 118) a estrogenu (41), jak bylo prokázáno ve studiích in vitro. Na jeho degradaci se podílí mimo jiné též enzymatický systém kaspáz (47). Za jeho nejbližší příbuzné CK se považují CK 13 a 14 (226).

Funkce CK 19 zatím zcela objasněna není. U laboratorních myší s vyřazeným genem pro CK 19 nebyl pozorován žádný specifický fenotyp, který by odpovídal určitému poškození tkání či orgánů. Pouze v případě, že byl současně vyřazen též gen pro CK 8, resp. 18, byly pozorovány spontánní aborty kolem 9. dne po oplodnění, resp. anomálie placenty vedoucí k abortu kolem 10. dne gestace (231).



#### Expres CK 19 ve štítné žláze

Případný pozitivní imunohistochemický průkaz CK 19 je charakterizován cytoplazmatickou pozitivitou s event. membránovým zvýrazněním (33, 69, 186, 206).

#### Expres CK 19 v normální štítné žláze

Výsledky imunohistochemické detekce CK 19 v normální štítné žláze jsou značně variabilní. V některých studiích byl průkaz CK 19 ve všech vyšetřovaných případech negativní (12), v jiných studiích byla zastižena pozitivita CK 19 ve všech vyšetřovaných případech. Ve většině případů se jednalo o slabou fokální pozitivitu nejvýše 20% folikulárních buněk. CK 19 byl zastižen v solidních buněčných hnízdech, v dlaždicově metaplastických buňkách a v normálním parenchymu štítné žlázy v bezprostředním okolí nádorového ložiska (69, 186, 206).

#### Expres CK 19 v hyperplastických a zánětlivých lézích štítné žlázy

Při detekci CK 19 v nodózní strumě a v případech Graves - Basedowovy choroby byla zastižena pozitivita v 0 - 100% případů. Většinou se jednalo o fokální, převážně slabou pozitivitu ojedinělých folikulárních buněk, které vystýlaly cysticky degenerované folikuly či vykazovaly známky dlaždicobuněčné metaplazie. Intrafolikulární papilární či pseudopapilární formace byly ve většině případů negativní (6, 12, 33, 40, 153, 186, 189).

V případech Hashimotovy tyreoiditidy byla pozitivita CK 19 zastižena až ve 100% případů. Většinou se jednalo o fokální, v některých případech silnou pozitivitu folikulárních buněk obklopených zánětlivým lymfoidním infiltrátem. Onkocytárně transformované folikulární epitely byly při detekci CK 19 negativní (33, 69, 153).

## Expresí CK 19 v nádorech štítné žlázy

### Folikulární adenom

Při detekci CK 19 v případech FA byla pozitivita zastížena v 0 -100% případů. Ve většině případů se jednalo o slabou fokální pozitivitu, i když v některých případech byla zastížena též pozitivita silná (12, 153, 186, 189, 206). Zajímavým nálezem byla fokální pozitivita subkapsulárně lokalizovaných nádorových buněk a fokální pozitivita nádorových buněk vystýlajících cystické folikly (206).

### Folikulární karcinom

Ve studiích zkoumajících expresi CK 19 ve FC byla zastížena pozitivita v širokém rozmezí 0 - 100% případů. Zjištěná pozitivita byla převážně fokální, slabá i silná (12, 40, 69, 122, 153, 186, 189). V jedné studii rozlišující minimálně a široce invazivní formu FC nebyl mezi těmito dvěma variantami zjištěn statisticky významný rozdíl (69).

### Papilární karcinom

Expresí CK 19 byla zjištěna ve 72 – 100% případů PC. V naprosté většině případů se jednalo o pozitivitu silnou a difúzní (6, 12, 33, 40, 56, 69, 122, 153, 186, 189, 206). Ve většině studií nebyl v expresi CK 19 prokázán statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými variantami PC, ačkoli v jedné studii byla negativita CK 19 zjištěna u 43% případů folikulární varianty PC (40). Stupeň a intenzita expresí CK 19 bývá zachována i v metastázách daného nádoru v lymfatických uzlinách, z čehož někteří autoři vyvozují závěr, že CK 19 se pravděpodobně procesu metastazování významněji neúčastní (12, 69). V jedné studii byla též zastížena pozitivita normálního parenchymu štítné žlázy v bezprostředním okolí ložiska folikulární varianty PC, kterou autoři vysvětlují sekrecí blíže neurčené látky nádorovými buňkami, která ovlivňuje expresi CK 19 v okolním parenchymu (6).

### Onkocytární nádory

V jedné studii byl průkaz CK 19 ve všech případech OA negativní (186), zatímco ve druhé studii byla v 90% případů OA zastižena slabá pozitivita ojedinělých nádorových buněk (153).

Ve třech studiích byla zastižena převážně slabá pozitivita CK 19 v 29 - 100% případů OC (40, 153, 186).

### Nízce diferencovaný karcinom

V několika studiích byla zastižena převážně slabá pozitivita CK 19 v nádorových buňkách ve 40 -100% případů PDC (40, 69, 122).

### Anaplastický karcinom

Výsledky několika studií zkoumajících expresi CK 19 v AC se dosti liší. Pozitivita CK 19 byla zastižena ve 0 - 100% případů (12, 122, 152, 186). Nejvíce byla pozitivita zastižena ve skvamoidní variantě AC, zatímco v obrovskobuněčné a vřetenobuněčné byl výsledek detekce CK 19 negativní, což zřejmě souvisí se ztrátou epiteliální diferenciace nádorových buněk (152).

### Medulární karcinom

Expres CK 19 byla zastižena v 77% (122), resp. 100% (12) případů MC; pozitivita byla převážně slabá či středně silná a byla vyjádřena pouze fokálně.

### Expres CK 19 v nátěrech získaných FNAC

Expres CK 19 v nátěrech získaných FNAC je dle různých studií variabilní. V jedné studii byla pozitivita CK 19 zastižena ve 34 ze 37 případů PC, zatímco nátěry z jiných nenádorových i nádorových lézí byly negativní (162). V další studii byla zastižena silná pozitivita CK 19 ve 100% nátěrů z PC, v 1 z 8 nátěrů FA, v polovině případů nátěrů z FC a dokonce v 80% případů nátěrů z benigních hyperplastických lézí (87).

## Shrnutí

Případný přínos CK 19 spočívá především v diferenciální diagnostice papilárních či pseudopapilárních formací v hyperplastických lézích a PC a dále v diferenciální diagnostice FA, FC a folikulární varianty PC.

Výsledky jednotlivých studií se dosti liší. Příčin může být více. Lze konstatovat, že při detekci CK 19 na parafinových řezech může být negativní výsledek detekce způsoben ztrátou antigenicity CK 19 v průběhu zpracování materiálu na rozdíl od materiálu zpracovaného rychlou zmrazovací technikou (189). Za pozitivitu je doporučeno považovat více jak 10% pozitivně se barvících nádorových buněk (186).

Lze shrnout:

1. Ve většině studií byl prokázán přínos CK 19 v diferenciální diagnostice papilárních či pseudopapilárních formací v hyperplastických lézích (kde je jeho průkaz většinou negativní) od PC (většinou silná difúzní pozitivita) (33, 153).
2. CK 19 není spolehlivým markerem pro odlišení FA, FC a PC, resp. jeho folikulární varianty, ačkoli silná difúzní pozitivita CK 19 spolu s typickými jadernými charakteristikami nádorových buněk podporuje diagnózu PC, příp. jeho folikulární varianty (12, 69, 153, 186, 206).
3. Fokální pozitivita exprese CK 19 diagnózu PC nevylučuje (206).
4. Intenzita exprese CK 19 stoupá v řadě FA – FC – PC (153, 200).
5. Nižší exprese CK 19 v málo diferencovaných nádorech zřejmě souvisí s postupnou dediferenciací nádorových buněk, ačkoli počet vyšetřených případů je zatím poměrně malý (122).
6. Exprese CK 19 v buňkách v nátěru získaném pomocí FNAC společně s příslušnými jadernými charakteristikami nádorových buněk podporuje diagnózu PC (162).

### 2.6.3. Charakteristika neural cell adhesion molecule

Molekulární struktura neural cell adhesion molecule (NCAM)

NCAM je transmembránový glykoprotein, který patří do rozsáhlé rodiny buněčných adhezivních molekul. Strukturálně patří NCAM do imunoglobulinové rodiny (50, 106), přičemž byla jednou z prvních imunoglobulinových adhezivních molekul, která byla podrobně chemicky charakterizována (237). Následně bylo prokázáno, že lidský antigen CD 56 (též známý jako Leu-19), který je exprimován na NK buňkách a na 5 - 10% periferních lymfocytů, je identický s 175 - 185 kDa formou NCAM (124).

NCAM je tvořena extracelulární, transmembránovou a intracelulární komponentou. Extracelulární komponenta NCAM se sestává z pěti tandemově uspořádaných imunoglobulinových domén a dvou „fibronectin III – like“ domén, které jsou navázány na transmembránovou a intracelulární část molekuly (84). V důsledku flexibilního spojení mezi doménami existuje velké množství různých konformací NCAM (11).

V současné době je známo několik izoform NCAM, které vznikají alternativním sestřihem jediné mRNA a následnými posttranslačními úpravami jejich transmembránové a cytoplazmatické C - terminální části (171), přičemž je známo, že na regulaci transkripce NCAM se podílí homeobox a pairedbox geny (107).

Dvě izoformy NCAM jsou kompletní transmembránové molekuly o molekulové hmotnosti 180 kDa a 140 kDa, vyskytující se převážně v centrální nervové soustavě a v endokrinních žlázách (235). Třetí izoforma o molekulové hmotnosti 120 kDa je připojena na buněčnou membránu vazbou na glykofosfatidylinositol (50). Následně byla v mozku člověka objevena další izoforma o molekulové hmotnosti 105 - 115 kDa označovaná jako cNCAM (248).

Obě transmembránové formy NCAM jsou fosforylovány na serinu a treoninu ve svých intracytoplazmatických částech a dále jsou acylovány navázáním zbytků mastných kyselin (26). Obě tyto posttranslační úpravy jsou velmi důležité pro správnou funkci NCAM v mezibuněčných interakcích (258).

## Obecné biologické funkce NCAM

NCAM je exprimována na površích buněk obratlovců v průběhu embryonálního i postnatálního vývoje. Obecně se dá říci, že ovlivňuje migraci buněk, buněčnou adhezi a podílí se i na přenosu signálu do nitra buněk v CNS (50).

## Buněčná adheze

Všechny izoformy NCAM mohou zprostředkovat homofilní, kalcium independentní adhezivní vazbu mezi dvěma molekulami NCAM přítomnými na površích sousedních buněk. Existují ale též heterofilní ligandy NCAM, např. kolagen I, heparan sulfát či mozkové proteiny spektrin a foldrin (203).

Unikátní skutečností je fakt, že se NCAM může nacházet též ve formě antiadhezivní. Antiadhezivní forma NCAM je charakterizována přítomností dvou negativně nabitých lineárních řetězců alfa - 2, 8 - polysialové kyseliny, které jsou navázány na pátou imunoglobulinovou doménu extracelulární části NCAM (163). Tato forma NCAM, označovaná též PSA forma, kromě svého antiadhezivního účinku též zvyšuje mobilitu buněk, zvětšuje intercelulární prostor a zvyšuje plasticitu neuronů (163). Percentuální zastoupení PSA formy NCAM během vývoje jedince postupně klesá (202).

## Úloha NCAM ve vývoji nervového systému

NCAM má velmi významnou funkci při vývoji centrálního a periferního nervového systému, podílí se např. na správně orientovaném růstu neuritu gangliových buněk zadních kořenů míšních, podporuje regeneraci gangliových buněk a inhibuje proliferaci astrocytů (50).

U laboratorních myší s vyřazeným genem pro NCAM dochází k celkovému výraznému zmenšení objemu mozku, výraznému zmenšení zvláště olfaktorických bulbů v důsledku poruchy migrace olfaktorických neuronů z periventriculárních oblastí mozku a dále ke strukturálním poruchám hippocampu (např. ztenčení gyrus dentatus) a k poruchám uspořádání nejrůznějších

axonálních drah (238). Dále dochází k celkové poruše cytoarchitektoniky mozku (247).

Je prokázáno, že intercelulární kontakt zprostředkovaný NCAM ovlivňuje biosyntézu enzymů nutných pro syntézu neurotransmiterů na synapsích nervových buněk (203). Modifikace genu pro NCAM, která vede k tvorbě rozpustné formy NCAM, je pro embryo letální, pravděpodobně pro vysokou toxicitu této formy NCAM (187). Hladina NCAM je zvýšena v mozkomíšním moku u pacientů se schizofrenií a bipolární afektivní poruchou (247). Exprese NCAM se též zvyšuje během procesu učení; použití protilátek proti NCAM proces učení blokuje (60). Neurální buňky ztrácejí schopnost exprese NCAM po transformaci onkogenními viry (62).

#### Přenos signálu do nitra buňky

NCAM se též významně uplatňuje v přenosu signálu do nitra buňky např. vazbou na glukokortikoidní receptor v cytoplasmě a dále vazbou na transkripční faktor NFkappaB (121). V této cestě přenosu signálu jsou též zapojeny proteinkináza C, MAP kináza a proteiny p59 a p125 (13, 143).

#### Exprese NCAM v nádorech

Exprese NCAM byla prokázána v 15% případů konvenčního světlobuněčného karcinomu ledviny, přičemž byla prokázána pozitivní korelace mezi expresí NCAM a vyšším rizikem vzniku metastáz v nadledvinách a mozku a též pozitivní korelace mezi expresí NCAM a kratší dobou přežití od stanovení diagnózy. Autoři této studie též poukazují na možnost vysvětlit selektivní metastázy světlobuněčného karcinomu ledviny do mozku vazbou NCAM nádorových buněk na NCAM přítomnou v mozkové tkáni (55), protože bylo prokázáno, že rostoucí buňky tkáňové kultury karcinomu ledviny využívají NCAM k vazbě na subendoteliální matrix (271).

Exprese NCAM byla dále prokázána v buněčných kulturách malobuněčného karcinomu plic a neuroblastomu (156). Pozitivní korelace mezi expresí NCAM a perineurální invazí nádorových buněk byla prokázána u

dlaždicobuněčného karcinomu hlavy a krku, karcinomu žlučníku, karcinomu žlučvodů a karcinomu pankreatu (149, 216, 217, 234).

Ačkoli vlastní nádorové buňky karcinomu prostaty NCAM neexprimují, někteří autoři vysvětlují perineurální šíření tohoto nádoru parakrinní stimulací periferních nervových vláken k expresi NCAM nádorovými buňkami (130).

## Expresie NCAM ve štítné žláze

### Normální štítná žláza

NCAM je exprimována folikulárními buňkami parenchymu normální štítné žlázy. Pozitivita bývá membránová, přičemž NCAM je přítomna na bazolaterální části buněčné membrány folikulárních buněk. Na apikální části buněčné membrány její exprese prokázána nebyla. Endotelie ani stromální buňky NCAM neexprimují (154, 246, 268, 269).

### Zánětlivé léze

V případě Graves - Basedowovy choroby byla prokázána membránová exprese NCAM folikulárními buňkami, navíc byla prokázána též granulární pozitivita intracytoplazmatická. Folikulární buňky v blízkosti zánětlivého lymfoidního infiltrátu vykazovaly silnou pozitivitu NCAM. NCAM pozitivní lymfocyty byly detekovány pouze v malém množství (246). V případech Hashimotovy tyreoiditidy byla zastižena převážně fokální pozitivita folikulárních buněk (268).

### Benigní a maligní nádory

V případech FA byla zastižena difúzní pozitivita nádorových buněk, na rozdíl od slabé fokální positivity nádorových buněk v případech FC a PC a negativity nádorových buněk v případech MC (154, 268, 269).



## Shrnutí

Závěrem je možno shrnout, že NCAM se ve štítné žláze pravděpodobně podílí na architektuře foliklu, i proto, že je zde přítomna převážně izoforma o molekulové hmotnosti 140 kDa, která má vzhledem ke své relativně menší intracytoplazmatické komponentě převážně strukturální funkci. Exprese NCAM v případech zánětlivých lézí ukazuje na možnost, že se NCAM podílí na migraci lymfocytů do štítné žlázy, i když procentuální zastoupení NCAM pozitivních lymfocytů bývá relativně malé. Slabá či žádná exprese NCAM v maligních nádorech může souviset s obecnou ztrátou adhezivní nadorových buněk (154, 246, 268, 269). Výsledky jsou však limitovány relativně nízkým počtem studií, které byly zatím expresi NCAM ve štítné žláze věnovány.

#### 2.6.4. Charakteristika E-cadherinu

E-cadherin (Ecad) je jednou z nejvíce studovaných a také nejvíce prozkoumaných látek patřících do velké skupiny buněčných adhezivních molekul označovaných jako cadheriny (185, 240).

Ecad je též znám pod různými synonymními názvy, podle toho, v jaké tkáni byl detekován. Jako uvomorulin byl detekován v buňkách myších embryí ve vývojové fázi moruly (99), jako „liver cell adhesion molecule“ byl detekován v kuřecích jaterních buňkách (18), jako Arc-1 byl popsán v ledvinných buňkách psa (14) a jako cell-CAM 120/80 byl popsán v kulturách lidských epiteliálních buněk (54).

Ecad je kódován genem CDH1, jehož lokus se nachází na chromozómu 16q22.1 (185) a který je vzhledem k biologickým funkcím Ecad možné označit jako tumor supresorový gen (240).

#### Obecná charakteristika cadherinů

Cadheriny jsou transmembránové glykoproteiny lokalizované v cytoplazmatické membráně většiny buněk živočišných tkání. Většina z nich zprostředkovává homofilní kalcium-dependentní interakci mezi buňkami pomocí svých extracelulárních domén (185).

Podle sekvence aminokyselin a struktury molekuly jsou cadheriny děleny do pěti skupin (185):

- a) klasické cadheriny typu I,
- b) klasické cadheriny typu II,
- c) desmozomální cadheriny,
- d) protocadheriny,
- e) další, vzdáleně příbuzné cadheriny.

Do skupiny a) patří první popsané cadheriny, tedy Ecad nacházející se v epiteliálních buňkách, kde je významnou komponentou intercelulárního kontaktu typu zonula adherens (185), N - cadherin přítomný v nervových buňkách (192) a P - cadherin detekovatelný v placentě, prostatě a kůži (221). Dále do této skupiny

patří nově objevený R - cadherin nacházející se v retině a mozku (104) a myši M - cadherin detekovatelný ve svalech a mozku (58), který je homologní s lidským cadherinem - 15 (220).

Do skupiny b) patří cadheriny - 5 až 12, které se nacházejí převážně v mozku a odlišují se od cadherinů skupiny a) především sekvencí aminokyselin ve své N - terminální části molekuly (232).

Mezi desmozomální cadheriny patří desmogleiny 1, 2, 3 a desmocolliny 1, 2, 3, které jsou významnou součástí desmozómů. Na jejich funkci se významně podílí též další s nimi asociované molekuly, např. plakoglobin, desmoplakin a plakofilin. Jsou exprimovány především v kůži a dalších epitelech a od klasických cadherinů typu I se liší především strukturou své intracytoplazmatické C - terminální části molekuly (116).

Do skupiny protocadherinů patří Pcdh1, Pcdh2 a Pcdh7 detekovatelné v mozku, srdci, fibroblastech a buňkách lidského melanomu, dále Pcdh3 prokazatelný u krys a NF - cadherin. V důsledku odlišné struktury své intracytoplazmatické C - terminální části se protocadheriny pravděpodobně nejsou schopny vázat na cateniny, což je typický znak cadherinů typu I (208).

Do skupiny e) patří např. H - cadherin, též označovaný jako cadherin 13, který je exprimován v srdci a mozku a podílí se na tumorigenezi karcinomu prsu (127).

#### Molekulární struktura Ecad

Molekula Ecad se sestává z extracelulární domény, tvořené asi 550 aminokyselinami, transmembránové domény a vysoce konzervativní intracytoplazmatické domény, tvořené asi 150 aminokyselinami. Ecad je syntetizován jako prekursor o  $M_r \sim 135$  kDa a po následných posttranslačních modifikacích, které zahrnují glykosylaci, fosforylaci a proteolytické štěpení, vzniká konečný produkt o  $M_r \sim 120$  kDa (222).

Extracelulární doména je tvořena pěti homologními tandemově uspořádanými subdoménami označovanými EC1 - EC5, z nichž každá je tvořena asi 110 aminokyselinami (81). V těchto doménách se nachází konzervativní

sekvence aminokyselin, např. LDRE, DXD či DXDN, které jsou důležité pro vzájemnou laterální dimerizaci jednotlivých molekul Ecad a též pro vazbu kalcia. Sekvence HAV, nacházející se v subdoméně EC1, je důležitá pro zprostředkování adhezivní funkce cadherinů; čtyři cysteinová rezidua v subdoméně EC5 jsou důležitá pro tvorbu intramolekulárních disulfidických můstků (195).

Vazba kalcia je velmi důležitá pro správnou prostorovou konformaci extracelulární domény Ecad, především domén EC1 a EC2. Výsledkem tohoto strukturálního uspořádání je schopnost jednoho dimeru Ecad, jehož EC1 a EC2 domény jsou ve vzájemné konformaci cis vázat další dimer Ecad, nacházející se na sousední buňce, vazbou typu trans, což se označuje jako tzv. zipový model (263, 264).

Ačkoli je interakce zprostředkovaná cadheriny převážně homotypická a homofilní, bylo prokázáno, že Ecad je též schopen vazby s alfaEbeta7 integrinem nacházejícím se v buněčné membráně T - lymfocytů. Tato vazba je důležitá při vzájemné interakci epiteliálních buněk a intraepiteliálních lymfocytů, např. ve sliznici střeva (36). Ecad je také schopen vazby s internaliny, což jsou látky nacházející se na povrchích některých enteropatogenních bakterií, a tak jim touto cestou umožnit invazi do střevní sliznice (126).

Intracytoplazmatická doména Ecad je strukturálně vysoce konzervativní. Na C - terminální části molekuly se nachází vazebná místa pro cateniny, s nimiž cadheriny tvoří společný funkční cadherin - cateninový komplex. Tato vazebná místa obsahují sekvence serinu, které jsou bohatě fosforylovány působením enzymu kasein kináza II (225).

#### Cadherin - cateninový komplex

Mezi cateniny klasicky patří alfa -, beta - a gama – cateniny, jejichž označení je odvozeno podle jejich klesající Mr - 102 kDa, 88 kDa a 80 kDa (172). Gama - catenin je velice pravděpodobně totožný s plakoglobinem (181). Na rozdíl od velkého počtu zatím známých cadherinů, jsou v současné době známy

pouze dva typy alfa - cateninu, jeden typ beta - cateninu a jeden typ gama - cateninu. Nedávno byl objeven další catenin označovaný p120ctn (193).

V C - terminální části intracytoplazmatické domény Ecad se nacházejí vazebná místa pro beta - a gama - catenin; jedna molekula Ecad může ovšem vázat v daném okamžiku pouze jeden z těchto dvou typů cateninů. Oba tyto typy cateninů jsou asociovány s Ecad již během jeho syntézy v endoplazmatickém retikulu, na rozdíl od alfa - cateninu, který je k tomuto komplexu navázán až v okamžiku jeho inserce do buněčné membrány (109).

#### Biologické funkce cadherin - cateninového komplexu

Cadherin - cateninový komplex se účastní mnoha biologických procesů a na druhé straně je jeho činnost regulována celou řadou procesů. Na molekulární úrovni je změna funkce cadherin - cateninového komplexu nejčastěji způsobena fosforylací, resp. defosforylací jednotlivých složek tohoto komplexu (185).

#### Mechanismus spojený s tyrosinkinázami

V kultuře lidských buněk prsní žlázy vede zvýšená fosforylace tyrosinu v molekule beta - cateninu a p120ctn ke změně adheze buněk v důsledku poruchy spojení cadherin - cateninového komplexu s cytoskeletem buňky. Stejný účinek má také fosforylace tyrosinu v těchto molekulách způsobená v-src (80). Inhibice tyrosinových fosfatáz v buněčné kultuře MDCK psích ledvinných buněk vede ke zvýšení fosforylace tyrosinových zbytků a k rozvolnění buněčných kontaktů zonula adherens (251). Fosforylace beta - cateninu patrně snižuje schopnost alfa - cateninu vázat cadherin - cateninový komplex k cytoskeletu a vede k disociaci alfa - cateninu z tohoto komplexu (173). Ke stejným výsledkům, tedy ke snížení adhezivní schopnosti buněk, vede též stimulace buněk EGF (89). Aktivace tyrosinkinázových receptorů pro EGF, PDGF a CSF-1 vede přímo nebo nepřímo přes cytoplazmatické tyrosinkinázy, jako je např. FER či Tyk2, k fosforylaci p120ctn (59). S fosforylovaným beta - a gama - cateninem se váže též produkt protoonkogenu c-ErbB2, kromě toho signál přenášený c-ErbB-2 může vést k

vypnutí genu pro Ecad, jak bylo prokázáno v kulturách lidských buněk z prsní žlázy (185).

Naproti tomu navázání IGF-1 na receptor IGF-1R vede ke zvýšení adhezivní schopnosti buněk v důsledku zvýšení syntézy Ecad (25).

#### Regulace cytoskeletálními procesy

Organizace aktinových mikrofilament je regulována proteiny patřícími do tzv. ras - GTPázové nadrodiny. Jednou z důležitých podskupin této nadrodiny je Rho skupina zahrnující proteiny Rho a Rac, které kontrolují polymerizaci aktinu a další procesy spojené s celkovým uspořádáním cytoskeletu (239). Zablokování aktivity proteinů Rho nebo Rac vede k odstranění Ecad ze zonula adherens a navíc k připojení aktinu ke cadherin - cateninovému komplexu je nutná aktivita proteinů Rho a Rac (104). Transfekce ras - transformovaných psích buněk kultury MDCK látkou Tiam1, která aktivuje Rac protein, vede k obnově adheze buněk zprostředkované Ecad (88).

#### Regulace mechanismy spojenými s proteinkinázou A a C

V kulturách buněk lidského karcinomu střeva, které postrádají alfa - catenin, vede přidání aktivátoru protein kinázy C, např. látky TPA (12-O-tetradekanoyl-forbol-13-acetat) ke ztrátě invazivního fenotypu (245). Aktivace muskarinového receptoru M3, která je spojena s aktivací protein kinázy C, vede v buněčné kultuře lidského malobuněčného karcinomu plic ke zvýšení adheze buněk zprostředkované Ecad (259). Naproti tomu v kultuře tyreocytů vede působení látky TPA k disociaci mezibuněčných spojení zprostředkovaných Ecad v důsledku zvýšené vazby fosforylované formy p120ctn na Ecad (166). Aktivace protein kinázy A cestou cAMP dependentních signálních cest vede ke zvýšení transkripce genu pro cadheriny, jak bylo prokázáno v několika typech buněk, např. v placentě a v osteoblastech (5, 48).

## Regulace spojená s působením hormonů

Androgeny zvyšují množství Ecad, např. v buňkách karcinomu prostaty (32). Estrogeny snižují expresi Ecad v buňkách karcinomu endometria (71). Progesteron zvyšuje expresi Ecad v buňkách ovaria (114).

## Cadherin - cateninový komplex jako přenašeč signálu

V poslední době bylo zjištěno, že cadherin - cateninový komplex se uplatňuje nejenom jako komplex adhezivní, ale má významné funkce též jako přenašeč signálu do nitra buňky. Nejvýznamnější místo v tomto procesu zaujímá beta - catenin (185).

Nejvíce je zatím prozkoumána účast beta - cateninu v cestě přenosu signálu pomocí „wnt“ - kaskády. Glykoproteiny wnt, např. wnt-1, se váží na transmembránové receptory patřící do „frizzled“ rodiny (20). Tato vazba vede k fosforylaci „disheveled proteinu“ kasein kinázou II, což inhibuje aktivitu glykogen syntázy kinázy 3beta. Inhibice glykogen syntázy kinázy 3beta zvyšuje množství nenavázaného beta - cateninu v cytoplazmě, přičemž tento volný beta -catenin se váže s transkripčními faktory z rodiny TCF/LEF-1, např. hTCF4 a LEF-1, je transportován do jádra, kde způsobí transkripci cílových genů, mezi které patří např. homeobox geny, protoonkogen c-myc a též gen pro Ecad (16).

## Ecad a zvířecí model

Úplné vyřazení obou genů pro Ecad je letální v důsledku poruchy vývoje blastocysty a v důsledku poruch implantace oplodněného vejce. Vyřazení pouze jedné alely genu pro Ecad žádnou poruchu nezpůsobuje (194). Defekty v genu pro Ecad vedou dále např. k formaci abnormálních Langerhansových ostrůvků v pankreatu bez beta buněk, které jsou rozptýleny v pankreatické tkáni či k transformaci adenomů z buněk Langerhansových ostrůvků v karcinomy (178).

## Expresie Ecad v nádorech

Ztráta schopnosti adheze buněk je základním předpokladem pro invazivní fenotyp nádorových buněk. Transfekce buněk nejrůznějších typů nádorů vede k

dediferenciaci a ztrátě invazivního fenotypu, naopak porucha funkce cadherin - cateninového komplexu vede ke vzniku invazivního fenotypu a ke změně diferenciaci z epitelální na fibroblast-like (15).

Příčiny alterace exprese Ecad mohou být nejrůznější. Může se jednat např. o zárodečné mutace genu pro Ecad, např. u pacientů s familiárním difúzním adenokarcinomem žaludku (15), dále somatické mutace tohoto genu, např. v buňkách invazivního lobulárního karcinomu prsu (19) a karcinomu endometria (240). Nejčastější příčinou snížení exprese Ecad na úrovni genu je zřejmě hypermetylace CpG úseku v promotoru genu pro Ecad, která byla prokázána v nádorech prsu a prostaty (79). Na snížení celkového množství Ecad v buňce se dále podílí represe transkripce transkripčním represorem „snail“ (30) a proteinem SIP1 (44) nebo transaktivace jiných typů cadherinů, např. N - cadherinu (83). Dále se podílí působení proteoglykanu episialinu, označovaného též MUC-1, který mění konformaci extracelulární domény Ecad (227). Také enzymy metaloproteinázy jsou schopné proteolýzou extracelulární domény Ecad snížit schopnost adheze buňky (167).

Snížená exprese Ecad byla prokázána v celé řadě lidských nádorů, včetně jeho aberantní lokalizace, tj. v jádře či v cytoplazmě (240). Snížená exprese Ecad byla prokázána např. v 85% karcinomů jazyka (42), 79% kolorektálních karcinomů (100), 88% synoviálních sarkomů (207), 40% karcinomů děložního čípku (31), 73% případů endometriálního karcinomu (125) a 57% případů karcinomu prostaty (254). Úplná absence exprese Ecad byla zjištěna ve 100% případů invazivního lobulárního karcinomu prsu (128) a v 70% konvenčního světlobuněčného karcinomu ledviny (219).

#### Expres Ecad ve štítné žláze

Ecad se významně uplatňuje již v časně fázi folikulogeneze, kde je exprimován na bazolaterální části membrány tyreocytů (265) ještě před vytvořením foliklu. Přidání blokujících protilátek vede k poruše tvorby foliklu. Přítomnost Ecad je také nutná pro inkorporaci proteinu ZO-1 („tight junction-associated protein“) a Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPázy do buněčné membrány tyreocytů (265).



V buněčných kulturách tyreocytů indukuje TSH tvorbu mRNA pro Ecad. Ačkoli molekulární podstata ještě není známa, látky, které indukují proliferaci tyreocytů, např. EGF či forbolové estery, tvorbu jeho mRNA snižují (23). V buněčných kulturách FC Ecad exprimován není (93). Ecad je také exprimován ve fetální štítné žláze myši (66). Transformace kultury buněk PC C13 onkogeny vede k změně v distribuci cadherin - cateninového komplexu spíše než ke snížení jeho množství a dále dochází ke změnám v expresi beta1 podjednotky integrinu (35).

#### Normální štítná žláza

Ecad byl tyreocyty exprimován ve 100% případů v normální štítné žláze v okolí nádorového ložiska (24, 94, 112, 158, 196, 197, 213).

#### Hyperplastické léze

Expres Ecad byla zachována v difúzní a nodózní strumě (24, 94).

#### Folikulární adenom

Expres Ecad byla zachována v 90% (112), resp. 100% (24, 94) případů FA. Pouze v jedné studii byla normální expres Ecad zachována jen v 46% případů, zatímco v 45% případů byla snížena a v 9% případů nebyla expres Ecad zaznamenána vůbec (158).

#### Folikulární karcinom

Výsledky studií zkoumajících expresi Ecad ve FC se dosti liší. V jedné studii byla expres Ecad zachována ve 100% případů (94), zatímco jiní autoři zjistili zachování expres pouze v 50% případů (158). Ve studii, která rozlišovala minimálně a široce invazivní variantu FC byla expres Ecad zachována v 88% případů minimálně invazivních FC, a to i v místech kompletní transkapsulární invaze, zatímco ve všech případech široce invazivních FC došlo ke ztrátě expres Ecad, což může dle autorů vysvětlit agresivnější chování a s ním spojenou horší prognózu pacientů s touto variantou FC (112). Hypermetylace

genu pro Ecad byla zjištěna v 11% případů FC (78), příp. nebyla zjištěna vůbec (112).

#### Onkocytární nádory

V jedné studii byla zjištěna redukce mRNA pro Ecad v OA i OC (24). Hypermetylace genu pro Ecad byla prokázána ve 40% případů OC (78).

#### Papilární karcinom

Expres Ecad v PC zjišťovaná imunohistochemicky či pomocí stanovení mRNA je značně variabilní (24). V jedné studii byla exprese Ecad zachována v 21 % případů, snížena v 58% případů a ztráta exprese byla zaznamenána v 21% případů; v této studii bylo také prokázáno signifikantní snížení exprese Ecad u případů s lymfogenními metastázami (158). V další studii, kde byla exprese Ecad zachována v 80% případů PC, příp. korelace exprese Ecad s přítomností metastáz prokázána nebyla (110). Hypermetylace genu pro Ecad byla prokázána v 83% případů PC (78). Absence exprese Ecad byla zjištěna u 22% případů difúzní sklerózující varianty PC, kde byly současně zjištěny mutace v genu pro Ecad a metylace jeho genu (197).

#### Nízce diferencovaný karcinom

Ztráta exprese Ecad byla zjištěna ve 100% případů PDC, ojediněle byla zaznamenána aberantní cytoplazmatická exprese (196). Hypermetylace genu pro Ecad byla prokázána u 21% případů (78). V buněčných kulturách KAT - 4 získaných z PDC byla prokázána exprese aberantního dimeru Ecad o Mr 135 a 95 kDa vznikajícího pravděpodobně alterací posttranslačních úprav (97).

#### Anaplastický karcinom

Ztráta exprese Ecad byla prokázána ve 100% případů AC (24, 158, 213).

## Medulární karcinom

Expresce Ecad byla snížena v 50% případů, její úplná ztráta byla zaznamenána v 50% případů MC (158).

### Shrnutí

1. Expresce Ecad se snižuje v řadě: normální štítná žláza - FA - FC - PC - (PDC + AC) (158).
2. Expresce Ecad je snížena v maligních nádorech s metastázami, bez rozdílu histologického typu (24).
3. Expresce Ecad je variabilně snížena v diferencovaných nádorech, výrazně snížena až nepřítomna v dediferencovaných nádorech a dále je snížena v nádorech ve stadiu pT4 (94, 213).
4. Snížení exprese Ecad je nezávislý prognostický faktor (252).

### **3. Cíle disertační práce**

1. Studium exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad v primárních epiteliálních nádorech štítné žlázy z obecného biologicko-onkologického hlediska.
2. Studium využití případné rozdílné exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad v primárních epiteliálních nádorech štítné žlázy v diferenciální diagnostice těchto nádorů v rutinní bioptické praxi se zvláštním zaměřením na diferenciální diagnostiku nádorů s folikulárními rysy.

## 4. Materiál a metodika

### 4.1. Charakteristika souboru

Studie byla koncipována jako retrospektivní. Základní soubor tvořilo celkem 245 primárních epiteliálních benigních a maligních nádorů štítné žlázy, které byly v rámci rutinní biotické praxe vyšetřeny na Fingerlandově ústavu patologie LF UK a FN Hradec Králové v období 1992 - 2005. Konzultačně vyšetřené případy nebyly do studie zařazeny.

U všech případů byl proveden makroskopický popis a standardizovaný odběr tkáně na mikroskopické vyšetření. Dodaný operační materiál (ve všech případech se jednalo buď o lobektomii nebo o subtotální či totální tyreoidektomii) byl zvážen a byly zaznamenány jeho rozměry ve třech rovinách. Následně byl materiál pečlivě prokrájen paralelními řezy po cca 4 - 5 mm. U nádorového ložiska byl zaznamenán jeho největší rozměr, barva, konzistence a vzdálenost od pouzdra štítné žlázy či příp. prorůstání mimo štítnou žlázu. Každé makroskopicky ohraničené nádorové ložisko bylo vyšetřeno minimálně ve čtyřech řezech se zvláštním zaměřením na oblast nádorového pouzdra. Difúzně rostoucí nádor byl vyšetřen také minimálně ve čtyřech řezech se zvláštním zaměřením na okrajové partie nádoru se suspektním prorůstáním mimo štítnou žlázu.

U všech případů byly zpětně vyhledány minimálně tři bloky zachycující daný nádor. Pouze u malých nádorů (např. papilárních mikrokarcinomů) byl počet bloků menší. Vybrané vzorky sloužily ke confirmaci předchozí diagnózy, příp. k reklasifikaci dané léze podle platné WHO klasifikace nádorů štítné žlázy z roku 2004 (57).

Z každého nádoru byl následně vybrán jeden reprezentativní blok pro imunohistochemické vyšetření, a to takový, kde byla kromě vlastního nádorového

ložiska zastížena též část tkáně normální štítné žlázy, která zároveň sloužila jako vnitřní kontrola.

Zkoumané nádory štítné žlázy byly rozděleny do následujících skupin a podskupin (tab. 5).

**Tab. 5:** Rozdělení nádorů štítné žlázy do skupin a podskupin

<b>Skupina</b>	<b>Podskupiny</b>
Folikulární adenom (FA)	---
Folikulární karcinom (FC)	Minimálně invazivní (FC - MI) Široce invazivní (FC - SI)
Onkocytární adenom (OA)	---
Onkocytární karcinom (OC)	Minimálně invazivní (OC - MI) Široce invazivní (OC - SI)
Papilární karcinom (PC)	Klasická varianta (PC - K) Folikulární varianta (PC - F) Papilární mikrokarcinom (PC - M) Jiné varianty (PC - J)
Nízce diferencovaný karcinom (PDC)	---
Nediferencovaný karcinom (AC)	---
Medulární karcinom (MC)	---

U každého případu byly zaznamenány následující charakteristiky (tab. 6).

**Tab. 6:** Další zkoumané charakteristiky

<b>Charakteristika</b>	<b>Definice</b>
Délka sledování pacienta	časový interval mezi datem stanovení diagnózy (měs./roky) a zářím 2005
Pohlaví	žena x muž
Věk	věk v době stanovení diagnózy
Velikost nádoru	největší rozměr nádoru
Prorůstání nádoru mimo štítnou žlázu (pouze u maligních nádorů)	mikroskopicky verifikované prorůstání nádoru přes pouzdro štítné žlázy do měkkých tkání v jejím okolí
Angioinvaze (pouze u maligních non-medulárních nádorů)	mikroskopicky verifikovaná angioinvaze nádorových buněk do krevních a/nebo lymfatických cév
Přítomnost metastáz (pouze u maligních nádorů)	- histologicky verifikované - velmi suspektní při ultrasonografickém, CT či scintigrafickém vyšetření*

\*Pozn.: Vzhledem ke způsobu léčby pacientů se zhoubnými nádory štítné žlázy, kdy příp. objevivší se metastázy po odstranění primárního ložiska nádoru nejsou ve většině případů léčeny chirurgicky, nýbrž konzervativně (např. radiojódem), byla přítomnost metastáz definována též jako velmi suspektní nález při ultrasonografickém, CT či scintigrafickém vyšetření.

#### 4.2. Imunohistochemické vyšetření

Z každého nádoru byl jeden vzorek použit pro detekci gal3, CK 19, NCAM a Ecad pomocí nepřímé imunohistochemie za použití monoklonálních protilátek proti výše uvedeným antigenům. Přehled použitých protilátek je shrnut v tab. 7.

Tab. 7: Přehled použitých primárních protilátek

Název	Výrobce	Klon	Ředění
<b>Gal3</b>	Novocastra	9C4	1:100
<b>CK 19</b>	DakoCytomation	RCK 108	1:100
<b>NCAM</b>	Novocastra	1B6	1:100
<b>Ecad</b>	DakoCytomation	M3612	1:100

K vizualizaci všech antigenů byl použit systému EnVision+ Dual Link System Peroxidase (DakoCytomation); jako chromogen byl ve všech případech použit diaminobenzidin (DAB). Podrobný popis metodiky je uveden v *tab. 8*.

Tab. 8: Popis imunohistochemického vyšetření.

1. deparafinace řezů - xylen 3 x 10 min, 96% alkohol 2 x 5 min, 70% alkohol 5 min
2. oplach v destilované vodě
3. demaskování antigenů - gal3, NCAM - v 0,1M citrátovém pufru pH = 6 (mikrovlnná trouba Panasonic, 2 x 5 min (750 W)) - CK 19 - natrávení 0,0033% ficinem 30 min při 20°C - Ecad - v 0,1M citrátovém pufru pH=6 (Microwave Vacuum Histoprocessor RHS 1 (Milestone), 5 min při 120°C, 800 W)
4. vychladnutí v citrátovém pufru na pokojovou teplotu (20°C) 20 min
5. oplach v destilované vodě
6.* tlumení endogenní peroxidázy 10 min (20°C) 3% roztokem peroxidu vodíku
7. oplach v destilované vodě
8. oplach PBS puftrem pH = 7,2 se smáčedlem
9. aplikace primární protilátky ( <i>tab. 7</i> ) 30 min při pokojové teplotě (20°C)
10. oplach PBS puftrem pH = 7,2
11. aplikace vizualizačního systému EnVision+ s PBS puftrem pH = 7,2 v poměru 1:1 30 min při pokojové teplotě (20°C)
12. oplach PBS puftrem pH = 7,2
13. aplikace substrátu a chromogenu (1 ml DAB+ Substrate Buffer + 1 kapka DAB+ chromogenu) 5 min při pokojové teplotě (20°C)
14. oplach v destilované vodě
15. dobarvení hematoxylinem 1 min
16. odvodnění, montování

\*Pozn.: Pracovní úkony 6. - 15. byly provedeny v imunohistochemickém automatu Dako Autostainer.



### 4.3 Metodika hodnocení exprese jednotlivých markerů

Jako pozitivní byly hodnoceny nádorové buňky s cytoplazmatickou (gal3, CK 19, Ecad) či membránovou (NCAM, Ecad) pozitivitou.

U každého studovaného markeru byla subjektivně hodnocena intenzita jeho exprese nádorovými buňkami (slabá (číselný kód (č.k.) 1) – střední (č.k. 2) – silná (č.k. 3)) a semikvantitativně procentuální počet nádorových buněk exprimujících daný marker (tab. 9).

Pro každý studovaný marker bylo následně vypočteno histoskóre podle vzorce:

Histoskóre (marker) = (č.k. intenzity exprese markeru) x (č.k. semikvantitativní exprese markeru). Histoskóre mohlo tedy nabývat hodnot 0 – 15.

Tab. 9: Hodnocení exprese markerů nádorovými buňkami

Počet nádorových buněk exprimujících daný marker (%)	Semikvantitativní hodnocení (číselný kód)
0	0 (0)
1 – 10	+ (1)
11 – 25	++ (2)
26 – 50	+++ (3)
51 – 75	++++ (4)
76 – 100	+++++ (5)

### 4.4. Statistické zpracování dat

Ke statistickému zhodnocení byl použit program NCSS 2004. Pro základní statistický popis souboru byla použita deskriptivní statistika, „chí - kvadrát“ test a Fisherův přesný test. Pro porovnávání vztahu jednotlivých skupin byla použita Kruskal - Wallisova analýza rozptylu s následným mnohonásobným porovnáním. Metoda logistické regrese byla použita při hledání parametrů, které jsou

nejvhodnější pro zařazení daného nádoru do příslušné skupiny (např. do skupiny maligních nádorů).

## 5. Výsledky

### 5.1. Deskriptivní charakteristiky souboru

Celkem bylo do studie zařazeno 245 případů primárních epitelálních nádorů štítné žlázy. Absolutní a procentuální zastoupení jednotlivých skupin a podskupin studovaných nádorů je přehledně uvedeno v *tab. 10*.

*Tab. 10:* Absolutní a procentuální zastoupení jednotlivých skupin a podskupin studovaných nádorů

Skupina	Absolutní počet	Percentuální počet (%)	Podskupiny	Absolutní počet	Percentuální počet (%)
FA	87	35,5	---	---	---
FC	26	10,6	FC - MI	24	92,3
			FC - SI	2	7,7
OA	19	7,8	---	---	---
OC	5	2,0	OC - MI	3	60,0
			OC - SI	2	40,0
PC	91	37,1	PC - K	36	39,6
			PC - F	26	28,6
			PC - M	22	24,2
			PC - J	7	7,7
PDC	3	1,2	---	---	---
AC	2	0,8	---	---	---
MC	12	4,9	---	---	---
<b>Celkem</b>	<b>245</b>	<b>100,0</b>	---	---	---

Podrobnější charakteristika skupiny PC - J je uvedena v *tab. 11*.

Tab. 11: Charakteristika skupiny PC - J

<b>Varianta PC</b>	<b>Absolutní počet</b>	<b>Percentuální počet (%)</b>
„Warthin – like“ PC	4	57,1
„Tall cell“ varianta PC	2	28,6
Onkocytární varianta PC	1	14,3
<b>Celkem</b>	<b>7</b>	<b>100,0</b>

U 239 pacientů byla k dispozici data o dalším průběhu onemocnění (délka sledování 8 – 105 měsíců, medián 60 měsíců). Ze 139 pacientů s maligním nádorem štítné žlázy 119 pacientů žije bez známek lokální recidivy či generalizace onemocnění, 18 pacientů přežívá s metastatickým rozsevem nádoru (podrobněji viz níže) a 2 pacienti zemřeli v důsledku generalizace maligního nádoru štítné žlázy (2 pacientky s AC, které zemřely do 6 měsíců po stanovení diagnózy). Dalších 35 pacientů z našeho souboru zemřelo z jiných, a to nenádorových příčin.

Z celkového počtu 245 vyšetřených případů tvořily ženy 194 (79,2%) případů, muži 51 (20,8%) případů. Podrobnější popis pro jednotlivé skupiny nádorů je uveden v *tab. 12*.

*Tab. 12:* Charakteristika jednotlivých skupin nádorů podle pohlaví

<b>Skupina</b>	<b>Ženy (%)</b>	<b>Muži (%)</b>	<b>Podskupiny</b>	<b>Ženy (%)</b>	<b>Muži (%)</b>
<b>FA</b>	68 (78,2)	19 (21,8)	---	---	---
<b>FC</b>	22 (84,6)	4 (15,4)	<b>FC - MI</b>	20 (83,3)	4 (16,7)
			<b>FC - SI</b>	2 (100,0)	0 (0)
<b>OA</b>	16 (84,2)	3 (15,8)	---	---	---
<b>OC</b>	4 (80,0)	1 (20,0)	<b>OC - MI</b>	3 (100,0)	0 (0)
			<b>OC - SI</b>	1 (50,0)	1 (50,0)
<b>PC</b>	74 (81,3)	17 (18,7)	<b>PC - K</b>	27 (75,0)	9 (25,0)
			<b>PC - F</b>	23 (88,5)	3 (11,5)
			<b>PC - M</b>	19 (86,4)	3 (13,6)
			<b>PC - J</b>	5 (71,4)	2 (28,6)
<b>PDC</b>	2 (66,7)	1 (33,3)	---	---	---
<b>AC</b>	2 (100,0)	0 (0)	---	---	---
<b>MC</b>	6 (50,0)	6 (50,0)	---	---	---
<b>Celkem</b>	<b>194 (79,2)</b>	<b>51 (20,8)</b>	---	---	---

Věk pacientů v souboru byl v rozmezí 14 – 81 let (průměr  $53,0 \pm 15,1$  let; medián 54,0 let). Podrobnější popis pro jednotlivé skupiny nádorů je uveden v *tab. 13*.

*Tab. 13:* Charakteristika jednotlivých skupin nádorů podle let věku

Skupina	M ± SD	MD (Min-Max)	Podskupiny	M ± SD	MD (Min-Max)
<b>FA</b>	50,4±14,2	51,0 (14 – 80)	---	---	---
<b>FC</b>	54,7±14,5	52,5 (32 – 81)	<b>FC - MI</b>	54,7±14,3	52,5 (32 - 81)
			<b>FC - SI</b>	55,0±22,6	55,0 (39 - 71)
<b>OA</b>	56,0±12,9	54,0 (32 – 77)	---	---	---
<b>OC</b>	60,6 ±5,2	62,0 (53 – 66)	<b>OC - MI</b>	64,0±2,0	64,0 (62 - 66)
			<b>OC - SI</b>	55,5±3,5	55,5 (53 - 58)
<b>PC</b>	52,5±16,8	55,0 (15 – 80)	<b>PC - K</b>	51,7±19,3	52,5 (15 - 79)
			<b>PC - F</b>	49,0±16,2	54,0 (15 - 80)
			<b>PC - M</b>	55,1±11,9	56,5 (29 - 73)
			<b>PC - J</b>	61,9±17,1	64,0 (30 - 80)
<b>PDC</b>	60,7±4,6	58,0 (58 - 66)	---	---	---
<b>AC</b>	75,5±0,7	75,5 (75 - 76)	---	---	---
<b>MC</b>	57,3±13,1	57,5 (34 - 76)	---	---	---
<b>Celkem</b>	<b>53,0±15,1</b>	<b>54,0 (14 - 81)</b>	---	---	---

Pozn.: Aritmetický průměr (M), směrodatná odchylka (SD), medián (MD), minimum (Min), maximum (Max).

Průměrná velikost nádorů studovaných v souboru byla v rozmezí 1 - 130 mm (průměr 25,8±19,6 mm; medián 20,0 mm). Podrobnější popis pro jednotlivé skupiny nádorů je uveden v tab. 14.

**Tab. 14:** Charakteristika jednotlivých skupin nádorů podle velikosti (mm)

Skupina	M ± SD	MD (Min-Max)	Podskupiny	M ± SD	MD (Min-Max)
<b>FA</b>	28,1±16,7	23,0 (4 - 75)	---	---	---
<b>FC</b>	29,0±15,6	27,5 (10 - 70)	<b>FC - MI</b> <b>FC - SI</b>	30,1±15,7 16,0 ±5,7	30,0 (10 - 70) 16,0 (12 - 20)
<b>OA</b>	30,5±33,8	20,0 (7 - 130)	---	---	---
<b>OC</b>	34,6±25,0	25,0 (8 - 70)	<b>OC - MI</b> <b>OC - SI</b>	26,0±21,6 47,5±31,8	20,0 (8 - 50) 47,5 (25 - 70)
<b>PC</b>	20,6±17,8	15,0 (1 - 105)	<b>PC - K</b> <b>PC - F</b> <b>PC - M</b> <b>PC - J</b>	27,7±16,3 22,0±20,0 6,0±2,5 25,3±17,0	22,5 (15 - 70) 15,0 (12 - 105) 5,0 (1 - 10) 18,0 (13 - 50)
<b>PDC</b>	17,7±6,4	15,0 (13 - 25)	---	---	---
<b>AC</b>	52,5±38,9	52,5 (25 - 80)	---	---	---
<b>MC</b>	28,4±21,0	23,5 (5 - 60)	---	---	---
<b>Celkem</b>	<b>25,8±19,6</b>	<b>20,0 (1-130)</b>	---	---	---

Pozn.: Aritmetický průměr (M), směrodatná odchylka (SD), medián (MD), minimum (Min), maximum (Max).

Nádor prorůstal mimo štítnou žlázu ve 27 případech z celkového počtu 139 maligních nádorů, což představuje 19,4% případů. Podrobnější popis růstu mimo štítnou žlázu u jednotlivých skupin maligních nádorů je uveden v *tab. 15*.

**Tab. 15:** Růst mimo štítnou žlázu u jednotlivých skupin maligních nádorů

<b>Skupina</b>	<b>Počet případů s růstem mimo ŠŽ (%)</b>	<b>Podskupiny</b>	<b>Počet případů s růstem mimo ŠŽ (%)</b>
<b>FC</b>	0/26 (0)	<b>FC - MI</b>	0/24 (0)
		<b>FC - SI</b>	0/2 (0)
<b>OC</b>	1/5 (20,0)	<b>OC - MI</b>	0/3 (0)
		<b>OC - SI</b>	1/2 (50,0)
<b>PC</b>	22/91 (24,2)	<b>PC - K</b>	13/36 (36,1)
		<b>PC - F</b>	2/26 (7,7)
		<b>PC - M</b>	2/22 (9,1)
		<b>PC - J</b>	5/7 (71,4)
<b>PDC</b>	1/3 (33,3)	---	---
<b>AC</b>	2/2 (100)	---	---
<b>MC</b>	1/12 (8,3)	---	---
<b>Celkem</b>	<b>27/139 (19,4)</b>	----	----



Angioinvaze nádorových buněk byla přítomna ve 25 případech z celkového počtu 127 maligních non-medulárních nádorů, což představuje 19,7% případů. Podrobnější popis přítomnosti angioinvaze u jednotlivých skupin maligních non-medulárních nádorů je uveden v *tab. 16*.

*Tab. 16.: Angioinvaze u jednotlivých skupin maligních non-medulárních nádorů*

<b>Skupina</b>	<b>Počet případů s angioinvazí (%)</b>	<b>Podskupiny</b>	<b>Počet případů s angioinvazí (%)</b>
<b>FC</b>	7/26 (26,9)	<b>FC - MI</b>	6/24 (25,0)
		<b>FC - SI</b>	1/2 (50,0)
<b>OC</b>	3/5 (60,0)	<b>OC - MI</b>	1/3 (33,3)
		<b>OC - SI</b>	2/2 (100,0)
<b>PC</b>	11/91 (12,1)	<b>PC - K</b>	7/36 (19,4)
		<b>PC - F</b>	3/26 (11,5)
		<b>PC - M</b>	1/22 (4,5)
		<b>PC - J</b>	0/7 (0)
<b>PDC</b>	2/3 (66,7)	---	---
<b>AC</b>	2/2 (100)	---	---
<b>Celkem</b>	<b>25/127 (19,7)</b>	---	---

Nádor metastazoval v 18 případech z celkového počtu 139 maligních nádorů, což představuje 12,9% případů. Podrobnější popis výskytu metastáz u jednotlivých skupin maligních nádorů je uveden v *tab. 17*.

*Tab. 17:* Výskyt metastáz u jednotlivých skupin maligních nádorů

Skupina	Počet případů s metastázami (%)	Podskupiny	Počet případů s metastázami (%)
FC	0/26 (0)	FC - MI	0/24 (0)
		FC - SI	0/2 (0)
OC	1/5 (20,0)	OC - MI	0/3 (0)
		OC - SI	1/2 (50,0)
PC	12/91 (13,2)	PC - K	7/36 (19,4)
		PC - F	1/26 (3,8)
		PC - M	2/22 (9,1)
		PC - J*	2/7 (28,6)
PDC	1/3 (33,3)	---	---
AC	2/2 (100)	---	---
MC	2/12 (16,7)	---	---
<b>Celkem</b>	<b>18/139 (12,9)</b>	---	---

\*Pozn.: Dva případy ve skupině PC - J představoval 1 Warthin – like PC a 1 „tall cell“ PC.

## 5.2. *Expresse gal3, CK 19, NCAM a Ecad v normální štítné žláze*

V normálním parenchymu štítné žlázy byla exprese gal3 prokázána v cytoplazmě fibroblastů, endotelií a hladkosvalových buněk cév, dále ve větvích nervů a v intrafolikulárních makrofázích. V posledním případě je jednalo o nukleární pozitivitu gal3. Silná exprese gal3 byla dále prokázána v buňkách tzv. solidních buněčných hnízd (SBH), a to ve všech případech, kdy byla SBH pozorována. Zcela ojediněle byla zaznamenána exprese gal3 folikulárními buňkami a jeho přítomnost v koloidu těchto foliklů. Tento fenomén byl pozorován pouze v nejbližším okolí nádorového ložiska, jehož buňky silně exprimovaly gal3.

Expresse CK 19 nebyla v normálním parenchymu štítné žlázy prokázána. CK 19 byl exprimován v nenádorových dlaždicově metaplastických buňkách přítomných v 1 případě PC - K.

Expresse NCAM v normálním parenchymu štítné žlázy byla variabilní. Ve většině případů byla zaznamenána silná exprese NCAM folikulárními buňkami. Pozitivita byla membránová, a to v bazolaterální části membrány folikulárních buněk. Pravidelně byla exprese NCAM folikulárními buňkami zastižena v okolí ložisek zánětlivého infiltrátu. Pouze ojediněle byla zastižena pozitivita NCAM v lymfoidních zánětlivých elementech. Expresse NCAM byla dále zastižena ve větvích nervů ve stromatu štítné žlázy.

Ecad byl silně exprimován folikulárními buňkami normální štítné žlázy. Jednalo se membránovou pozitivitu v bazolaterální části buněčné membrány folikulárních buněk.

### 5.3. Exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad v nádorech

Gal3 byl exprimován ve 37/106 benigních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $2,2 \pm 3,9$ ; medián 0) a ve 114/139 maligních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $10,0 \pm 6,2$ ; medián 15).

CK 19 byl exprimován ve 14/106 benigních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $0,5 \pm 1,9$ ; medián 0) a v 83/139 maligních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $6,6 \pm 6,8$ , medián 3).

NCAM byl exprimován v 77/106 benigních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $7,3 \pm 6,1$ ; medián 8) a v 59/139 maligních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $3,7 \pm 5,4$ ; medián 0).

Ecad byl exprimován v 97/106 benigních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $10,7 \pm 5,3$ ; medián 13,5) a ve 100/139 maligních nádorech (histoskóre v rozmezí 0 – 15; průměr  $5,7 \pm 5,6$ ; medián 3).

Expres, intenzita exprese a histoskóre studovaných markerů u jednotlivých nádorů je podrobněji uvedena v *tab. 18 – 29*. Histoskóre studovaných markerů u jednotlivých nádorů je dále pro větší přehlednost uvedeno v *grafech 1- 4*.

**Tab. 18:** Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících gal3

Nádor	0	1-10%	11-25%	26-50%	51-75%	76-100%	Celkem
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N
<b>FA</b>	58 (66,7)	13 (14,9)	4 (4,6)	4 (4,6)	3 (3,4)	5 (5,7)	87
<b>FC</b>	13 (50,0)	3 (11,5)	1 (3,8)	4 (15,4)	2 (7,7)	3 (11,5)	26
<b>FC - MI</b>	11 (45,8)	3 (12,5)	1 (4,2)	4 (16,7)	2 (8,3)	3 (12,5)	24
<b>FC - SI</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>OA</b>	11 (57,9)	2 (10,5)	2 (10,5)	1 (5,3)	0 (0)	3 (15,8)	19
<b>OC</b>	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0)	1 (20,0)	0 (0)	2 (40,0)	5
<b>OC - MI</b>	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	1 (33,3)	3
<b>OC - SI</b>	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>PC</b>	5 (5,5)	3 (3,3)	3 (3,3)	5 (5,5)	4 (4,4)	71 (78,0)	91
<b>PC - K</b>	0 (0)	1 (2,8)	0 (0)	1 (2,8)	2 (5,6)	32 (88,9)	36
<b>PC - F</b>	2 (7,7)	0 (0)	3 (11,5)	1 (3,8)	2 (7,7)	18 (69,2)	26
<b>PC - M</b>	3 (13,6)	2 (9,1)	0 (0)	3 (13,6)	0 (0)	14 (63,6)	22
<b>PC - J</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100,0)	7
<b>PDC</b>	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3
<b>AC</b>	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>MC</b>	4 (33,3)	2 (16,7)	2 (16,7)	1 (8,3)	0 (0)	3 (25,0)	12

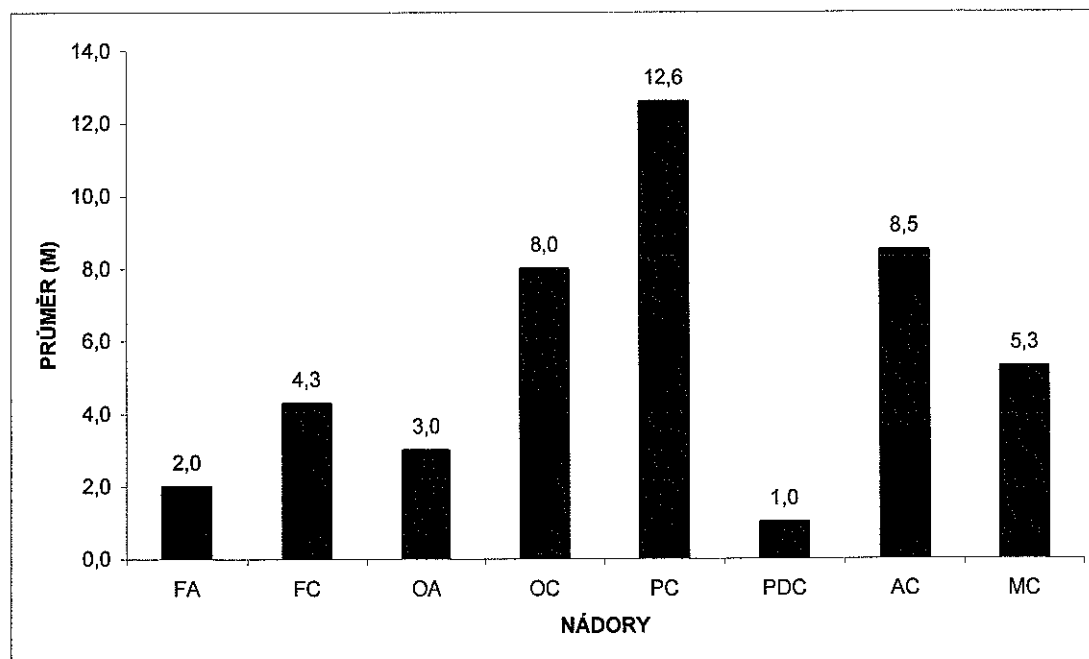
**Tab. 19:** Intenzita exprese gal3 v nádorech

<b>Nádor</b>	<b>0</b>	<b>slabá</b>	<b>střední</b>	<b>silná</b>	<b>Celkem</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N</b>
<b>FA</b>	58 (66,7)	1 (1,1)	9 (10,3)	19 (21,8)	87
<b>FC</b>	13 (50,0)	0 (0)	2 (7,7)	11 (42,3)	26
<b>FC - MI</b>	11 (45,8)	0 (0)	2 (8,3)	11 (45,8)	24
<b>FC - SI</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>OA</b>	11 (57,9)	1 (5,3)	3 (15,8)	4 (21,1)	19
<b>OC</b>	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0)	3 (60,0)	5
<b>OC - MI</b>	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	2 (66,7)	3
<b>OC - SI</b>	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>PC</b>	5 (5,5)	0 (0)	9 (9,9)	77 (84,6)	91
<b>PC - K</b>	0 (0)	0 (0)	5 (13,9)	31 (86,1)	36
<b>PC - F</b>	2 (7,7)	0 (0)	3 (11,5)	21 (80,8)	26
<b>PC - M</b>	3 (13,6)	0 (0)	1 (4,5)	18 (81,8)	22
<b>PC - J</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (100,0)	7
<b>PDC</b>	2 (66,7)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	3
<b>AC</b>	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	1 (50,0)	2
<b>MC</b>	4 (33,3)	0 (0)	5 (41,7)	3 (25,0)	12

Tab. 20: Histoskóre gal3 v nádorech

Skupina	M ± SD	MD (Min-Max)	Podskupiny	M ± SD	MD (Min-Max)
FA	2,0 ± 3,7	0 (0 - 15)	---	---	---
FC	4,3 ± 5,3	1,5 (0 - 15)	FC - MI	4,7 ± 5,3	3,0 (0 - 15)
			FC - SI	0 ± 0	0
OA	3,0 ± 4,6	0 (0 - 15)	---	---	---
OC	8,0 ± 7,3	9,0 (0 - 15)	OC - MI	8,0 ± 7,5	9,0 (0 - 15)
			OC - SI	8,0 ± 9,9	8,0 (1 - 15)
PC	12,6 ± 4,5	15,0 (0 - 15)	PC - K	13,6 ± 2,9	15,0 (3 - 15)
			PC - F	12,1 ± 5,0	15,0 (0 - 15)
			PC - M	10,9 ± 6,0	15,0 (0 - 15)
			PC - J	15,0 ± 0	15,0
PDC	1,0 ± 1,7	0 (0 - 3)	---	---	---
AC	8,5 ± 9,2	8,5 (2 - 15)	---	---	---
MC	5,3 ± 6,2	3,0 (0 - 15)	---	---	---

Graf 1: Histoskóre gal3 v nádorech



**Tab. 21:** Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících CK 19

<b>Nádor</b>	<b>0</b>	<b>1-10%</b>	<b>11-25%</b>	<b>26-50%</b>	<b>51-75%</b>	<b>76-100%</b>	<b>Celkem</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N</b>
<b>FA</b>	76 (87,4)	6 (6,9)	2 (2,3)	1 (1,1)	1 (1,1)	1 (1,1)	87
<b>FC</b>	22 (84,6)	3 (11,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3,8)	26
<b>FC - MI</b>	20 (83,3)	3 (12,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4,2)	24
<b>FC - SI</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>OA</b>	16 (84,2)	3 (15,8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	19
<b>OC</b>	2 (40,0)	2 (40,0)	0 (0)	1 (20,0)	0 (0)	0 (0)	5
<b>OC - MI</b>	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3
<b>OC - SI</b>	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>PC</b>	20 (22,0)	7 (7,7)	2 (2,2)	6 (6,6)	9 (9,9)	47 (51,6)	91
<b>PC - K</b>	2 (5,6)	1 (2,8)	1 (2,8)	1 (2,8)	5 (13,9)	26 (72,2)	36
<b>PC - F</b>	9 (34,6)	4 (15,4)	1 (3,8)	4 (15,4)	1 (3,8)	7 (26,9)	26
<b>PC - M</b>	9 (40,9)	2 (9,1)	0 (0)	1 (4,5)	1 (4,5)	9 (40,9)	22
<b>PC - J</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (28,6)	5 (71,4)	7
<b>PDC</b>	3 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3
<b>AC</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>MC</b>	7 (58,3)	3 (25,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (16,7)	12



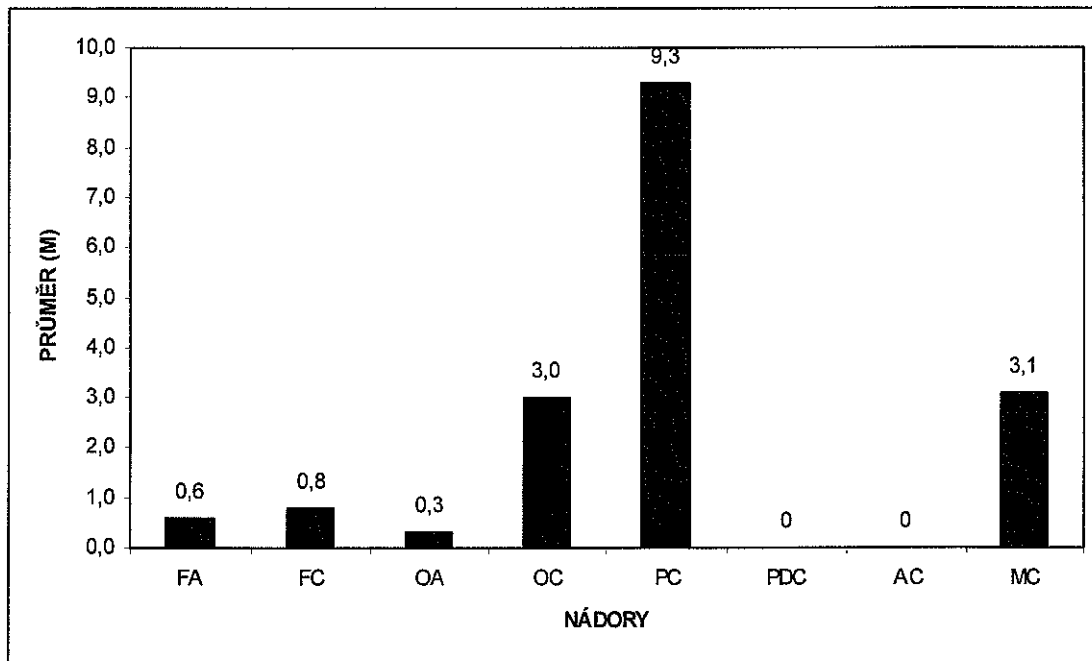
Tab. 22: Intenzita exprese CK 19 v nádorech

Nádor	0	slabá	střední	silná	Celkem
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N
<b>FA</b>	76 (87,4)	4 (4,6)	1 (1,1)	6 (6,9)	87
<b>FC</b>	22 (84,6)	1 (3,8)	0 (0)	3 (11,5)	26
<b>FC - MI</b>	20 (83,3)	1 (4,2)	0 (0)	3 (12,5)	24
<b>FC - SI</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>OA</b>	16 (84,2)	1 (5,3)	1 (5,3)	1 (5,3)	19
<b>OC</b>	2 (40,0)	0 (0)	0 (0)	3 (60,0)	5
<b>OC - MI</b>	2 (66,7)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	3
<b>OC - SI</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100,0)	2
<b>PC</b>	20 (22,0)	6 (6,6)	8 (8,8)	57 (62,6)	91
<b>PC - K</b>	2 (5,6)	0 (0)	3 (8,3)	31 (86,1)	36
<b>PC - F</b>	9 (34,6)	5 (19,2)	3 (11,5)	9 (34,6)	26
<b>PC - M</b>	9 (40,9)	1 (4,5)	1 (4,5)	11 (50,0)	22
<b>PC - J</b>	0 (0)	0 (0)	1 (14,3)	6 (85,7)	7
<b>PDC</b>	3 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3
<b>AC</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>MC</b>	7 (58,3)	1 (8,3)	0 (0)	4 (33,3)	12

Tab. 23: Histoskóre CK 19 v nádorech

Skupina	M ± SD	MD (Min-Max)	Podskupiny	M ± SD	MD (Min-Max)
FA	0,6 ± 2,1	0 (0 - 15)	---	---	---
FC	0,8 ± 3,0	0 (0 - 15)	FC - MI	0,9 ± 3,1	0 (0 - 15)
			FC - SI	0 ± 0	0
OA	0,3 ± 0,8	0 (0 - 3)	---	---	---
OC	3,0 ± 3,7	3,0 (0 - 9)	OC - MI	1,0 ± 1,7	0 (0 - 3)
			OC - SI	6,0 ± 4,2	6,0 (3 - 9)
PC	9,3 ± 6,4	12,0 (0 - 15)	PC - K	12,6 ± 4,3	15,0 (0 - 15)
			PC - F	5,3 ± 6,1	3,0 (0 - 15)
			PC - M	7,0 ± 7,0	6,0 (0 - 15)
			PC - J	13,6 ± 2,7	15,0 (8 - 15)
PDC	0 ± 0	0	---	---	---
AC	0 ± 0	0	---	---	---
MC	3,1 ± 5,7	0 (0 - 15)	---	---	---

Graf 2: Histoskóre CK 19 v nádorech



**Tab. 24:** Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících NCAM

<b>Nádor</b>	<b>0</b>	<b>1-10%</b>	<b>11-25%</b>	<b>26-50%</b>	<b>51-75%</b>	<b>76-100%</b>	<b>Celkem</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N</b>
<b>FA</b>	27 (31,0)	11 (12,6)	6 (6,9)	10 (11,5)	14 (16,1)	19 (21,8)	<b>87</b>
<b>FC</b>	6 (23,1)	7 (26,9)	1 (3,8)	4 (15,4)	5 (19,2)	3 (11,5)	<b>26</b>
<b>FC - MI</b>	6 (25,0)	6 (25,0)	1 (4,2)	4 (16,7)	4 (16,7)	3 (12,5)	<b>24</b>
<b>FC - SI</b>	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	<b>2</b>
<b>OA</b>	2 (10,5)	1 (5,3)	3 (15,8)	2 (10,5)	1 (5,3)	10 (52,6)	<b>19</b>
<b>OC</b>	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0)	0 (0)	2 (40,0)	<b>5</b>
<b>OC - MI</b>	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (66,7)	<b>3</b>
<b>OC - SI</b>	1 (50,0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>2</b>
<b>PC</b>	69 (75,8)	5 (5,5)	1 (1,1)	6 (6,6)	4 (4,4)	6 (6,6)	<b>91</b>
<b>PC - K</b>	31 (86,1)	0 (0)	0 (0)	3 (8,3)	0 (0)	2 (5,6)	<b>36</b>
<b>PC - F</b>	19 (73,1)	3 (11,5)	0 (0)	1 (3,8)	2 (7,7)	1 (3,8)	<b>26</b>
<b>PC - M</b>	13 (59,1)	1 (4,5)	1 (4,5)	2 (9,1)	2 (9,1)	3 (13,6)	<b>22</b>
<b>PC - J</b>	6 (85,7)	1 (14,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>7</b>
<b>PDC</b>	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	<b>3</b>
<b>AC</b>	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	<b>2</b>
<b>MC</b>	2 (16,7)	2 (16,7)	1 (8,3)	1 (8,3)	0 (0)	6 (50,0)	<b>12</b>

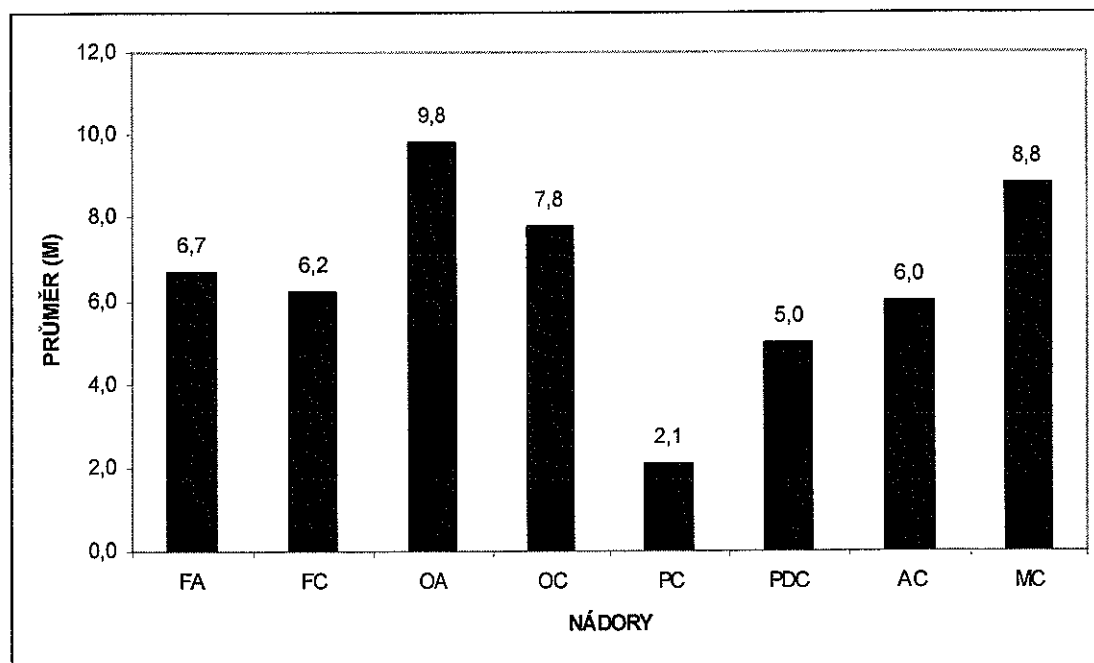
Tab. 25: Intenzita exprese NCAM v nádorech

<b>Nádor</b>	<b>0</b>	<b>slabá</b>	<b>střední</b>	<b>silná</b>	<b>Celkem</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N</b>
<b>FA</b>	27 (31,0)	2 (2,3)	8 (9,2)	50 (57,5)	87
<b>FC</b>	6 (23,1)	0 (0)	4 (15,4)	16 (61,5)	26
<b>FC - MI</b>	6 (25,0)	0 (0)	3 (12,5)	15 (62,5)	24
<b>FC - SI</b>	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	1 (50,0)	2
<b>OA</b>	2 (10,5)	2 (10,5)	2 (10,5)	13 (68,4)	19
<b>OC</b>	1 (20,0)	0 (0)	0 (0)	4 (80,0)	5
<b>OC - MI</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (100,0)	3
<b>OC - SI</b>	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>PC</b>	69 (75,8)	1 (1,1)	6 (6,6)	15 (16,5)	91
<b>PC - K</b>	31 (86,1)	0 (0)	1 (2,8)	4 (11,1)	36
<b>PC - F</b>	19 (73,1)	0 (0)	3 (11,5)	4 (15,4)	26
<b>PC - M</b>	13 (59,1)	0 (0)	2 (9,1)	7 (31,8)	22
<b>PC - J</b>	6 (85,7)	1 (14,3)	0 (0)	0 (0)	7
<b>PDC</b>	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	2 (66,7)	3
<b>AC</b>	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>MC</b>	2 (16,7)	1 (8,3)	1 (8,3)	8 (66,7)	12

Tab. 26: Histoskóre NCAM v nádorech

Skupina	M ± SD	MD (Min-Max)	Podskupiny	M ± SD	MD (Min-Max)
FA	6,7 ± 5,9	6,0 (0 - 15)	---	---	---
FC	6,2 ± 5,4	4,5 (0 - 15)	FC - MI	6,1 ± 5,4	4,5 (0 - 15)
			FC - SI	7,0 ± 7,1	7,0 (2 - 12)
OA	9,8 ± 6,1	15,0 (0 - 15)	---	---	---
OC	7,8 ± 6,9	6,0 (0 - 15)	OC - MI	11,0 ± 6,9	15,0 (3 - 15)
			OC - SI	3,0 ± 4,2	3,0 (0 - 6)
PC	2,1 ± 4,3	0 (0 - 15)	PC - K	1,4 ± 3,8	0 (0 - 15)
			PC - F	1,8 ± 3,7	0 (0 - 15)
			PC - M	4,0 ± 5,7	6,0 (0 - 15)
			PC - J	0,1 ± 0,4	0 (0 - 1)
PDC	5,0 ± 6,2	3,0 (0 - 12)	---	---	---
AC	6,0 ± 8,5	6,0 (0 - 12)	---	---	---
MC	8,8 ± 6,7	10,5 (0 - 15)	---	---	---

Graf 3: Histoskóre NCAM v nádorech



**Tab. 27:** Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících Ecad

<b>Nádor</b>	<b>0</b>	<b>1-10%</b>	<b>11-25%</b>	<b>26-50%</b>	<b>51-75%</b>	<b>76-100%</b>	<b>Celkem</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N</b>
<b>FA</b>	6 (6,9)	5 (5,7)	4 (4,6)	2 (2,3)	16 (18,4)	54 (62,1)	87
<b>FC</b>	4 (15,4)	2 (7,7)	3 (11,5)	4 (15,4)	6 (23,1)	7 (26,9)	26
<b>FC - MI</b>	3 (12,5)	2 (8,3)	3 (12,5)	4 (16,7)	6 (25,0)	6 (25,0)	24
<b>FC - SI</b>	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>OA</b>	3 (15,8)	1 (5,3)	2 (10,5)	3 (15,8)	1 (5,3)	9 (47,4)	19
<b>OC</b>	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0)	5
<b>OC - MI</b>	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	3
<b>OC - SI</b>	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	2
<b>PC</b>	29 (31,9)	16 (17,6)	8 (8,8)	6 (6,6)	7 (7,7)	25 (27,5)	91
<b>PC - K</b>	13 (36,1)	7 (19,4)	4 (11,1)	1 (2,8)	5 (13,9)	6 (16,7)	36
<b>PC - F</b>	9 (34,6)	3 (11,5)	3 (11,5)	3 (11,5)	1 (3,8)	7 (26,9)	26
<b>PC - M</b>	4 (18,2)	4 (18,2)	0 (0)	2 (9,1)	1 (4,5)	11 (50,0)	22
<b>PC - J</b>	3 (42,9)	2 (28,6)	1 (14,3)	0 (0)	0 (0)	1 (14,3)	7
<b>PDC</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	2 (66,7)	3
<b>AC</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>MC</b>	3 (25,0)	2 (16,7)	1 (8,3)	4 (33,3)	0 (0)	2 (16,7)	12

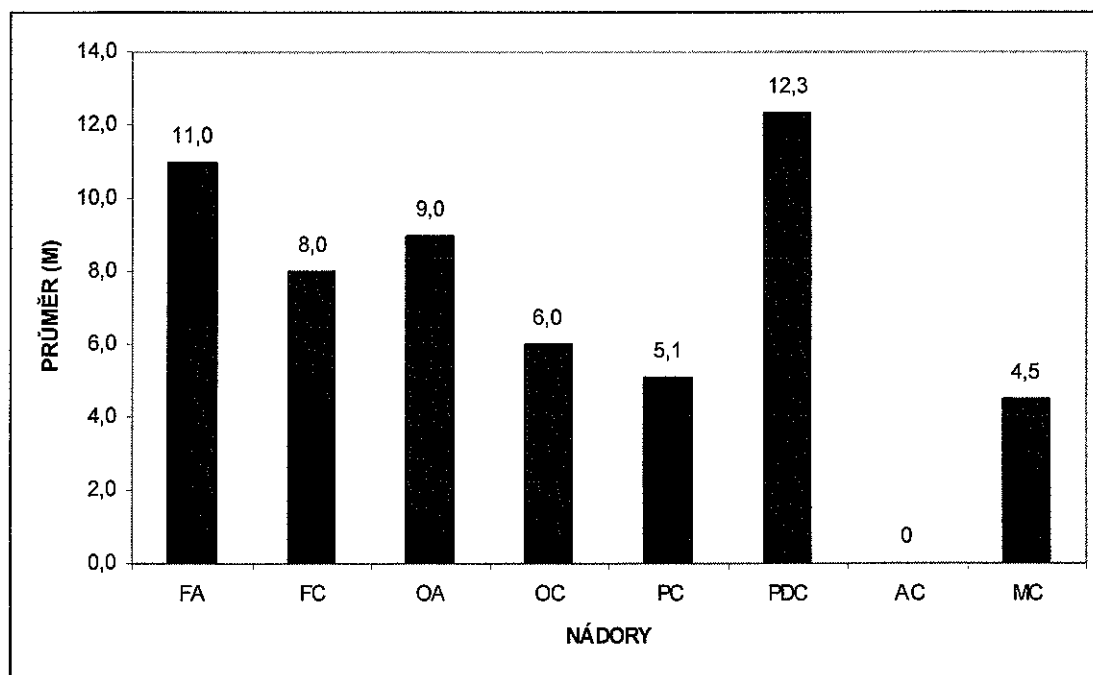
**Tab. 28:** Intenzita exprese Ecad v nádorech

<b>Nádor</b>	<b>0</b>	<b>slabá</b>	<b>střední</b>	<b>silná</b>	<b>Celkem</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N</b>
<b>FA</b>	6 (6,9)	2 (2,3)	23 (26,4)	56 (64,4)	87
<b>FC</b>	4 (15,4)	2 (7,7)	5 (19,2)	15 (57,7)	26
<b>FC - MI</b>	3 (12,5)	2 (8,3)	5 (20,8)	14 (58,3)	24
<b>FC - SI</b>	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	2
<b>OA</b>	3 (15,8)	2 (10,5)	3 (15,8)	11 (57,9)	19
<b>OC</b>	1 (20,0)	0 (0)	0 (0)	4 (80,0)	5
<b>OC - MI</b>	1 (33,3)	0 (0)	0 (0)	2 (66,7)	3
<b>OC - SI</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100,0)	2
<b>PC</b>	29 (31,9)	19 (20,9)	14 (15,4)	29 (31,9)	91
<b>PC - K</b>	13 (36,1)	6 (16,7)	7 (19,4)	10 (27,8)	36
<b>PC - F</b>	9 (34,6)	7 (26,9)	2 (7,7)	8 (30,8)	26
<b>PC - M</b>	4 (18,2)	5 (22,7)	4 (18,2)	9 (40,9)	22
<b>PC - J</b>	3 (42,9)	1 (14,3)	1 (14,3)	2 (28,6)	7
<b>PDC</b>	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	2 (66,7)	3
<b>AC</b>	2 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
<b>MC</b>	3 (25,0)	2 (16,7)	4 (33,3)	3 (25,0)	12

Tab. 29: Histokóre Ecad v nádorech

Skupina	M ± SD	MD (Min-Max)	Podskupiny	M ± SD	MD (Min-Max)
FA	11,0 ± 5,0	15,0 (0 - 15)	---	---	---
FC	8,0 ± 5,3	8,5 (0 - 15)	FC - MI	8,0 ± 5,0	8,5 (0 - 15)
			FC - SI	7,5 ± 10,6	7,5 (0 - 15)
OA	9,0 ± 6,3	9 (0 - 15)	---	---	---
OC	6,0 ± 7,4	6,0 (0 - 12)	OC - MI	4,0 ± 4,6	3,0 (0 - 9)
			OC - SI	9,0 ± 4,2	9,0 (6 - 12)
PC	5,1 ± 5,7	3,0 (0 - 15)	PC - K	4,1 ± 5,3	2,0 (0 - 15)
			PC - F	5,1 ± 6,3	2,5 (0 - 15)
			PC - M	7,6 ± 6,3	8,0 (0 - 15)
			PC - J	2,2 ± 2,5	2,0 (0 - 6)
PDC	12,3 ± 2,5	12,0 (10 - 15)	---	---	---
AC	0 ± 0	0	---	---	---
MC	4,5 ± 3,9	4,5 (0 - 10)	---	---	---

Graf 4: Histokóre Ecad v nádorech





#### 5.4. Prediktivní charakteristiky gal3, CK 19, NCAM a Ecad

Součástí statistického zpracování výsledků bylo též stanovení prediktivních charakteristik, tj. senzitivity (Senz.), specificity (Spec.), falešné pozitivivity (FP), falešné negativivity (FN), pozitivní prediktivní hodnoty (PPH) a negativní prediktivní hodnoty (NPH) studovaných markerů pro diagnózu malignity, a to při různém prahu pozitivivity (Pp), tedy různém procentuálním počtu pozitivních nádorových buněk, různé intenzitě exprese a různé hodnotě histoskóre. Výsledky jsou přehledně uvedeny v *tab. 30 - 32*.

Tab. 30: Prediktivní charakteristiky exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad pro dg. malignity

Marker	Pp (%)	Senz.	Spec.	FP	FN	PPH	NPH
<b>Gal3</b>	0	0,820	0,651	0,349	0,180	0,755	0,734
	10	0,741	0,792	0,208	0,259	0,824	0,700
	25	0,698	0,849	0,151	0,302	0,858	0,682
<b>CK 19</b>	0	0,597	0,868	0,132	0,403	0,856	0,622
	10	0,489	0,953	0,047	0,511	0,932	0,587
	25	0,475	0,972	0,028	0,525	0,957	0,585
<b>NCAM</b>	0	0,424	0,274	0,726	0,576	0,434	0,266
	10	0,309	0,387	0,613	0,691	0,398	0,299
	25	0,281	0,472	0,528	0,719	0,411	0,333
<b>Ecad</b>	0	0,719	0,085	0,915	0,281	0,508	0,188
	10	0,568	0,142	0,858	0,432	0,465	0,200
	25	0,475	0,198	0,802	0,525	0,437	0,223

**Tab. 31:** Prediktivní charakteristiky intenzity exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad pro dg. malignity

<b>Marker</b>	<b>Pp</b>	<b>Senz.</b>	<b>Spec.</b>	<b>FP</b>	<b>FN</b>	<b>PPH</b>	<b>NPH</b>
<b>Gal3</b>	Jakákoli	0,820	0,651	0,349	0,180	0,755	0,734
	Jen střední a silná	0,813	0,670	0,330	0,187	0,764	0,732
	Jen silná	0,691	0,783	0,217	0,309	0,807	0,659
<b>CK 19</b>	Jakákoli	0,597	0,868	0,132	0,403	0,856	0,622
	Jen střední a silná	0,540	0,915	0,085	0,460	0,893	0,602
	Jen silná	0,482	0,934	0,066	0,518	0,905	0,579
<b>NCAM</b>	Jakákoli	0,424	0,274	0,726	0,576	0,434	0,266
	Jen střední a silná	0,410	0,311	0,689	0,590	0,438	0,287
	Jen silná	0,331	0,406	0,594	0,669	0,422	0,316
<b>Ecad</b>	Jakákoli	0,719	0,085	0,915	0,281	0,508	0,188
	Jen střední a silná	0,554	0,123	0,877	0,446	0,453	0,173
	Jen silná	0,381	0,368	0,632	0,619	0,442	0,312

**Tab. 32:** Prediktivní charakteristiky histoskóre gal3, CK 19, NCAM a Ecad pro dg. malignity

Marker	Pp	Senz.	Spec.	FP	FN	PPH	NPH
<b>Gal3</b>	0	0,820	0,651	0,350	0,180	0,755	0,734
	5	0,719	0,802	0,198	0,281	0,826	0,685
	10	0,568	0,953	0,047	0,432	0,940	0,627
<b>CK 19</b>	0	0,597	0,868	0,132	0,403	0,856	0,622
	5	0,468	0,962	0,038	0,532	0,942	0,580
	10	0,374	0,991	0,009	0,626	0,981	0,547
<b>NCAM</b>	0	0,424	0,273	0,726	0,576	0,434	0,266
	5	0,309	0,424	0,575	0,691	0,413	0,319
	10	0,173	0,632	0,368	0,827	0,381	0,368
<b>Ecad</b>	0	0,719	0,085	0,915	0,280	0,508	0,188
	5	0,453	0,170	0,830	0,547	0,417	0,191
	10	0,230	0,443	0,557	0,770	0,352	0,305

Mezi expresí, intenzitou exprese a hodnotami histoskóre studovaných markerů a pohlavím a věkem pacienta, velikostí nádoru a angioinvasí nádorových buněk nebyla zjištěna statisticky významná souvislost ( $p > 0,05$ ).

Statistická souvislost mezi růstem nádoru mimo štítnou žlázu a expresí, intenzitou exprese a hodnotami histoskóre jednotlivých markerů je uvedena v *tab. 33*.

Dále byla prokázána statisticky významná souvislost mezi růstem PC mimo štítnou žlázu a expresí ( $p < 0,001$ ), intenzitou exprese ( $p = 0,005$ ) a hodnotami histoskóre ( $p = 0,003$ ) CK 19 a mezi růstem PC mimo štítnou žlázu a expresí Ecad ( $p = 0,04$ ). Tato souvislost u gal3 a NCAM prokázána nebyla ( $p > 0,05$ ). U jiných maligních nádorů nebyla tato souvislost studována.

**Tab. 33:** Statistická souvislost mezi růstem nádoru mimo štítnou žlázu a expresí, intenzitou exprese a hodnotami histoskóre jednotlivých markerů

<b>Marker</b>		<b>p</b>
<b>Gal3</b>	Exprese	<b>0,04*</b>
	Intenzita exprese	> 0,05
	Histoskóre	<b>0,04</b>
<b>CK 19</b>	Exprese	<b>&lt; 0,001</b>
	Intenzita exprese	<b>0,002</b>
	Histoskóre	<b>0,004</b>
<b>NCAM</b>	Exprese	> 0,05
	Intenzita exprese	> 0,05
	Histoskóre	> 0,05
<b>Ecad</b>	Exprese	<b>0,03</b>
	Intenzita exprese	> 0,05
	Histoskóre	<b>0,01</b>

\*Pozn.: Tučně jsou vyznačeny statisticky významné hodnoty, tj.  $p < 0,05$ .

Mezi přítomností metastáz a expresí, intenzitou exprese a histoskóre NCAM a Ecad nebyla zjištěna statisticky významná souvislost ( $p > 0,05$ , resp.  $p > 0,05$ ). Naopak, byla prokázána statisticky významná souvislost mezi histoskóre ga3 a CK 19 a přítomností metastáz ( $p = 0,01$ , resp.  $p = 0,002$ ); tato však nebyla prokázána mezi samotnou expresí ani intenzitou exprese gal3, resp. CK 19 ( $p > 0,05$ , resp.  $p > 0,05$ ).

Mezi expresí, intenzitou exprese a hodnotami histoskóre jednotlivých markerů a přítomností metastáz u PC nebyla prokázána statisticky významná souvislost ( $p > 0,05$ ). U jiných maligních nádorů nebyla tato souvislost studována.

V expresi, intenzitě exprese a v histoskóre všech studovaných markerů byl zjištěn statistický významný rozdíl ( $p(\text{gal3}) < 0,001$ , resp.  $p(\text{CK 19}) < 0,001$ , resp.  $p(\text{NCAM}) < 0,001$ , resp.  $p(\text{Ecad}) < 0,001$ ) mezi nádory benigními (B) a maligními

(M). Gal3 byl exprimován ve 37/106 benigních nádorech (prům. histoskóre 2,2) a ve 114/139 maligních nádorech (prům. histoskóre 10,0). CK 19 byl exprimován ve 14/106 benigních nádorech (prům. histoskóre 0,5) a ve 83/139 maligních nádorech (prům. histoskóre 6,6). NCAM byl exprimován v 77/106 benigních nádorech (prům. histoskóre 7,3) a ve 59/139 maligních nádorech (prům. histoskóre 3,7). Ecad byl exprimován v 97/106 benigních nádorech (prům. histoskóre 10,7) a ve 100/139 maligních nádorech (prům. histoskóre 5,7).

### 5.5. Exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad v nádorech s folikulárními rysy

Jedním z cílů práce bylo zjistit, zda existuje statisticky signifikantní rozdíl v expresi studovaných markerů mezi nádory s folikulárními rysy, tj. FA, FC a PC – F.

Vzhledem k velmi malému počtu FC – SI (n=2), nebyl event. rozdíl v expresi studovaných markerů mezi FC – MI a FC – SI zjišťován a do skupiny FC byla pro výpočty zahrnuta minimálně i široce invazivní varianta současně. Vzhledem k malému počtu OC (n = 5) nebyl event. rozdíl v expresi markerů mezi OA a OC studován.

V expresi, intenzitě exprese ani v histoskóre studovaných markerů nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi FA a FC ( $p > 0,05$ ).

Naopak, byl zjištěn statisticky významný rozdíl v expresi, intenzitě exprese a v histoskóre všech studovaných markerů mezi PC – F oproti FA a FC. Výsledky jsou uvedeny v *tab. 34*.

**Tab. 34:** Statistický rozdíl v expresi, intenzitě exprese a v histoskóre markerů mezi PC – F oproti FA a FC

<b>Marker</b>		<b>P</b>
<b>Gal3</b>	Expresse	< 0,001
	Intenzita exprese	< 0,001
	Histoskóre	< 0,001
<b>CK 19</b>	Expresse	< 0,001
	Intenzita exprese	< 0,001
	Histoskóre	< 0,001
<b>NCAM</b>	Expresse	0,013
	Intenzita exprese	< 0,001
	Histoskóre	0,004
<b>Ecad</b>	Expresse	< 0,001
	Intenzita exprese	< 0,001
	Histoskóre	< 0,001

Gal3 byl pozitivní v 29/87 FA (prům. histoskóre 2,0), 13/26 FC (prům. histoskóre 4,3) a 24/26 PC – F (prům. histoskóre 12,1); CK 19 byl pozitivní v 11/87 FA (prům. histoskóre 0,6), 4/26 FC (prům. histoskóre 0,8) a 17/26 PC – F (prům. histoskóre 5,3); NCAM byl pozitivní v 60/87 FA (prům. histoskóre 6,7), 20/26 FC (prům. histoskóre 6,2) a 7/26 PC – F (prům. histoskóre 1,8); Ecad byl pozitivní v 81/87 FA (prům. histoskóre 11,0), 22/26 FC (prům. histoskóre 8,0) a 17/26 PC – F (prům. histoskóre 5,1)).

### *5.6. Expresie gal3, CK 19, NCAM a Ecad ve variantách papilárního karcinomu*

Vzhledem k heterogenitě skupiny PC – J nebyla tato skupina do statistických výpočtů zjišťujících rozdíl mezi jednotlivými podskupinami PC zahrnuta.

V expresi, intenzitě exprese ani v histoskóre gal3, NCAM a Ecad nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $p > 0,05$ ) mezi jednotlivými variantami PC.

Naopak, v expresi, intenzitě exprese a v histoskóre CK 19 byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $p < 0,001$ , resp.  $p < 0,001$ , resp.  $p < 0,001$ ) mezi PC – K (CK 19 pozitivní v 34/36 PC – K, prům. histoskóre 12,6) oproti PC – F a PC – M (CK 19 pozitivní v 17/26 PC – F, prům. histoskóre 5,3; CK 19 pozitivní v 13/22 PC – M, prům. histoskóre 7,0).



## 5.7. Logistická regrese

Metodou logistické regrese byly určeny nejvhodnější markery či výběrové deskriptivní charakteristiky pro zařazení nádoru do dané diagnostické skupiny. Jako nejvhodnější kombinace kritérií pro diagnózu maligního nádoru byl nalezen model zahrnující histoskóre CK 19 (regresní koeficient (r.k.)  $B = 0,180$ ), histoskóre gal3 (r.k.  $B = 0,167$ ), histoskóre Ecad (r.k.  $B = -0,125$ ) a věk pacienta (r.k.  $B = 0,026$ ). Pro maligní nádor tedy svědčí silná difúzní pozitivita CK 19 a gal3, negativita Ecad a vyšší věk pacienta. Míra těsnosti modelu, tj. procento věrohodnosti modelu, je  $R^2 = 0,393$  (tj. 39,3%). Pro odlišení benigních a maligních nádorů je celková diagnostická přesnost, tj. počet správně zařazených nádorů ze všech nádorů zkoumaných modelem, modelu 80,4%, diagnostická přesnost pro diagnózu benigního nádoru je 84,0% (správně 89 ze 106 benigních nádorů) a diagnostická přesnost pro diagnózu maligního nádoru je 77,7% (správně 108 ze 139 maligních nádorů).

Jako nejvhodnější kritérium pro diagnózu PC – F oproti skupině FA a FC bylo nalezeno histoskóre gal3 (r.k.  $B = 0,326$ ). Pro PC – F tedy svědčí silná difúzní exprese gal3. Míra těsnosti modelu je  $R^2 = 0,726$ . Celková diagnostická přesnost modelu je 91,4%, diagnostická přesnost modelu pro diagnózu FA a FC je 94,7% (správně 107 ze 113 FA a FC), diagnostická přesnost pro diagnózu PC – F je 76,9% (správně 20 ze 26 PC - F).

## 6. Diskuze

Studovaný soubor tvořilo celkem 245 primárních epiteliálních nádorů štítné žlázy; svým rozsahem je tedy naše studie plně srovnatelná se studiemi jiných autorů, kteří se expresí imunohistochemických markerů v nádorech štítné žlázy zabývali.

Z hlediska pohlaví v našem souboru zřetelně převažovaly ženy (79,2%) oproti mužům (20,8%), což je v souladu s obecně známou skutečností, že léze štítné žlázy se vyskytují častěji u žen (57, 201). Tento fenomén je vysvětlován zatím blíže nespecifikovanou úlohou genů pro receptory pohlavních hormonů v etiopatogenezi nádorů štítné žlázy (57).

Nižší průměrný věk pacientů s FA (50 let) a OA (56 let) oproti pacientům s FC (55 let) a OC (61 let) nepřímou podporuje literárně popisovanou domněnku, že FC a OC vznikají maligní transformací svých benigních protějšků (57, 201). Zvyšující se průměrný věk pacientů se ztrátou diferenciací maligních nádorů (PC (53 let), resp. FC (55 let)), PDC (61 let) a AC (76 let) opět nepřímou podporuje hypotézu, že poslední dva nádory vznikají dediferenciací dobře diferencovaných nádorů (57, 201), pro kterou svědčí i přítomnost reziduí PC či FC při pečlivém vyšetřování bioptických vzorků s PDC či AC. V mechanismu dediferenciací má v případě PDC zřejmě úlohu onkogen bcl-2 (180), v případě AC pak p53 (211).

Obtížná diferenciální diagnostika nádorů štítné žlázy v klasickém barvení hematoxylinem-eozinem vede k intenzivnímu hledání imunohistochemických markerů, jejichž detekce by byla přínosem pro bioptickou praxi. Největší pozornost je věnována především gal3 a CK19, zatímco adhezivní molekuly (např. NCAM) stojí spíše stranou zájmu či je jejich výzkum v nádorech štítné žlázy teprve na počátku (např. Ecad).

Exprese gal3 v různých buněčných elementech, např. fibroblastech, endoteliích cév či intrafolikulárních makrofázích normálního parenchymu štítné žlázy lze využít jako pozitivní vnitřní kontrolu metodiky jeho imunohistochemické

detekce. Tato skutečnost však může být také zdrojem falešně pozitivních výsledků imunocytochemické detekce gal3 při hodnocení materiálu získaného metodou FNAC, pokud jsou při zběžném hodnocení tyto buněčné elementy mylně pokládány za gal3-pozitivní folikulární buňky a je vysloveno podezření z malignity.

Expresí gal3 v různých buněčných typech představuje také metodický problém při detekci mRNA gal3 v nádorech štítné žlázy. V této situaci totiž nelze vyloučit možnost, že detekovaná mRNA pochází právě z buněk nádorového stromatu exprimujících gal3. Tato skutečnost je zřejmě zdrojem rozdílných výsledků studií, které se detekcí mRNA gal3 ve štítné žláze zabývaly a ve kterých nebyla použita metoda mikrodisekce. Někteří autoři prokázali mRNA gal3 pouze v maligních nádorech štítné žlázy (74), někteří ji prokázali až ve 40% FA (205) a někteří ji prokázali jak v normální štítné žláze, tak i v nenádorových a nádorových lézích (67, 102). Situaci dále komplikuje nedostatek znalostí o event. dalších úpravách mRNA gal3 v benigních nádorech, takže význam jejího průkazu v těchto lézích je diskutabilní. V současné době je tato metoda obecně pokládána za příliš senzitivní, než aby mohla být využívána v rutinní biotické praxi, kde se dává přednost imunohistochemické detekci gal3 (102, 250).

Na rozdíl od gal3-negativních C – parafolikulárních buněk byla v řadě studií, včetně naší studie, prokázána variabilní exprese gal3 v MC (10, 12, 52, 68, 85, 119). Gal3 se tedy uplatňuje i v procesu maligní transformace C - parafolikulárních buněk, a není specifický pouze pro nádory z buněk folikulárních (68). Rozdílné výsledky studií jsou způsobeny především nízkým počtem studovaných případů (ve většině studií méně než 5 případů; v naší studii byl gal3 exprimován v 8/12 (67%) případů). Cvejic et al. (52), kteří studovali dosud největší počet – 20 případů MC, prokázali expresi gal3 v 18/20 (90%) případů, přičemž silnější exprese gal3 byla přítomna u MC v pokročilejším klinickém stádiu. Případné využití gal3 jako prognostického faktoru u MC však vyžaduje další výzkum.

Výsledky velkého počtu studií, které byly expresi gal3 v nádorech štítné žlázy dosud věnovány jsou velmi rozporuplné a nekonzistentní. Příčinou jsou

především metodologické rozdílnosti mezi jednotlivými studiemi. Velmi záleží na typu použité primární protilátky (polyklonální x monoklonální, výrobce) a jejím ředění a neméně pak na typu použitého detekčního systému. Obecně jsou doporučovány detekční systémy bez biotinu, protože zvláště onkocytárně transformované folikulární buňky se vyznačují vysokou endogenní biotinovou aktivitou, která může být zdrojem falešně pozitivních výsledků imunohistochemické detekce gal3 (85, 250). Dále je třeba při hodnocení pečlivě odlišit expresi gal3 vlastními nádorovými buňkami od jeho exprese buněčnými elementy nádorového stromatu, tj. fibroblasty či endoteliemi cév nebo intrafolikulárními makrofágy. Klíčová je také definice positivity daného nádoru - gal3 totiž může být v daném nádoru exprimován pouze slabě a fokálně, a pokud je již tento výsledek pokládán za pozitivní, významně ovlivňuje interpretaci výsledků celé studie. Obecně je doporučováno považovat daný nádor za gal3-pozitivní, pokud se barví více než 10% nádorových buněk (33). V naší studii bylo dosaženo optimální kombinace senzitivity a specificity gal3 pro diagnózu malignity při prahu 10% (0,741; 0,792), resp. hodnotě histoskóre 5 (0,719; 0,802). Kromě hodnocení procentuálního počtu pozitivních nádorových buněk je tedy možné doporučit i zohlednění intenzity barvení formou histoskóre. V neposlední řadě jsou výsledky detekce gal3 v některých méně častých nádorech, např. PDC či AC, jistě ovlivněny nízkým počtem zkoumaných případů. K diagnóze těchto nádorů lze však dospět již z preparátů barvených hematoxylinem-eozinem.

Přes výše zmíněné metodické rozdíly jednotlivých studií je možné shrnout, že ačkoli gal3 není specifický pro určitý typ nádoru štítné žlázy, jeho exprese je vyšší v maligních nádorech štítné žlázy ve srovnání s nádory benigními (169, 205). I v naší studii byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi těmito dvěma skupinami (prům. histoskóre 2,2 v benigních nádorech oproti prům. histoskóre 10,0 v nádorech maligních). Expese gal3 by tedy měla vést k podezření na malignitu daného nádoru s následným extenzivním vyšetřením dané léze spojeným s pátráním po diagnostických kritériích malignity, tj. transkapsulární invazi a/nebo angioinvazi nádorových buněk či přítomnosti nádorových buněk s matricovými jádry.

O silné difúzní expresi gal3 v PC není v současné době mezi jednotlivými autory sporu - exprese gal3 byla prokázána v 73-100% případů PC (10, 12, 33, 43, 56, 68, 74, 76, 85, 102, 113, 119, 145, 150, 169, 186); v naší studii byl gal3 exprimován v 86/91 (94,5%) PC (prům. histoskóre 12,6).

Zajímavé výsledky však přineslo studium exprese gal3 ve FA a FC. Ve shodě s převažující většinou studií (10, 56, 74, 113, 205) jsme neprokázali statisticky významný rozdíl mezi FA a FC, který byl některými autory popisován (68, 102), a gal3 tedy není spolehlivým markerem v jejich diferenciální diagnostice. Důvodem rozdílného výsledku těchto dvou studií oproti naší studii je zřejmě použití odlišného typu protilátky proti gal3 a jejího vyššího ředění. Dále se na našem odlišném výsledku může podílet ta skutečnost, že FC z našeho souboru se chovaly „benigně“, tj. nemetastazovaly. V naší studii byl gal3 exprimován ve 29/87 (33,3%) FA a ve 13/26 (50%) FC; jednalo se převážně o silnou fokální pozitivitu subkapsulárně lokalizovaných nádorových buněk či nádorových buněk, které inkompletně (FA) či kompletně (FC) invadovaly pouzdro nádoru či byly přítomny v cévách (FC). Tento nález ukazuje na heterogenitu nádorové populace v tom smyslu, že gal3-pozitivní nádorové buňky mají zřejmě „agresivnější“ potenciál (10, 74, 186). Hypotéza považovat gal3-pozitivní FA za včas odstraněné FC, u kterých ještě nedošlo ke kompletní transkapsulární invazi nádorových buněk (74), není v současné době všeobecně akceptována. I přes zajímavý charakter exprese gal3 ve FA či FC, se zřejmě gal3 na vzniku FC z FA významněji nepodílí a „odpovědné“ molekuly za tuto transformaci je třeba hledat např. v oblasti matrixových metaloproteináz a jejich inhibitorů.

Ve shodě s Oestreicher-Kedem et al. (169) a de Matos et al. (56), kteří se podrobněji věnovali studiu exprese gal3 v nádorech s folikulárními rysy, byl i v naší studii prokázán statisticky významný rozdíl v expresi gal3 mezi PC – F oproti FA a FC; gal3 byl dokonce vyhodnocen pomocí logistické regrese jako nejvhodnější marker pro diferenciální diagnostiku těchto nádorů. Detekci gal3 je tak možné využít jako pomocnou metodu v diferenciální diagnostice PC – F, která je v současné době založena především na subjektivním hodnocení

vzhledu nádorových buněk, resp. jejich jader, a může tak být zdrojem diagnostických rozpaků.

Pouze dvě studie se věnovaly korelaci exprese gal3 a klinickému stádiu zkoumaných nádorů (113, 146). Kawachi et al. (113) prokázali statisticky významnou souvislost mezi expresí gal3 a přítomností metastáz v lymfatických uzlinách u PC, nikoli však mezi expresí gal3 a klinickým stádiem PC; Maruta et al. (146) statisticky významnou souvislost mezi expresí gal3 a přítomností metastáz u jimi studovaných nádorů (pouze FC) neprokázali. V naší studii naopak byla prokázána statisticky významná souvislost mezi expresí a histoskóre gal3 a růstem nádoru mimo štítnou žlázu (nikoli však mezi velikostí nádoru) a mezi histoskóre gal3 a přítomností metastáz. Tyto souvislosti však nebyly prokázány, pokud byl studován pouze PC. Příčinou neshody může být zejména délka sledování pacientů (v naší studii medián 5 let) a spektrum zkoumaných nádorů (v naší studii všechny maligní nádory, popř. pouze PC). Kawachi et al. (113) délku sledování neuvádějí a studují pouze FC a PC. Maruta et al. (146) také délku sledování neuvádějí a studují pouze FC. Vysvětlením skutečnosti, že mezi velikostí nádoru a expresí gal3 nebyla, na rozdíl od růstu nádoru mimo štítnou žlázu, prokázána statisticky významná souvislost může být hypotéza, že gal3 se účastní až pozdějších fází karcinogeneze a následně podmiňuje agresivnější chování nádoru včetně tendence k zakládání metastáz. Gal3 může tedy být považován za prediktivní marker, jehož průkaz v maligním nádoru svědčí pro jeho agresivnější růst a jeho vyšší tendenci k metastazování.

Ve shodě s Fonseca et al. (69) byla v naší studii pozorována exprese CK 19 v regresivně změněných dlaždicově metaplastických buňkách v PC, která může být vysvětlena tím, že CK 19 je využíván buňkami jako neutrální cytokeratin při jejich nízkém stupni diferenciaci (122), o čemž svědčí exprese proteinu p63 těmito buňkami (28). Tato skutečnost však může být zdrojem diagnostického úskalí, pokud by tyto buňky byly přítomné v parenchymu štítné žlázy, např. v terénu Hashimotovy tyreoiditidy, či benigním nádoru (137) a následně by byly mylně interpretovány jako CK 19-pozitivní maligní nádorové

buňky, a to jak při hodnocení bioptického materiálu, tak materiálu získaného pomocí FNAC.

Pouze Prasad et al. (186) pozorovali expresi CK 19 v solidních buněčných hnízdech (v publikaci není doloženo fotodokumentací); ve většině studií, včetně naší studie, však tento fenomén nebyl pozorován. Příčinou tohoto ojedinělého nálezu může být záměna těchto buněčných elementů např. za buňky PC – M. Tento nález však do jisté míry opravňuje provokativní hypotézu možnosti vzniku PC (charakterizovaného silnou expresí CK 19) právě z buněk solidní buněčných hnízd (28). Tato odvážná hypotéza, která je výsledkem snahy najít dosud neznámý benigní „protějšek“ PC, však není v současné době všeobecně akceptována.

V naší studii byl CK 19 markerem s nejvyšší specificitou pro diagnózu maligního nádoru (při prahu histoskóre 5 senzitivita, resp. specificita 0,719, resp. 0,802). Jeho exprese nádorovými buňkami tedy svědčí pro diagnózu malignity, a to zejména PC, za jehož poměrně specifický marker je v současné době pokládán (33, 69, 186, 189, 206). Také v naší studii byla prokázána častá exprese CK 19 v papilárním karcinomu (v 71/91 PC, prům. histoskóre 9,3).

Jen limitovaný počet studií (40) se však hlouběji zabýval případnou odlišnou expresí CK 19 v různých variantách PC. V naší studii byl statisticky významný rozdíl mezi PC – F a PC – M, kde byla exprese signifikantně CK 19 nižší, oproti PC – K se signifikantně vyšší expresí CK 19. Nižší exprese CK19 v PC – F je však také v literatuře uváděna (40). Exaktní vysvětlení tohoto fenoménu není v současné době známo; chybí také studie, které by se zabývaly detekcí mRNA CK 19 či mutacemi genu CK 19 v nádorech štítné žlázy. Nižší exprese CK 19 ve PC – F může být vysvětlena přítomností odlišného typu přeskupení RET/PTC (RET/PTC3 ve PC – F oproti RET/PTC1 v klasické variantě PC), příp. také přítomností genetických změn obdobných FC (tj. aktivace genů RAS a přítomnost translokace PAX8-PPAR $\gamma$ ), u kterého je exprese CK 19 signifikantně nižší než u PC, a které mohou expresi CK 19 ovlivňovat. Na nižší expresi CK 19 ve PC – F je také nutné myslet při využití tohoto markeru v bioptické praxi v diferenciální diagnostice FA a FC. Ačkoli byl v řadě studií,

včetně naší studie, prokázán statisticky významný rozdíl v expresi CK 19 mezi PC – F oproti FA a FC, negativita CK19 diagnózu PC – F nevylučuje a rozhodujícím kritériem je stále pečlivé zhodnocení jaderných charakteristik nádorových buněk v klasickém barvení hematoxylinem-eozinem. Naše studie je první, která prokázala nižší expresi CK 19 v PC – M oproti klasické variantě PC. Tuto skutečnost je možné vysvětlit tím, že CK 19 je aberantně exprimován nádorovými buňkami až v pozdějším stádiu nádorového onemocnění. Negativita CK 19 v PC – M opět diagnózu této varianty PC nevylučuje.

Naše studie byla také první, která studovala vztah exprese CK 19 s šířením nádoru mimo štítnou žlázu a s přítomností metastáz. V obou dvou případech byla zjištěna statisticky významná souvislost. Z tohoto hlediska je možné CK 19 považovat za prediktivní marker, který souvisí s agresivnějším chováním nádoru a jeho vyšší tendencí k zakládání metastáz.

Expresi NCAM v nádorech štítné žlázy byla zatím věnována pouze omezená pozornost (154, 246, 268, 270); naše studie je tak jedna z prvních, která se expresí NCAM ve velkém souboru nádorů štítné žlázy zabývala. Exprese NCAM v normálním parenchymu štítné žlázy svědčí pro její úlohu jako adhezivní molekuly při formování folikulů.

Statisticky významně nižší exprese NCAM v maligních nádorech oproti benigním zřejmě souvisí se sníženou adhezivitou nádorových buněk, která je jedním z předpokladů jejich šíření a schopnosti infiltrativního růstu (154, 268, 270). I přes prokázaný statisticky významný rozdíl mezi PC – F oproti FA a FC v expresi NCAM vzhledem k nízké senzitivitě a specificitě tohoto markeru pro diagnózu malignity nelze jeho využití v bioptické praxi v současné době doporučit; jako spolehlivější se v tomto smyslu ukazuje zejména gal3.

Mezi expresí NCAM a šířením nádoru mimo štítnou žlázu či přítomností metastáz nebyla v naší studii prokázána statisticky významná souvislost; využití NCAM jako případného prognostického markeru nádorů štítné žlázy tedy také nelze doporučit.

Exprese Ecad vykazovala ve shodě s literaturou sestupnou tendenci v řadě normální štítná žláza – benigní nádory – dobře diferencované nádory –



anaplastický karcinom (24, 94, 112, 158, 196, 197, 213). Překvapivou výjimkou z tohoto „pravidla“ byl PDC, u kterého byla zaznamenána vysoká exprese Ecad. Tento nález je možné vysvětlit tím, že jako PDC byly v naší studii hodnoceny i případy, kde převažující část nádoru tvořil dobře diferencovaný karcinom a PDC pouze fokální komponentu nádoru, která ovšem vykazovala nižší expresi Ecad než dobře diferencovaná část nádoru. Tento metodický postup tak vedl k odlišným výsledkům detekce Ecad, než které byly zaznamenány jinými autory, kteří expresi Ecad v PDC vůbec neprokázali (196). Náš nález tak nabízí hypotézu, že PDC je bližší dobře diferencovaným karcinomům štítné žlázy než AC, od kterého se liší především lepší prognózou; 5leté přežití u PDC se udává 50% (209), u AC se 2leté přežití uvádí 10% (233).

Prokázaný statisticky významný rozdíl v expresi Ecad mezi benigními nádory a nádory maligními ukazuje na sníženou adhezivitu maligních nádorových buněk, která souvisí s jejich schopností invazivního růstu. Negativní průkaz Ecad je možné dle modelu logistické regrese považovat za kritérium svědčící pro malignitu daného nádoru.

Neprokázaný statisticky významný rozdíl v expresi Ecad mezi FA a FC ukazuje, že se Ecad při vzniku FC z FA nepodílí; v naší studii byla pozorována ve FC exprese Ecad i buňkami, které penetrovaly nádorové pouzdro či byly přítomny v cévách. Naito et al. (158) prokázali statisticky významný rozdíl v expresi Ecad mezi minimálně a široce invazivní variantou FC, který dle jejich názoru souvisí s horší prognózou pacientů s FC – SI. V naší studii jsme vzhledem k nízkému počtu FC – SI tento fenomén nezkoumali, a jejich nález tak vyžaduje případnou verifikaci dalšími studii.

Prokázaný statisticky významný rozdíl mezi růstem maligního nádoru mimo štítnou žlázu (nikoliv však mezi velikostí nádoru) a expresí a hodnotou histoskóre Ecad je zřejmě důsledkem skutečnosti, že se Ecad při vzniku maligních nádorů nepodílí a snížení jeho exprese souvisí až s pokročilejším stádiem maligního onemocnění.

Naito et al. (158) prokázali statisticky významnou souvislost mezi expresí Ecad v PC a přítomností metastáz PC; tato skutečnost však v naší studii

prokázána nebyla. Vysvětlením je zřejmě delší doba sledování u Naito et al. (158). Použití Ecad jako prognostického markeru v tomto smyslu proto nelze v současné době obecně doporučit, ačkoli další studie mohou ten či onen náález podpořit.

## 7. Závěry práce

1. Závěrem je možné konstatovat, že byl vytvořen a studován soubor nádorů štítné žlázy, který je svým rozsahem plně srovnatelný se studii jiných autorů zabývajících se expresí imunohistochemických markerů v nádorech štítné žlázy. Výsledky této studie do jisté míry potvrdily pozorování jiných autorů, navíc však byly zjištěny některé dosud v literatuře nepopsané skutečnosti. V neposlední řadě jsou získané výsledky této studie v současné době aplikovány v biotické praxi na pracovišti autora.

2. Žádný ze studovaných markerů nebyl stoprocentně sensitivní či specifický pro benigní či maligní nádory nebo dokonce pro jeden určitý typ nádoru štítné žlázy.

3. Studium exprese gal3 a CK 19 ovšem přineslo výsledky, které opravňují zařazení detekce těchto markerů mezi pomocné metody v diferenciální diagnostice nádorů s folikulárními rysy, především v diferenciální diagnostice folikulární varianty papilárního karcinomu oproti folikulárnímu adenomu a karcinomu, ačkoli je třeba upozornit na relativně vyšší zastoupení CK 19 negativních případů folikulární varianty papilárního karcinomu, na rozdíl od varianty klasické.

4. Dosud literárně nepopsaným fenoménem byl statisticky významný rozdíl v expresi CK 19 mezi klasickou variantou papilárního karcinomu a papilárním mikrokarcinomem.

5. Stanovení exprese gal3 a CK 19 není přínosem v diferenciální diagnostice folikulárního adenomu a folikulárního karcinomu a jediným kritériem tak zůstává průkaz kompletní transkapsulární invaze a/nebo angioinvaze nádorových buněk. Gal3 ani CK 19 nejsou tedy tolik hledanými molekulami, které by byly zodpovědné za vznik folikulárního karcinomu z folikulárního adenomu.

6. Expresi gal3 a CK 19 je možné považovat za prognostické faktory ve vztahu k šíření maligního nádoru mimo štítnou žlázu a k metastatickému potenciálu maligního nádoru.

7. Tato práce patří mezi jedny z prvních rozsáhlejších studií, které se věnovaly výzkumu exprese NCAM a Ecad v nádorech štítné žlázy.

8. Expresy NCAM a Ecad vykazovaly sestupnou tendenci v řadě normální parenchym štítné žlázy - benigní nádory - dobře diferencované maligní nádory - nízké diferencovaný či nediferencovaný karcinom. Tento fenomén zřejmě souvisí s postupnou ztrátou adhezivní nádorových buněk. Na rozdíl od jiných autorů byla exprese Ecad pozorována i v nízké diferencovaném karcinomu, což nabízí myšlenku, že nízké diferencovaný karcinom je biologicky bližší dobře diferencovaným karcinomům štítné žlázy než nediferencovanému karcinomu.

9. Medulární karcinom se od ostatních studovaných markerů liší svojí odlišnou histogenezí z C - parafolikulárních buněk. Odlišení medulárního karcinomu od jiných nádorů štítné žlázy folikulárního původu je možné pomocí osvědčených imunohistochemických markerů, např. kalcitoninu, karcinoembryonálního antigenu, synaptofyzinu, chromograninu či PGP 9.5. Námi studované markery nejsou pro diferenciální diagnostiku medulárního karcinomu přínosem.

10. Můžeme tedy shrnout, že výzkum exprese adhezivních molekul NCAM a Ecad v nádorech štítné žlázy přinesl zajímavé výsledky z hlediska obecně biologického, ačkoli jejich využití v biotické praxi je v současné době přinejmenším sporné. Naopak imunohistochemická detekce gal3 a CK 19 je přínosem v diferenciální diagnostice nádorů s folikulárními rysy a v současné době byla zařazena na pracovišti autora do rutinní biotické praxe. Detekci gal3 a CK 19 bude také možné v budoucnu použít při hodnocení materiálu získaného metodou tenkojehlové aspirační cytologie a následně zpracovaného formou cytobloku.

## 8. Literatura

1. Abelin, T., Averkin, J. I., Egger, M. et al.: Thyroid cancer in Belarus post-Chernobyl: improved detection or increased incidence? *Soz Praventivmed*, 39, 1994, s. 189-97.
2. Agrwal, N., Wang, J. L., Voss, P. G.: Carbohydrate-binding protein 35. Levels of transcription and mRNA accumulation in quiescent and proliferating cells. *J Biol Chem*, 264, 1989, s. 17236-42.
3. Akahani, S., Nangia-Makker, P., Inohara, H., Kim, H. R., Raz, A.: Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Res*, 57, 1997, s. 5272-6.
4. Axiotis, C. A., Merino, M. J., Ain, K., Norton, J. A.: Papillary endothelial hyperplasia in the thyroid following fine-needle aspiration. *Arch Pathol Lab Med*, 115, 1991, s. 240-2.
5. Babich, M., Foti, L. R.: E-cadherins identified in osteoblastic cells: effects of parathyroid hormone and extracellular calcium on localization. *Life Sci*, 54, 1994, s. 201-8.
6. Baloch, Z. W., Abraham, S., Roberts, S., LiVolsi, V. A.: Differential expression of cytokeratins in follicular variant of papillary carcinoma: an immunohistochemical study and its diagnostic utility. *Hum Pathol*, 30, 1999, s. 1166-71.
7. Baloch, Z. W., LiVolsi, V. A.: Post fine-needle aspiration histologic alterations of thyroid revisited. *Am J Clin Pathol*, 112, 1999, s. 311-6.
8. Bao, Q., Hughes, R. C.: Galectin-3 expression and effects on cyst enlargement and tubulogenesis in kidney epithelial MDCK cells cultured in three-dimensional matrices in vitro. *J Cell Sci*, 108 ( Pt 8), 1995, s. 2791-800.
9. Barondes, S. H., Castronovo, V., Cooper, D. N. et al.: Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell*, 76, 1994, s. 597-8.

10. Bartolazzi, A., Gasbarri, A., Papotti, M. et al.: Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet*, 357, 2001, s. 1644-50.
11. Becker, J. W., Erickson, H. P., Hoffman, S., Cunningham, B. A., Edelman, G. M.: Topology of cell adhesion molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86, 1989, s. 1088-92.
12. Beesley, M. F., McLaren, K. M.: Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. *Histopathology*, 41, 2002, s. 236-43.
13. Beggs, H. E., Baragona, S. C., Hemperly, J. J., Maness, P. F.: NCAM140 interacts with the focal adhesion kinase p125(fak) and the SRC-related tyrosine kinase p59(fyn). *J Biol Chem*, 272, 1997, s. 8310-9.
14. Behrens, J., Birchmeier, W., Goodman, S. L., Imhof, B. A.: Dissociation of Madin-Darby canine kidney epithelial cells by the monoclonal antibody anti-arc-1: mechanistic aspects and identification of the antigen as a component related to uvomorulin. *J Cell Biol*, 101, 1985, s. 1307-15.
15. Behrens, J., Mareel, M. M., Van Roy, F. M., Birchmeier, W.: Dissecting tumor cell invasion: epithelial cells acquire invasive properties after the loss of uvomorulin-mediated cell-cell adhesion. *J Cell Biol*, 108, 1989, s. 2435-47.
16. Behrens, J., von Kries, J. P., Kuhl, M. et al.: Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature*, 382, 1996, s. 638-42.
17. Berberat, P. O., Friess, H., Wang, L. et al.: Comparative analysis of galectins in primary tumors and tumor metastasis in human pancreatic cancer. *J Histochem Cytochem*, 49, 2001, s. 539-49.
18. Bertolotti, R., Rutishauser, U., Edelman, G. M.: A cell surface molecule involved in aggregation of embryonic liver cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 77, 1980, s. 4831-5.
19. Berx, G., Cleton-Jansen, A. M., Strumane, K. et al.: E-cadherin is inactivated in a majority of invasive human lobular breast cancers by truncation mutations throughout its extracellular domain. *Oncogene*, 13, 1996, s. 1919-25.

20. Bhanot, P., Brink, M., Samos, C. H. et al.: A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature*, 382, 1996, s. 225-30.
21. Bhattacharyya, N.: A population-based analysis of survival factors in differentiated and medullary thyroid carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 128, 2003, s. 115-23.
22. Bieber, T.: IgE-binding molecules on human Langerhans cells. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, 176, 1992, s. 54-7.
23. Brabant, G., Hoang-Vu, C., Behrends, J. et al.: Regulation of the cell-cell adhesion protein, E-cadherin, in dog and human thyrocytes in vitro. *Endocrinology*, 136, 1995, s. 3113-9.
24. Brabant, G., Hoang-Vu, C., Cetin, Y. et al.: E-cadherin: a differentiation marker in thyroid malignancies. *Cancer Res*, 53, 1993, s. 4987-93.
25. Bracke, M. E., Vyncke, B. M., Bruyneel, E. A. et al.: Insulin-like growth factor I activates the invasion suppressor function of E-cadherin in MCF-7 human mammary carcinoma cells in vitro. *Br J Cancer*, 68, 1993, s. 282-9.
26. Brackenbury, R., Sorkin, B. C., Cunningham, B. A.: Molecular features of cell adhesion molecules involved in neural development. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*, 65, 1987, s. 155-67.
27. Bresalier, R. S., Yan, P. S., Byrd, J. C., Lotan, R., Raz, A.: Expression of the endogenous galactose-binding protein galectin-3 correlates with the malignant potential of tumors in the central nervous system. *Cancer*, 80, 1997, s. 776-87.
28. Burstein, D. E., Nagi, C., Wang, B. Y., Unger, P.: Immunohistochemical detection of p53 homolog p63 in solid cell nests, papillary thyroid carcinoma, and Hashimoto's thyroiditis: a stem cell hypothesis of papillary carcinoma oncogenesis. *Hum Pathol*, 35, 2004, s. 465-73.
29. Cady, B., Rossi, R., Silverman, M., Wool, M.: Further evidence of the validity of risk group definition in differentiated thyroid carcinoma. *Surgery*, 98, 1985, s. 1171-8.

30. Cano, A., Perez-Moreno, M. A., Rodrigo, I. et al.: The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol*, 2, 2000, s. 76-83.
31. Carico, E., Atlante, M., Bucci, B., Nofroni, I., Vecchione, A.: E-cadherin and alpha-catenin expression during tumor progression of cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*, 80, 2001, s. 156-61.
32. Carruba, G., Miceli, D., D'Amico, D. et al.: Sex steroids up-regulate E-cadherin expression in hormone-responsive LNCaP human prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 212, 1995, s. 624-31.
33. Casey, M. B., Lohse, C. M., Lloyd, R. V.: Distinction between papillary thyroid hyperplasia and papillary thyroid carcinoma by immunohistochemical staining for cytokeratin 19, galectin-3, and HBME-1. *Endocr Pathol*, 14, 2003, s. 55-60.
34. Castronovo, V., Van Den Brule, F. A., Jackers, P. et al.: Decreased expression of galectin-3 is associated with progression of human breast cancer. *J Pathol*, 179, 1996, s. 43-8.
35. Celetti, A., Garbi, C., Consales, C. et al.: Analysis of cadherin/catenin complexes in transformed thyroid epithelial cells: modulation by beta 1 integrin subunit. *Eur J Cell Biol*, 79, 2000, s. 583-93.
36. Cepek, K. L., Shaw, S. K., Parker, C. M. et al.: Adhesion between epithelial cells and T lymphocytes mediated by E-cadherin and the alpha E beta 7 integrin. *Nature*, 372, 1994, s. 190-3.
37. Cherayil, B. J., Weiner, S. J., Pillai, S.: The Mac-2 antigen is a galactose-specific lectin that binds IgE. *J Exp Med*, 170, 1989, s. 1959-72.
38. Cheuk, W., Jacobson, A. A., Chan, J. K.: Spindle epithelial tumor with thymus-like differentiation (SETTLE): a distinctive malignant thyroid neoplasm with significant metastatic potential. *Mod Pathol*, 13, 2000, s. 1150-5.
39. Cheung, C. C., Boerner, S. L., MacMillan, C. M., Ramyar, L., Asa, S. L.: Hyalinizing trabecular tumor of the thyroid: a variant of papillary carcinoma proved by molecular genetics. *Am J Surg Pathol*, 24, 2000, s. 1622-6.



40. Cheung, C. C., Ezzat, S., Freeman, J. L., Rosen, I. B., Asa, S. L.: Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*, 14, 2001, s. 338-42.
41. Choi, I., Gudas, L. J., Katzenellenbogen, B. S.: Regulation of keratin 19 gene expression by estrogen in human breast cancer cells and identification of the estrogen responsive gene region. *Mol Cell Endocrinol*, 164, 2000, s. 225-37.
42. Chow, V., Yuen, A. P., Lam, K. Y., Tsao, G. S., Ho, W. K., Wei, W. I.: A comparative study of the clinicopathological significance of E-cadherin and catenins (alpha, beta, gamma) expression in the surgical management of oral tongue carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 127, 2001, s. 59-63.
43. Coli, A., Bigotti, G., Zucchetti, F., Negro, F., Massi, G.: Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia. *Histopathology*, 40, 2002, s. 80-7.
44. Comijn, J., Berx, G., Vermassen, P. et al.: The two-handed E box binding zinc finger protein SIP1 downregulates E-cadherin and induces invasion. *Mol Cell*, 7, 2001, s. 1267-78.
45. Cooper, D. N.: Galectinomics: finding themes in complexity. *Biochim Biophys Acta*, 1572, 2002, s. 209-31.
46. Cooper, D. N., Barondes, S. H.: God must love galectins; he made so many of them. *Glycobiology*, 9, 1999, s. 979-84.
47. Coulombe, P. A., Omary, M. B.: 'Hard' and 'soft' principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Curr Opin Cell Biol*, 14, 2002, s. 110-22.
48. Coutifaris, C., Kao, L. C., Sehdev, H. M. et al.: E-cadherin expression during the differentiation of human trophoblasts. *Development*, 113, 1991, s. 767-77.
49. Craig, S. S., Krishnaswamy, P., Irani, A. M., Kepley, C. L., Liu, F. T., Schwartz, L. B.: Immunoelectron microscopic localization of galectin-3, an IgE binding protein, in human mast cells and basophils. *Anat Rec*, 242, 1995, s. 211-9.
50. Crossin, K. L., Krushel, L. A.: Cellular signaling by neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Dev Dyn*, 218, 2000, s. 260-79.

51. Cummings, R. D., Smith, D. F.: The selectin family of carbohydrate-binding proteins: structure and importance of carbohydrate ligands for cell adhesion. *Bioessays*, 14, 1992, s. 849-56.
52. Cvejic, D., Savin, S., Golubovic, S., Paunovic, I., Tatic, S., Havelka, M.: Galectin-3 and carcinoembryonic antigen expression in medullary thyroid carcinoma: possible relation to tumour progression. *Histopathology*, 37, 2000, s. 530-5.
53. Dagher, S. F., Wang, J. L., Patterson, R. J.: Identification of galectin-3 as a factor in pre-mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, 1995, s. 1213-7.
54. Damsky, C. H., Richa, J., Solter, D., Knudsen, K., Buck, C. A.: Identification and purification of a cell surface glycoprotein mediating intercellular adhesion in embryonic and adult tissue. *Cell*, 34, 1983, s. 455-66.
55. Daniel, L., Bouvier, C., Chetaille, B. et al.: Neural cell adhesion molecule expression in renal cell carcinomas: relation to metastatic behavior. *Hum Pathol*, 34, 2003, s. 528-32.
56. de Matos, P. S., Ferreira, A. P., de Oliveira Facuri, F., Assumpcao, L. V., Metzke, K., Ward, L. S.: Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology*, 47, 2005, s. 391-401.
57. DeLellis, R. A., Lloyd, R. V., Heitz, P. U., Eng, Ch.: WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumours of Endocrine Organs. IARC Press, Lyon, 2004, s. 49-133.
58. Donalies, M., Cramer, M., Ringwald, M., Starzinski-Powitz, A.: Expression of M-cadherin, a member of the cadherin multigene family, correlates with differentiation of skeletal muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88, 1991, s. 8024-8.
59. Downing, J. R., Reynolds, A. B.: PDGF, CSF-1, and EGF induce tyrosine phosphorylation of p120, a pp60src transformation-associated substrate. *Oncogene*, 6, 1991, s. 607-13.
60. Doyle, E., Nolan, P. M., Bell, R., Regan, C. M.: Intraventricular infusions of anti-neural cell adhesion molecules in a discrete posttraining period impair

consolidation of a passive avoidance response in the rat. *J Neurochem*, 59, 1992, s. 1570-3.

**61.** Eckert, R. L., Green, H.: Cloning of cDNAs specifying vitamin A-responsive human keratins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 81, 1984, s. 4321-5.

**62.** Edelman, G. M.: CAMs and Igs: cell adhesion and the evolutionary origins of immunity. *Immunol Rev*, 100, 1987, s. 11-45.

**63.** Ersoz, C., Soylu, L., Erkocak, E. U., Tetiker, T., Gumurdulu, D.: Histologic alterations in the thyroid gland after fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol*, 16, 1997, s. 230-2.

**64.** Evans, H. L., Vassilopoulou-Sellin, R.: Follicular and Hurthle cell carcinomas of the thyroid: a comparative study. *Am J Surg Pathol*, 22, 1998, s. 1512-20.

**65.** Faggiano, A., Talbot, M., Baudin, E., Bidart, J. M., Schlumberger, M., Caillou, B.: Differential expression of galectin 3 in solid cell nests and C cells of human thyroid. *J Clin Pathol*, 56, 2003, s. 142-3.

**66.** Fagman, H., Grande, M., Edsbacke, J., Semb, H., Nilsson, M.: Expression of classical cadherins in thyroid development: maintenance of an epithelial phenotype throughout organogenesis. *Endocrinology*, 144, 2003, s. 3618-24.

**67.** Feilchenfeldt, J., Totsch, M., Sheu, S. Y. et al.: Expression of galectin-3 in normal and malignant thyroid tissue by quantitative PCR and immunohistochemistry. *Mod Pathol*, 16, 2003, s. 1117-23.

**68.** Fernandez, P. L., Merino, M. J., Gomez, M. et al.: Galectin-3 and laminin expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissue. *J Pathol*, 181, 1997, s. 80-6.

**69.** Fonseca, E., Nesland, J. M., Hoie, J., Sobrinho-Simoes, M.: Pattern of expression of intermediate cytokeratin filaments in the thyroid gland: an immunohistochemical study of simple and stratified epithelial-type cytokeratins. *Virchows Arch*, 430, 1997, s. 239-45.

**70.** Frigeri, L. G., Liu, F. T.: Surface expression of functional IgE binding protein, an endogenous lectin, on mast cells and macrophages. *J Immunol*, 148, 1992, s. 861-7.

71. Fujimoto, J.: Endocrinological contribution for invasion and metastasis in gynecological cancers. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, 48, 1996, s. 633-43.
72. Gabius, H. J., Andre, S., Kaltner, H., Siebert, H. C.: The sugar code: functional lectinomics. *Biochim Biophys Acta*, 1572, 2002, s. 165-77.
73. Garin, J., Diez, R., Kieffer, S. et al.: The phagosome proteome: insight into phagosome functions. *J Cell Biol*, 152, 2001, s. 165-80.
74. Gasbarri, A., Martegani, M. P., Del Prete, F., Lucante, T., Natali, P. G., Bartolazzi, A.: Galectin-3 and CD44v6 isoforms in the preoperative evaluation of thyroid nodules. *J Clin Oncol*, 17, 1999, s. 3494-502.
75. Gewurz, H., Zhang, X. H., Lint, T. F.: Structure and function of the pentraxins. *Curr Opin Immunol*, 7, 1995, s. 54-64.
76. Giannini, R., Faviana, P., Cavinato, T. et al.: Galectin-3 and oncofetal-fibronectin expression in thyroid neoplasia as assessed by reverse transcription-polymerase chain reaction and immunocytochemistry in cytologic and pathologic specimens. *Thyroid*, 13, 2003, s. 765-70.
77. Goletz, S., Hanisch, F. G., Karsten, U.: Novel alphaGalNAc containing glycans on cytokeratins are recognized in vitro by galectins with type II carbohydrate recognition domains. *J Cell Sci*, 110 ( Pt 14), 1997, s. 1585-96.
78. Graff, J. R., Greenberg, V. E., Herman, J. G. et al.: Distinct patterns of E-cadherin CpG island methylation in papillary, follicular, Hurthle's cell, and poorly differentiated human thyroid carcinoma. *Cancer Res*, 58, 1998, s. 2063-6.
79. Graff, J. R., Herman, J. G., Lapidus, R. G. et al.: E-cadherin expression is silenced by DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. *Cancer Res*, 55, 1995, s. 5195-9.
80. Hamaguchi, M., Matsuyoshi, N., Ohnishi, Y., Gotoh, B., Takeichi, M., Nagai, Y.: p60v-src causes tyrosine phosphorylation and inactivation of the N-cadherin-catenin cell adhesion system. *EMBO J*, 12, 1993, s. 307-14.
81. Hatta, K., Nose, A., Nagafuchi, A., Takeichi, M. : Cloning and expression of cDNA encoding a neural calcium-dependent cell adhesion molecule: its identity in the cadherin gene family. *J Cell Biol*, 106, 1988, s. 873-81.

- 82.** Hatzfeld, M., Burba, M.: Function of type I and type II keratin head domains: their role in dimer, tetramer and filament formation. *J Cell Sci*, 107 ( Pt 7), 1994, s. 1959-72.
- 83.** Hazan, R. B., Kang, L., Whooley, B. P., Borgen, P. I.: N-cadherin promotes adhesion between invasive breast cancer cells and the stroma. *Cell Adhes Commun*, 4, 1997, s. 399-411.
- 84.** He, H. T., Barbet, J., Chaix, J. C., Goidis, C. : Phosphatidylinositol is involved in the membrane attachment of NCAM-120, the smallest component of the neural cell adhesion molecule. *EMBO J*, 5, 1986, s. 2489-94.
- 85.** Herrmann, M. E., LiVolsi, V. A., Pasha, T. L., Roberts, S. A., Wojcik, E. M., Baloch, Z. W.: Immunohistochemical expression of galectin-3 in benign and malignant thyroid lesions. *Arch Pathol Lab Med*, 126, 2002, s. 710-3.
- 86.** Hikita, C., Vijayakumar, S., Takito, J., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Al-Awqati, Q.: Induction of terminal differentiation in epithelial cells requires polymerization of hensin by galectin 3. *J Cell Biol*, 151, 2000, s. 1235-46.
- 87.** Hirokawa, M., Inagaki, A., Kobayashi, H., Kanahara, T., Manabe, T., Sonoo, H.: Expression of cytokeratin 19 in cytologic specimens of thyroid. *Diagn Cytopathol*, 22, 2000, s. 197-8.
- 88.** Hordijk, P. L., ten Klooster, J. P., van der Kammen, R. A., Michiels, F., Oomen, L. C., Collard, J. G.: Inhibition of invasion of epithelial cells by Tiam1-Rac signaling. *Science*, 278, 1997, s. 1464-6.
- 89.** Hoschuetzky, H., Aberle, H., Kemler, R.: Beta-catenin mediates the interaction of the cadherin-catenin complex with epidermal growth factor receptor. *J Cell Biol*, 127, 1994, s. 1375-80.
- 90.** Hsu, D. K., Dowling, C. A., Jeng, K. C., Chen, J. T., Yang, R. Y., Liu, F. T.: Galectin-3 expression is induced in cirrhotic liver and hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 81, 1999, s. 519-26.
- 91.** Hsu, D. K., Hammes, S. R., Kuwabara, I., Greene, W. C., Liu, F. T.: Human T lymphotropic virus-I infection of human T lymphocytes induces expression of the beta-galactoside-binding lectin, galectin-3. *Am J Pathol*, 148, 1996, s. 1661-70.

- 92.** Hu, L., Gudas, L. J.: Activation of keratin 19 gene expression by a 3' enhancer containing an AP1 site. *J Biol Chem*, 269, 1994, s. 183-91.
- 93.** Huang, S. H., Wu, J. C., Chang, K. J., Liaw, K. Y., Wang, S. M.: Distribution of the cadherin-catenin complex in normal human thyroid epithelium and a thyroid carcinoma cell line. *J Cell Biochem*, 70, 1998, s. 330-7.
- 94.** Huang, S. H., Wu, J. C., Chang, K. J., Liaw, K. Y., Wang, S. M.: Expression of the cadherin-catenin complex in well-differentiated human thyroid neoplastic tissue. *Thyroid*, 9, 1999, s. 1095-103.
- 95.** Hubert, M., Wang, S. Y., Wang, J. L., Seve, A. P., Hubert, J.: Intranuclear distribution of galectin-3 in mouse 3T3 fibroblasts: comparative analyses by immunofluorescence and immunoelectron microscopy. *Exp Cell Res*, 220, 1995, s. 397-406.
- 96.** Hughes, R. C.: The galectin family of mammalian carbohydrate-binding molecules. *Biochem Soc Trans*, 25, 1997, s. 1194-8.
- 97.** Husmark, J., Heldin, N. E., Nilsson, M.: Follicular growth of a thyroid carcinoma cell line (KAT-4) with abnormal E-cadherin and impaired epithelial barrier. *Thyroid*, 12, 2002, s. 781-90.
- 98.** Hutton, E., Paladini, R. D., Yu, Q. C., Yen, M., Coulombe, P. A., Fuchs, E.: Functional differences between keratins of stratified and simple epithelia. *J Cell Biol*, 143, 1998, s. 487-99.
- 99.** Hyafil, F., Morello, D., Babinet, C., Jacob, F.: A cell surface glycoprotein involved in the compaction of embryonal carcinoma cells and cleavage stage embryos. *Cell*, 21, 1980, s. 927-34.
- 100.** Ikeguchi, M., Taniguchi, T., Makino, M., Kaibara, N.: Reduced E-cadherin expression and enlargement of cancer nuclei strongly correlate with hematogenic metastasis in colorectal adenocarcinoma. *Scand J Gastroenterol*, 35, 2000, s. 839-46.
- 101.** Inohara, H., Akahani, S., Raz, A.: Galectin-3 stimulates cell proliferation. *Exp Cell Res*, 245, 1998, s. 294-302.

- 102.** Inohara, H., Honjo, Y., Yoshii, T. et al.: Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms. *Cancer*, 85, 1999, s. 2475-84.
- 103.** Inohara, H., Raz, A.: Identification of human melanoma cellular and secreted ligands for galectin-3. *Biochem Biophys Res Commun*, 201, 1994, s. 1366-75.
- 104.** Inuzuka, H., Miyatani, S., Takeichi, M.: R-cadherin: a novel Ca(2+)-dependent cell-cell adhesion molecule expressed in the retina. *Neuron*, 7, 1991, s. 69-79.
- 105.** Iurisci, I., Tinari, N., Natoli, C., Angelucci, D., Cianchetti, E., Iacobelli, S.: Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res*, 6, 2000, s. 1389-93.
- 106.** Johnson, C. P., Fragneto, G., Konovalov, O., Dubosclard, V., Legrand, J. F., Leckband, D. E.: Structural studies of the neural-cell-adhesion molecule by X-ray and neutron reflectivity. *Biochemistry (Mosc)*, 44, 2005, s. 546-54.
- 107.** Jones, F. S., Holst, B. D., Minowa, O., De Robertis, E. M., Edelman, G. M.: Binding and transcriptional activation of the promoter for the neural cell adhesion molecule by HoxC6 (Hox-3.3). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 1993, s. 6557-61.
- 108.** Joo, H. G., Goedegebuure, P. S., Sadanaga, N., Nagoshi, M., von Bernstorff, W., Eberlein, T. J.: Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding protein in activated T lymphocytes. *J Leukoc Biol*, 69, 2001, s. 555-64.
- 109.** Jou, T. S., Stewart, D. B., Stappert, J., Nelson, W. J., MARRS, J. A.: Genetic and biochemical dissection of protein linkages in the cadherin-catenin complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, 1995, s. 5067-71.
- 110.** Kapran, Y., Ozbey, N., Molvalilar, S., Sencer, E., Dizdaroglu, F., Ozarmagan, S.: Immunohistochemical detection of E-cadherin, alpha- and beta-catenins in papillary thyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest*, 25, 2002, s. 578-85.
- 111.** Kasai, K., Hirabayashi, J.: Galectins: a family of animal lectins that decipher glycocodes. *J Biochem (Tokyo)*, 119, 1996, s. 1-8.

- 112.** Kato, N., Tsuchiya, T., Tamura, G., Motoyama, T.: E-cadherin expression in follicular carcinoma of the thyroid. *Pathol Int*, 52, 2002, s. 13-8.
- 113.** Kawachi, K., Matsushita, Y., Yonezawa, S. et al.: Galectin-3 expression in various thyroid neoplasms and its possible role in metastasis formation. *Hum Pathol*, 31, 2000, s. 428-33.
- 114.** Khan-Dawood, F. S., Yang, J., Dawood, M. Y.: Immunocytochemical localization and expression of E-cadherin and beta-catenin in the human corpus luteum. *Mol Hum Reprod*, 2, 1996, s. 753-7.
- 115.** Kim, H. R., Lin, H. M., Biliran, H., Raz, A. : Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. *Cancer Res*, 59, 1999, s. 4148-54.
- 116.** Koch, P. J., Franke, W. W.: Desmosomal cadherins: another growing multigene family of adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol*, 6, 1994, s. 682-7.
- 117.** Konstantinov, K. N., Robbins, B. A., Liu, F. T.: Galectin-3, a beta-galactoside-binding animal lectin, is a marker of anaplastic large-cell lymphoma. *Am J Pathol*, 148, 1996, s. 25-30.
- 118.** Kopan, R., Traska, G., Fuchs, E.: Retinoids as important regulators of terminal differentiation: examining keratin expression in individual epidermal cells at various stages of keratinization. *J Cell Biol*, 105, 1987, s. 427-40.
- 119.** Kovacs, R. B., Foldes, J., Winkler, G., Bodo, M., Sapi, Z.: The investigation of galectin-3 in diseases of the thyroid gland. *Eur J Endocrinol*, 149, 2003, s. 449-53.
- 120.** Krugluger, W., Frigeri, L. G., Lucas, T. et al.: Galectin-3 inhibits granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-driven rat bone marrow cell proliferation and GM-CSF-induced gene transcription. *Immunobiology*, 197, 1997, s. 97-109.
- 121.** Krushel, L. A., Cunningham, B. A., Edelman, G. M., Crossin, K. L.: NF-kappaB activity is induced by neural cell adhesion molecule binding to neurons and astrocytes. *J Biol Chem*, 274, 1999, s. 2432-9.
- 122.** Lam, K. Y., Lui, M. C., Lo, C. Y.: Cytokeratin expression profiles in thyroid carcinomas. *Eur J Surg Oncol*, 27, 2001, s. 631-5.



- 123.** Lane, E. B., McLean, W. H.: Keratins and skin disorders. *J Pathol*, 204, 2004, s. 355-66.
- 124.** Lanier, L. L., Testi, R., Bindl, J., Phillips, J. H.: Identity of Leu-19 (CD56) leukocyte differentiation antigen and neural cell adhesion molecule. *J Exp Med*, 169, 1989, s. 2233-8.
- 125.** Leblanc, M., Poncelet, C., Soriano, D. et al.: Alteration of CD44 and cadherins expression: possible association with augmented aggressiveness and invasiveness of endometrial carcinoma. *Virchows Arch*, 438, 2001, s. 78-85 .
- 126.** Lecuit, M., Dramsi, S., Gottardi, C., Fedor-Chaiken, M., Gumbiner, B., Cossart, P.: A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *EMBO J*, 18, 1999, s. 3956-63.
- 127.** Lee, S. W.: H-cadherin, a novel cadherin with growth inhibitory functions and diminished expression in human breast cancer. *Nat Med*, 2, 1996, s. 776-82.
- 128.** Lehr, H. A., Folpe, A., Yaziji, H., Kommoss, F., Gown, A. M.: Cytokeratin 8 immunostaining pattern and E-cadherin expression distinguish lobular from ductal breast carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 114, 2000, s. 190-6.
- 129.** Li, M., Carcangiu, M. L., Rosai, J.: Abnormal intracellular and extracellular distribution of basement membrane material in papillary carcinoma and hyalinizing trabecular tumors of the thyroid: implication for deregulation of secretory pathways. *Hum Pathol*, 28, 1997, s. 1366-72.
- 130.** Li, R., Wheeler, T., Dai, H., Ayala, G.: Neural cell adhesion molecule is upregulated in nerves with prostate cancer invasion. *Hum Pathol*, 34, 2003, s. 457-61.
- 131.** Lin, H. M., Moon, B. K., Yu, F., Kim, H. R.: Galectin-3 mediates genistein-induced G(2)/M arrest and inhibits apoptosis. *Carcinogenesis*, 21, 2000, s. 1941-5.
- 132.** Liotta, L. A., Stetler-Stevenson, W. G. : Tumor invasion and metastasis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Res*, 51, 1991, s. 5054s-5059s.

- 133.** Liu, F. T., Albrandt, K., Mendel, E., Kulczycki, A. Jr, Orida, N. K.: Identification of an IgE-binding protein by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82, 1985, s. 4100-4.
- 134.** Liu, F. T., Hsu, D. K., Zuberi, R. I., Kuwabara, I., Chi, E. Y., Henderson, W. R. Jr: Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages. *Am J Pathol*, 147, 1995, s. 1016-28.
- 135.** Liu, F. T., Patterson, R. J., Wang, J. L.: Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta*, 1572, 2002, s. 263-73.
- 136.** LiVolsi, V. A.: Hyalinizing trabecular tumor of the thyroid: adenoma, carcinoma, or neoplasm of uncertain malignant potential? *Am J Surg Pathol*, 24, 2000, s. 1683-4.
- 137.** LiVolsi, V. A., Merino, M. J.: Squamous cells in the human thyroid gland. *Am J Surg Pathol*, 2, 1978, s. 133-40.
- 138.** LiVolsi, V. A., Merino, M. J.: Worrisome histologic alterations following fine-needle aspiration of the thyroid (WHAFFT). *Pathol Annu*, 29 ( Pt 2), 1994, s. 99-120.
- 139.** Lotan, R., Belloni, P. N., Tressler, R. J., Lotan, D., Xu, X. C., Nicolson, G. L.: Expression of galectins on microvessel endothelial cells and their involvement in tumour cell adhesion. *Glycoconj J*, 11, 1994, s. 462-8.
- 140.** Lotan, R., Ito, H., Yasui, W., Yokozaki, H., Lotan, D., Tahara, E.: Expression of a 31-kDa lactoside-binding lectin in normal human gastric mucosa and in primary and metastatic gastric carcinomas. *Int J Cancer*, 56, 1994, s. 474-80.
- 141.** Lotz, M. M., Andrews, C. W. Jr, Korzelius, C. A. et al.: Decreased expression of Mac-2 (carbohydrate binding protein 35) and loss of its nuclear localization are associated with the neoplastic progression of colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 1993, s. 3466-70.
- 142.** Ludvikova, M., Ryska, A., Dvorakova, E.: Focal sarcoid-like change of the thyroid gland. A possible consequence of aspiration cytology? *Pathol Res Pract*, 198, 2002, s. 479-82; discussion 483.

- 143.** Maness, P. F., Beggs, H. E., Klinz, S. G., Morse, W. R.: Selective neural cell adhesion molecule signaling by Src family tyrosine kinases and tyrosine phosphatases. *Perspect Dev Neurobiol*, 4, 1996, s. 169-81.
- 144.** Maquoi, E., van den Brule, F. A., Castronovo, V., Foidart, J. M.: Changes in the distribution pattern of galectin-1 and galectin-3 in human placenta correlates with the differentiation pathways of trophoblasts. *Placenta*, 18, 1997, s. 433-9.
- 145.** Martins, L., Matsuo, S. E., Ebina, K. N., Kulcsar, M. A., Friguglietti, C. U., Kimura, E. T.: Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 2002, s. 4806-10.
- 146.** Maruta, J., Hashimoto, H., Yamashita, H., Yamashita, H., Noguchi, S.: Immunostaining of galectin-3 and CD44v6 using fine-needle aspiration for distinguishing follicular carcinoma from adenoma. *Diagn Cytopathol*, 31, 2004, s. 392-6.
- 147.** Massa, S. M., Cooper, D. N., Leffler, H., Barondes, S. H.: L-29, an endogenous lectin, binds to glycoconjugate ligands with positive cooperativity. *Biochemistry (Mosc)*, 32, 1993, s. 260-7.
- 148.** Maximo, V., Sobrinho-Simoes, M.: Hurthle cell tumours of the thyroid. A review with emphasis on mitochondrial abnormalities with clinical relevance. *Virchows Arch*, 437, 2000, s. 107-15.
- 149.** McLaughlin, R. B. Jr, Montone, K. T., Wall, S. J. et al.: Nerve cell adhesion molecule expression in squamous cell carcinoma of the head and neck: a predictor of propensity toward perineural spread. *Laryngoscope*, 109, 1999, s. 821-6.
- 150.** Mehrotra, P., Okpokam, A., Bouhaidar, R. et al.: Galectin-3 does not reliably distinguish benign from malignant thyroid neoplasms. *Histopathology*, 45, 2004, s. 493-500.
- 151.** Menon, R. P., Strom, M., Hughes, R. C.: Interaction of a novel cysteine and histidine-rich cytoplasmic protein with galectin-3 in a carbohydrate-independent manner. *FEBS Lett*, 470, 2000, s. 227-31.

- 152.** Miettinen, M., Franssila, K. O.: Variable expression of keratins and nearly uniform lack of thyroid transcription factor 1 in thyroid anaplastic carcinoma. *Hum Pathol*, 31, 2000, s. 1139-45.
- 153.** Miettinen, M., Kovatich, A. J., Karkkainen, P.: Keratin subsets in papillary and follicular thyroid lesions. A paraffin section analysis with diagnostic implications. *Virchows Arch*, 431, 1997, s. 407-13.
- 154.** Migita, K., Eguchi, K., Kawakami, A. et al.: Detection of Leu-19 (CD56) antigen on human thyroid epithelial cells by an immunohistochemical method. *Immunology*, 72, 1991, s. 246-9.
- 155.** Moll, R., Franke, W. W., Schiller, D. L., Geiger, B., Krepler, R.: The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*, 31, 1982, s. 11-24.
- 156.** Moolenaar, C. E., Muller, E. J., Schol, D. J. et al.: Expression of neural cell adhesion molecule-related sialoglycoprotein in small cell lung cancer and neuroblastoma cell lines H69 and CHP-212. *Cancer Res*, 50, 1990, s. 1102-6.
- 157.** Moon, B. K., Lee, Y. J., Battle, P., Jessup, J. M., Raz, A., Kim, H. R.: Galectin-3 protects human breast carcinoma cells against nitric oxide-induced apoptosis: implication of galectin-3 function during metastasis. *Am J Pathol*, 159, 2001, s. 1055-60.
- 158.** Naito, A., Iwase, H., Kuzushima, T., Nakamura, T., Kobayashi, S.: Clinical significance of E-cadherin expression in thyroid neoplasms. *J Surg Oncol*, 76, 2001, s. 176-80.
- 159.** Nakhjavani, M. K., Gharib, H., Goellner, J. R., van Heerden, J. A.: Metastasis to the thyroid gland. A report of 43 cases. *Cancer*, 79, 1997, s. 574-8.
- 160.** Nangia-Makker, P., Baccarini, S., Raz, A.: Carbohydrate-recognition and angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev*, 19, 2000, s. 51-7.
- 161.** Nangia-Makker, P., Honjo, Y., Sarvis, R. et al.: Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol*, 156, 2000, s. 899-909.

- 162.** Nasser, S. M., Pitman, M. B., Pilch, B. Z., Faquin, W. C.: Fine-needle aspiration biopsy of papillary thyroid carcinoma: diagnostic utility of cytokeratin 19 immunostaining. *Cancer*, 90, 2000, s. 307-11.
- 163.** Nelson, R. W., Bates, P. A., Rutishauser, U.: Protein determinants for specific polysialylation of the neural cell adhesion molecule. *J Biol Chem*, 270, 1995, s. 17171-9.
- 164.** Nemeč, J., Chytrý, P., Dvorač, J. et al.: The effect of gender on prevalence and survival in thyroid carcinoma. *Vnitr Lek*, 42, 1996, s. 602-4.
- 165.** Niedziela, M., Maceluch, J., Korman, E.: Galectin-3 is not an universal marker of malignancy in thyroid nodular disease in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 2002, s. 4411-5.
- 166.** Nilsson, M., Ericson, L. E.: Effects of epidermal growth factor and phorbol ester on thyroid epithelial integrity. *Exp Cell Res*, 219, 1995, s. 626-39.
- 167.** Noe, V., Fingleton, B., Jacobs, K. et al.: Release of an invasion promoter E-cadherin fragment by matrilysin and stromelysin-1. *J Cell Sci*, 114, 2001, s. 111-118.
- 168.** Ochieng, J., Fridman, R., Nangia-Makker, P. et al.: Galectin-3 is a novel substrate for human matrix metalloproteinases-2 and -9. *Biochemistry (Mosc)*, 33, 1994, s. 14109-14.
- 169.** Oestreicher-Kedem, Y., Halpern, M., Roizman, P. et al.: Diagnostic value of galectin-3 as a marker for malignancy in follicular patterned thyroid lesions. *Head Neck*, 26, 2004, s. 960-6.
- 170.** Ohannesian, D. W., Lotan, D., Thomas, P. et al.: Carcinoembryonic antigen and other glycoconjugates act as ligands for galectin-3 in human colon carcinoma cells. *Cancer Res*, 55, 1995, s. 2191-9.
- 171.** Owens, G. C., Edelman, G. M., Cunningham, B. A.: Organization of the neural cell adhesion molecule (N-CAM) gene: alternative exon usage as the basis for different membrane-associated domains. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84, 1987, s. 294-8.
- 172.** Ozawa, M., Kemler, R.: Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. *J Cell Biol*, 116, 1992, s. 989-96.

- 173.** Ozawa, M., Kemler, R.: Altered cell adhesion activity by pervanadate due to the dissociation of alpha-catenin from the E-cadherin - catenin complex. *J Biol Chem*, 273, 1998, s. 6166-70.
- 174.** Papotti, M., Rodriguez, J., De Pompa, R., Bartolazzi, A., Rosai, J.: Galectin-3 and HBME-1 expression in well-differentiated thyroid tumors with follicular architecture of uncertain malignant potential. *Mod Pathol*, 18, 2005, s. 541-6.
- 175.** Papotti, M., Volante, M., Giuliano, A. et al.: RET/PTC activation in hyalinizing trabecular tumors of the thyroid. *Am J Surg Pathol*, 24, 2000, s. 1615-21.
- 176.** Park, J. W., Voss, P. G., Grabski, S., Wang, J. L., Patterson, R. J.: Association of galectin-1 and galectin-3 with Gemin4 in complexes containing the SMN protein. *Nucleic Acids Res*, 29, 2001, s. 3595-602.
- 177.** Perillo, N. L., Marcus, M. E., Baum, L. G.: Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med*, 76, 1998, s. 402-12.
- 178.** Perl, A. K., Wilgenbus, P., Dahl, U., Semb, H., Christofori, G.: A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. *Nature*, 392, 1998, s. 190-3.
- 179.** Pesheva, P., Kuklinski, S., Schmitz, B., Probstmeier, R.: Galectin-3 promotes neural cell adhesion and neurite growth. *J Neurosci Res*, 54, 1998, s. 639-54.
- 180.** Pestereli, H. E., Ogus, M., Oren, N., Karpuzoglu, G., Kerpuzoglu, T.: Bcl-2 and p53 expression in insular and in well-differentiated thyroid carcinomas with an insular pattern. *Endocr Pathol*, 12, 2001, s. 301-5.
- 181.** Piepenhagen, P. A., Nelson, W. J.: Defining E-cadherin-associated protein complexes in epithelial cells: plakoglobin, beta- and gamma-catenin are distinct components. *J Cell Sci*, 104 ( Pt 3), 1993, s. 751-62.
- 182.** Piersanti, M., Ezzat, S., Asa, S. L.: Controversies in papillary microcarcinoma of the thyroid. *Endocr Pathol*, 14, 2003, s. 183-91.
- 183.** Pilotti, S., Collini, P., Mariani, L. et al.: Insular carcinoma: a distinct de novo entity among follicular carcinomas of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol*, 21, 1997, s. 1466-73.

- 184.** Plail, R. O., Bussey, H. J., Glazer, G., Thomson, J. P.: Adenomatous polyposis: an association with carcinoma of the thyroid. *Br J Surg*, 74, 1987, s. 377-80.
- 185.** Potter, E., Bergwitz, C., Brabant, G.: The cadherin-catenin system: implications for growth and differentiation of endocrine tissues. *Endocr Rev*, 20, 1999, s. 207-39.
- 186.** Prasad, M. L., Pellegata, N. S., Huang, Y., Nagaraja, H. N., de la Chapelle, A., Kloos, R. T.: Galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, HBME1 and cytokeratin-19 immunohistochemistry is useful for the differential diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol*, 18, 2005, s. 48-57 .
- 187.** Rabinowitz, J. E., Rutishauser, U., Magnuson, T.: Targeted mutation of Ncam to produce a secreted molecule results in a dominant embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 1996, s. 6421-4.
- 188.** Raimond, J., Rouleux, F., Monsigny, M., Legrand, A.: The second intron of the human galectin-3 gene has a strong promoter activity down-regulated by p53. *FEBS Lett*, 363, 1995, s. 165-9.
- 189.** Raphael, S. J., McKeown-Eyssen, G., Asa, S. L.: High-molecular-weight cytokeratin and cytokeratin-19 in the diagnosis of thyroid tumors. *Mod Pathol*, 7, 1994, s. 295-300.
- 190.** Raz, A., Lotan, R.: Endogenous galactoside-binding lectins: a new class of functional tumor cell surface molecules related to metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 6, 1987, s. 433-52.
- 191.** Raz, A., Meromsky, L., Zvibel, I., Lotan, R.: Transformation-related changes in the expression of endogenous cell lectins. *Int J Cancer*, 39, 1987, s. 353-60.
- 192.** Reid, R. A., Hemperly, J. J.: Human N-cadherin: nucleotide and deduced amino acid sequence. *Nucleic Acids Res*, 18, 1990, s. 5896.
- 193.** Reynolds, A. B., Herbert, L., Cleveland, J. L., Berg, S. T., Gaut, J. R.: p120, a novel substrate of protein tyrosine kinase receptors and of p60v-src, is related to cadherin-binding factors beta-catenin, plakoglobin and armadillo. *Oncogene*, 7, 1992, s. 2439-45.

- 194.** Riethmacher, D., Brinkmann, V., Birchmeier, C.: A targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92, 1995, s. 855-9.
- 195.** Ringwald, M., Schuh, R., Vestweber, D. et al.: The structure of cell adhesion molecule uvomorulin. Insights into the molecular mechanism of Ca<sup>2+</sup>-dependent cell adhesion. *EMBO J*, 6, 1987, s. 3647-53.
- 196.** Rocha, A. S., Soares, P., Fonseca, E., Cameselle-Teijeiro, J., Oliveira, M. C., Sobrinho-Simoes, M.: E-cadherin loss rather than beta-catenin alterations is a common feature of poorly differentiated thyroid carcinomas. *Histopathology*, 42, 2003, s. 580-7.
- 197.** Rocha, A. S., Soares, P., Seruca, R. et al.: Abnormalities of the E-cadherin/catenin adhesion complex in classical papillary thyroid carcinoma and in its diffuse sclerosing variant. *J Pathol*, 194, 2001, s. 358-66.
- 198.** Roff, C. F., Rosevear, P. R., Wang, J. L., Barker, R.: Identification of carbohydrate-binding proteins from mouse and human fibroblasts. *Biochem J*, 211, 1983, s. 625-9.
- 199.** Roff, C. F., Wang, J. L.: Endogenous lectins from cultured cells. Isolation and characterization of carbohydrate-binding proteins from 3T3 fibroblasts. *J Biol Chem*, 258, 1983, s. 10657-63.
- 200.** Rorive, S., Eddafali, B., Fernandez, S. et al.: Changes in galectin-7 and cytokeratin-19 expression during the progression of malignancy in thyroid tumors: diagnostic and biological implications. *Mod Pathol*, 15, 2002, s. 1294-301.
- 201.** Rosai, J., Carcangiu, M. L., DeLellis, R. A.: *Tumors of the Thyroid Gland*. 3rd series, AFIP, Washington D.C., 1990.
- 202.** Rothbard, J. B., Brackenbury, R., Cunningham, B. A., Edelman, G. M.: Differences in the carbohydrate structures of neural cell-adhesion molecules from adult and embryonic chicken brains. *J Biol Chem*, 257, 1982, s. 11064-9.
- 203.** Rutishauser, U., Acheson, A., Hall, A. K., Mann, D. M., Sunshine, J.: The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell-cell interactions. *Science*, 240, 1988, s. 53-7.



- 204.** Saggiorato, E., Aversa, S., Deandreis, D. et al.: Galectin-3: presurgical marker of thyroid follicular epithelial cell-derived carcinomas. *J Endocrinol Invest*, 27, 2004, s. 311-7.
- 205.** Saggiorato, E., Cappia, S., De Giuli, P. et al.: Galectin-3 as a presurgical immunocyto-diagnostic marker of minimally invasive follicular thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 2001, s. 5152-8.
- 206.** Sahoo, S., Hoda, S. A., Rosai, J., DeLellis, R. A.: Cytokeratin 19 immunoreactivity in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: a note of caution. *Am J Clin Pathol*, 116, 2001, s. 696-702.
- 207.** Saito, T., Oda, Y., Sakamoto, A. et al.: Prognostic value of the preserved expression of the E-cadherin and catenin families of adhesion molecules and of beta-catenin mutations in synovial sarcoma. *J Pathol*, 192, 2000, s. 342-50.
- 208.** Sano, K., Tanihara, H., Heimark, R. L. et al.: Protocadherins: a large family of cadherin-related molecules in central nervous system. *EMBO J*, 12, 1993, s. 2249-56.
- 209.** Santoro, M., Papotti, M., Chiappetta, G. et al.: RET activation and clinicopathologic features in poorly differentiated thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 2002, s. 370-9.
- 210.** Sasaki, S., Bao, Q., Hughes, R. C.: Galectin-3 modulates rat mesangial cell proliferation and matrix synthesis during experimental glomerulonephritis induced by anti-Thy1.1 antibodies. *J Pathol*, 187, 1999, s. 481-9.
- 211.** Satta, M. A., Nanni, S., Della Casa, S., Pontecorvi, A.: Molecular biology of thyroid neoplasms. *Rays*, 25, 2000, s. 151-61.
- 212.** Savin, S. B., Cvejic, D. S., Jankovic, M. M.: Expression of galectin-1 and galectin-3 in human fetal thyroid gland. *J Histochem Cytochem*, 51, 2003, s. 479-83.
- 213.** Scheumman, G. F., Hoang-Vu, C., Cetin, Y. et al.: Clinical significance of E-cadherin as a prognostic marker in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*, 80, 1995, s. 2168-72.
- 214.** Schindler, A. M., van Melle, G., Evequoz, B., Scazziga, B.: Prognostic factors in papillary carcinoma of the thyroid. *Cancer*, 68, 1991, s. 324-30.

- 215.** Schoeppner, H. L., Raz, A., Ho, S. B., Bresalier, R. S.: Expression of an endogenous galactose-binding lectin correlates with neoplastic progression in the colon. *Cancer*, 75, 1995, s. 2818-26.
- 216.** Seki, H., Koyama, K., Tanaka, J., Sato, Y., Umezawa, A.: Neural cell adhesion molecule and perineural invasion in gallbladder cancer. *J Surg Oncol*, 58, 1995, s. 97-100.
- 217.** Seki, H., Tanaka, J., Sato, Y., Kato, Y., Umezawa, A., Koyama, K.: Neural cell adhesion molecule (NCAM) and perineural invasion in bile duct cancer. *J Surg Oncol*, 53, 1993, s. 78-83.
- 218.** Seve, A. P., Felin, M., Doyennette-Moyne, M. A., Sahraoui, T., Aubery, M., Hubert, J.: Evidence for a lactose-mediated association between two nuclear carbohydrate-binding proteins. *Glycobiology*, 3, 1993, s. 23-30.
- 219.** Shimazui, T., Oosterwijk-Wakka, J., Akaza, H. et al.: Alterations in expression of cadherin-6 and E-cadherin during kidney development and in renal cell carcinoma. *Eur Urol*, 38, 2000, s. 331-8.
- 220.** Shimoyama, Y., Shibata, T., Kitajima, M., Hirohashi, S.: Molecular cloning and characterization of a novel human classic cadherin homologous with mouse muscle cadherin. *J Biol Chem*, 273, 1998, s. 10011-8.
- 221.** Shimoyama, Y., Yoshida, T., Terada, M., Shimosato, Y., Abe, O., Hirohashi, S.: Molecular cloning of a human Ca<sup>2+</sup>-dependent cell-cell adhesion molecule homologous to mouse placental cadherin: its low expression in human placental tissues. *J Cell Biol*, 109, 1989, s. 1787-94.
- 222.** Shore, E. M., Nelson, W. J.: Biosynthesis of the cell adhesion molecule uvomorulin (E-cadherin) in Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *J Biol Chem*, 266, 1991, s. 19672-80.
- 223.** Sierk, A. E., Askin, F. B., Reddick, R. L., Thomas, C. G. Jr: Pediatric thyroid cancer. *Pediatr Pathol*, 10, 1990, s. 877-93.
- 224.** Sobrinho-Simoes, M., Preto, A., Rocha, A. S. et al.: Molecular pathology of well-differentiated thyroid carcinomas. *Virchows Arch*, 447, 2005, s. 787-93.

- 225.** Stappert, J., Kemler, R.: A short core region of E-cadherin is essential for catenin binding and is highly phosphorylated. *Cell Adhes Commun*, 2, 1994, s. 319-27.
- 226.** Stasiak, P. C., Purkis, P. E., Leigh, I. M., Lane, E. B.: Keratin 19: predicted amino acid sequence and broad tissue distribution suggest it evolved from keratinocyte keratins. *J Invest Dermatol*, 92, 1989, s. 707-16.
- 227.** Steelant, W. F., Goeman, J. L., Philippe, J. et al.: Alkyl-lysophospholipid 1-O-octadecyl-2-O-methyl-glycerophosphocholine induces invasion through episialin-mediated neutralization of E-cadherin in human mammary MCF-7 cells in vitro. *Int J Cancer*, 92, 2001, s. 527-36.
- 228.** Strelkov, S. V., Herrmann, H., Aebi, U.: Molecular architecture of intermediate filaments. *Bioessays*, 25, 2003, s. 243-51.
- 229.** Takenaka, Y., Inohara, H., Yoshii, T. et al.: Malignant transformation of thyroid follicular cells by galectin-3. *Cancer Lett*, 195, 2003, s. 111-9.
- 230.** Tallini, G., Carcangiu, M. L., Rosai, J.: Oncocytic neoplasms of the thyroid gland. *Acta Pathol Jpn*, 42, 1992, s. 305-15.
- 231.** Tamai, Y., Ishikawa, T., Bosl, M. R. et al.: Cytokeratins 8 and 19 in the mouse placental development. *J Cell Biol*, 151, 2000, s. 563-72.
- 232.** Tanihara, H., Sano, K., Heimark, R. L., St John, T., Suzuki, S.: Cloning of five human cadherins clarifies characteristic features of cadherin extracellular domain and provides further evidence for two structurally different types of cadherin. *Cell Adhes Commun*, 2, 1994, s. 15-26.
- 233.** Tennvall, J., Lundell, G., Wahlberg, P. et al.: Anaplastic thyroid carcinoma: three protocols combining doxorubicin, hyperfractionated radiotherapy and surgery. *Br J Cancer*, 86, 2002, s. 1848-53.
- 234.** Tezel, E., Kawase, Y., Takeda, S., Oshima, K., Nakao, A.: Expression of neural cell adhesion molecule in pancreatic cancer. *Pancreas*, 22, 2001, s. 122-5.
- 235.** Theodosis, D. T., Rougon, G., Poulain, D. A.: Retention of embryonic features by an adult neuronal system capable of plasticity: polysialylated neural

cell adhesion molecule in the hypothalamo-neurohypophysial system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88, 1991, s. 5494-8.

**236.** They, C., Boussac, M., Veron, P. et al.: Proteomic analysis of dendritic cell-derived exosomes: a secreted subcellular compartment distinct from apoptotic vesicles. *J Immunol*, 166, 2001, s. 7309-18.

**237.** Thiery, J. P., Brackenbury, R., Rutishauser, U., Edelman, G. M.: Adhesion among neural cells of the chick embryo. II. Purification and characterization of a cell adhesion molecule from neural retina. *J Biol Chem*, 252, 1977, s. 6841-5.

**238.** Tomasiewicz, H., Ono, K., Yee, D. et al.: Genetic deletion of a neural cell adhesion molecule variant (N-CAM-180) produces distinct defects in the central nervous system. *Neuron*, 11, 1993, s. 1163-74.

**239.** Van Aelst, L., D'Souza-Schorey, C.: Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev*, 11, 1997, s. 2295-322.

**240.** Van Aken, E., De Wever, O., Correia da Rocha, A. S., Mareel, M.: Defective E-cadherin/catenin complexes in human cancer. *Virchows Arch*, 439, 2001, s. 725-51.

**241.** van den Brule, F. A., Berchuck, A., Bast, R. C. et al.: Differential expression of the 67-kD laminin receptor and 31-kD human laminin-binding protein in human ovarian carcinomas. *Eur J Cancer*, 30A, 1994, s. 1096-9.

**242.** van den Brule, F. A., Buicu, C., Berchuck, A. et al.: Expression of the 67-kD laminin receptor, galectin-1, and galectin-3 in advanced human uterine adenocarcinoma. *Hum Pathol*, 27, 1996, s. 1185-91.

**243.** Van den Brule, F. A., Fernandez, P. L., Buicu, C. et al.: Differential expression of galectin-1 and galectin-3 during first trimester human embryogenesis. *Dev Dyn*, 209, 1997, s. 399-405.

**244.** van den Brule, F. A., Waltregny, D., Liu, F. T., Castronovo, V.: Alteration of the cytoplasmic/nuclear expression pattern of galectin-3 correlates with prostate carcinoma progression. *Int J Cancer*, 89, 2000, s. 361-7.

**245.** van Hengel, J., Gohon, L., Bruyneel, E. et al.: Protein kinase C activation upregulates intercellular adhesion of alpha-catenin-negative human colon cancer cell variants via induction of desmosomes. *J Cell Biol*, 137, 1997, s. 1103-16.

- 246.** Vargas, F., Tolosa, E., Sospedra, M. et al.: Characterization of neural cell adhesion molecule (NCAM) expression in thyroid follicular cells: induction by cytokines and over-expression in autoimmune glands. *Clin Exp Immunol*, 98, 1994, s. 478-88.
- 247.** Vawter, M. P.: Dysregulation of the neural cell adhesion molecule and neuropsychiatric disorders. *Eur J Pharmacol*, 405, 2000, s. 385-95.
- 248.** Vawter, M. P., Cannon-Spoor, H. E., Hemperly, J. J. et al.: Abnormal expression of cell recognition molecules in schizophrenia. *Exp Neurol*, 149, 1998, s. 424-32.
- 249.** Volante, M., Bozzalla-Cassione, F., DePompa, R. et al.: Galectin-3 and HBME-1 expression in oncocytic cell tumors of the thyroid. *Virchows Arch*, 445, 2004, s. 183-8.
- 250.** Volante, M., Bozzalla-Cassione, F., Orlandi, F., Papotti, M.: Diagnostic role of galectin-3 in follicular thyroid tumors. *Virchows Arch*, 444, 2004, s. 309-12.
- 251.** Volberg, T., Zick, Y., Dror, R. et al.: The effect of tyrosine-specific protein phosphorylation on the assembly of adherens-type junctions. *EMBO J*, 11, 1992, s. 1733-42.
- 252.** von Wasielewski, R., Rhein, A., Werner, M. et al.: Immunohistochemical detection of E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas correlates with clinical outcome. *Cancer Res*, 57, 1997, s. 2501-7.
- 253.** Vyakarnam, A., Dagher, S. F., Wang, J. L., Patterson, R. J.: Evidence for a role for galectin-1 in pre-mRNA splicing. *Mol Cell Biol*, 17, 1997, s. 4730-7.
- 254.** Wang, J., Krill, D., Torbenson, M. et al.: Expression of cadherins and catenins in paired tumor and non-neoplastic primary prostate cultures and corresponding prostatectomy specimens. *Urol Res*, 28, 2000, s. 308-15.
- 255.** Wang, J. L., Werner, E. A., Laing, J. G., Patterson, R. J.: Nuclear and cytoplasmic localization of a lectin-ribonucleoprotein complex. *Biochem Soc Trans*, 20, 1992, s. 269-74.
- 256.** Wang, L., Inohara, H., Pienta, K. J., Raz, A.: Galectin-3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 217, 1995, s. 292-303.

- 257.** Warfield, P. R., Makker, P. N., Raz, A., Ochieng, J.: Adhesion of human breast carcinoma to extracellular matrix proteins is modulated by galectin-3. *Invasion Metastasis*, 17, 1997, s. 101-12.
- 258.** Wedegaertner, P. B., Wilson, P. T., Bourne, H. R.: Lipid modifications of trimeric G proteins. *J Biol Chem*, 270, 1995, s. 503-6.
- 259.** Williams, C. L., Hayes, V. Y., Hummel, A. M., Tarara, J. E., Halsey, T. J.: Regulation of E-cadherin-mediated adhesion by muscarinic acetylcholine receptors in small cell lung carcinoma. *J Cell Biol*, 121, 1993, s. 643-54.
- 260.** Woolner, L. B.: Thyroid carcinoma: pathologic classification with data on prognosis. *Semin Nucl Med*, 1, 1971, s. 481-502.
- 261.** Yang, R. Y., Hill, P. N., Hsu, D. K., Liu, F. T.: Role of the carboxyl-terminal lectin domain in self-association of galectin-3. *Biochemistry (Mosc)*, 37, 1998, s. 4086-92.
- 262.** Yang, R. Y., Hsu, D. K., Liu, F. T.: Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 1996, s. 6737-42.
- 263.** Yap, A. S., Briehner, W. M., Gumbiner, B. M.: Molecular and functional analysis of cadherin-based adherens junctions. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 13, 1997, s. 119-46.
- 264.** Yap, A. S., Briehner, W. M., Pruschy, M., Gumbiner, B. M.: Lateral clustering of the adhesive ectodomain: a fundamental determinant of cadherin function. *Curr Biol*, 7, 1997, s. 308-15.
- 265.** Yap, A. S., Stevenson, B. R., Keast, J. R., Manley, S. W.: Cadherin-mediated adhesion and apical membrane assembly define distinct steps during thyroid epithelial polarization and lumen formation. *Endocrinology*, 136, 1995, s. 4672-80.
- 266.** Yoshii, T., Fukumori, T., Honjo, Y., Inohara, H., Kim, H. R., Raz, A.: Galectin-3 phosphorylation is required for its anti-apoptotic function and cell cycle arrest. *J Biol Chem*, 277, 2002, s. 6852-7.
- 267.** Yu, F., Finley, R. L. Jr, Raz, A., Kim, H. R.: Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome c release from the mitochondria.

A role for synexin in galectin-3 translocation. *J Biol Chem*, 277, 2002, s. 15819-27.

**268.** Zeromski, J., Bagnasco, M., Paolieri, F., Dworacki, G.: Expression of CD56 (NKH-1) differentiation antigen in human thyroid epithelium. *Clin Exp Immunol*, 89, 1992, s. 474-8.

**269.** Zeromski, J., Biczysko, M., Stajgis, P., Lawniczak, M., Biczysko, W.: CD56(NCAM) antigen in glandular epithelium of human thyroid: light microscopic and ultrastructural study. *Folia Histochem Cytobiol*, 37, 1999, s. 11-7.

**270.** Zeromski, J., Jenek, R., Niemir, Z., Liebert, W.: CD 56 (N-CAM) antigen and mRNA expression in human endocrine glands. *Adv Exp Med Biol*, 495, 2001, s. 335-9.

**271.** Zocchi, M. R., Ferrero, E., Toninelli, E., Castellani, P., Poggi, A., Rugarli, C.: Expression of N-CAM by human renal cell carcinomas correlates with growth rate and adhesive properties. *Exp Cell Res*, 214, 1994, s. 499-509.

## 9. Seznam tabulek a grafů

### Seznam tabulek

- Tab. 1: Incidence maligních nádorů štítné žlázy v České republice  
(na 100 000 obyvatel) – str. 8
- Tab. 2: WHO klasifikace nádorů štítné žlázy – str. 10
- Tab. 3: TNM klasifikace zhoubných nádorů štítné žlázy  
dle WHO klasifikace 2004 (57) – str. 22
- Tab. 4: Rozdělení zhoubných nádorů štítné žlázy do klinických stádií  
dle WHO klasifikace 2004 (57) – str. 23
- Tab. 5: Rozdělení nádorů štítné žlázy do skupin a podskupin – str. 62
- Tab. 6: Další zkoumané charakteristiky – str. 63
- Tab. 7: Přehled použitých primárních protilátek – str. 64
- Tab. 8: Popis imunohistochemického vyšetření – str. 64
- Tab. 9: Hodnocení exprese markerů nádorovými buňkami – str. 65
- Tab. 10: Absolutní a procentuální zastoupení jednotlivých skupin  
a podskupin studovaných nádorů – str. 67
- Tab. 11: Charakteristika skupiny PC - J – str. 68
- Tab. 12: Charakteristika jednotlivých skupin nádorů podle pohlaví – str. 69
- Tab. 13: Charakteristika jednotlivých skupin nádorů podle let věku – str. 70
- Tab. 14: Charakteristika jednotlivých skupin nádorů  
podle velikosti (mm) – str. 71
- Tab. 15: Růst mimo štítnou žlázu u jednotlivých skupin maligních  
nádorů – str. 72
- Tab. 16.: Angioinvaze u jednotlivých skupin maligních non-medulárních  
nádorů – str. 73
- Tab. 17: Výskyt metastáz u jednotlivých skupin maligních nádorů – str. 74
- Tab. 18: Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících gal3 – str. 77
- Tab. 19: Intenzita exprese gal3 v nádorech – str. 78
- Tab. 20: Histoskóre gal3 v nádorech – str. 79

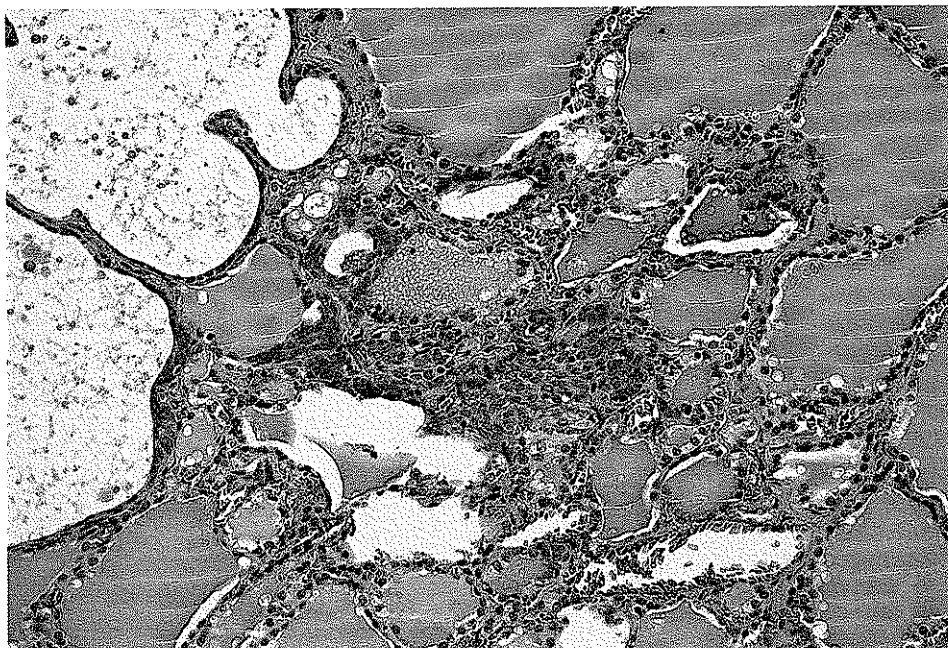


- Tab. 21: Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících CK 19 – str. 80
- Tab. 22: Intenzita exprese CK 19 v nádorech – str. 81
- Tab. 23: Histoskóre CK 19 v nádorech – str. 82
- Tab. 24: Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících NCAM – str. 83
- Tab. 25: Intenzita exprese NCAM v nádorech – str. 84
- Tab. 26: Histoskóre NCAM v nádorech – str. 85
- Tab. 27: Semikvantitativní počet nádorových buněk exprimujících Ecad – str. 86
- Tab. 28: Intenzita exprese Ecad v nádorech – str. 87
- Tab. 29: Histoskóre Ecad v nádorech – str. 89
- Tab. 30: Prediktivní charakteristiky exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad pro dg. malignity – str. 89
- Tab. 31: Prediktivní charakteristiky intenzity exprese gal3, CK 19, NCAM a Ecad pro dg. malignity – str. 90
- Tab. 32: Prediktivní charakteristiky histoskóre gal3, CK 19, NCAM a Ecad pro dg. malignity – str. 91
- Tab. 33: Statistická souvislost mezi růstem nádoru mimo štítnou žlázu a expresí, intenzitou exprese a hodnotami histoskóre jednotlivých markerů – str. 92
- Tab. 34: Statistický rozdíl v expresi, intenzitě exprese a v histoskóre markerů mezi PC – F oproti FA a FC – str. 95

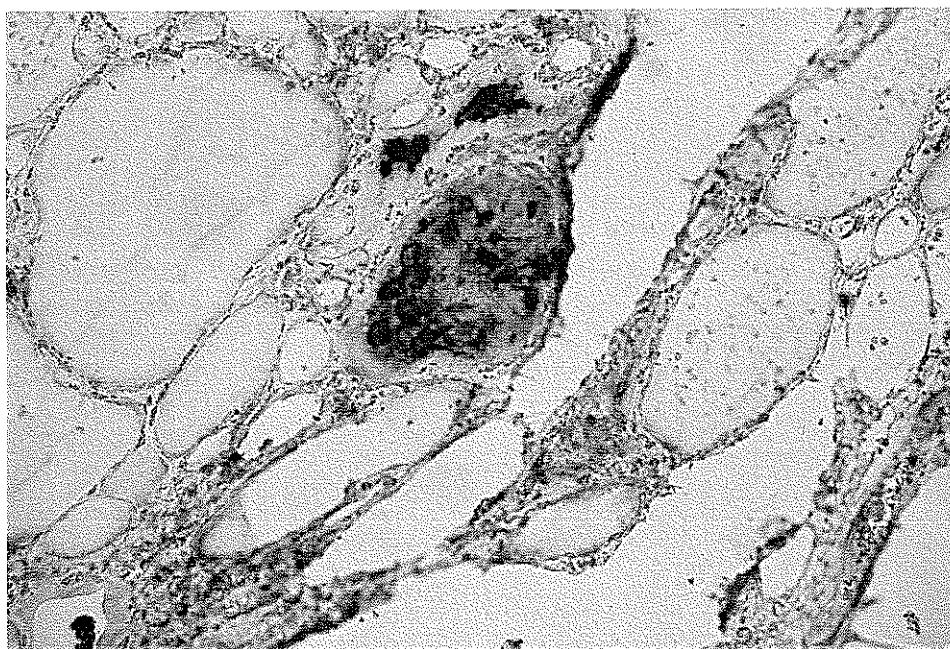
### Seznam grafů

- Graf 1: Histoskóre gal3 v nádorech – str. 79
- Graf 2: Histoskóre CK 19 v nádorech – str. 82
- Graf 3: Histoskóre NCAM v nádorech – str. 85
- Graf 4: Histoskóre Ecad v nádorech – str. 88

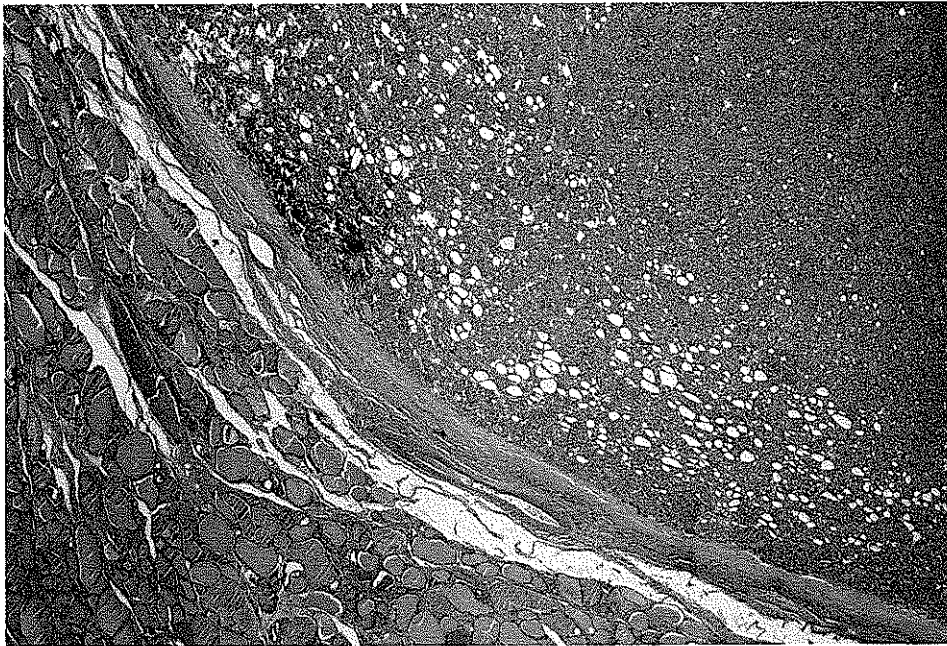
## 10. Fotodokumentace



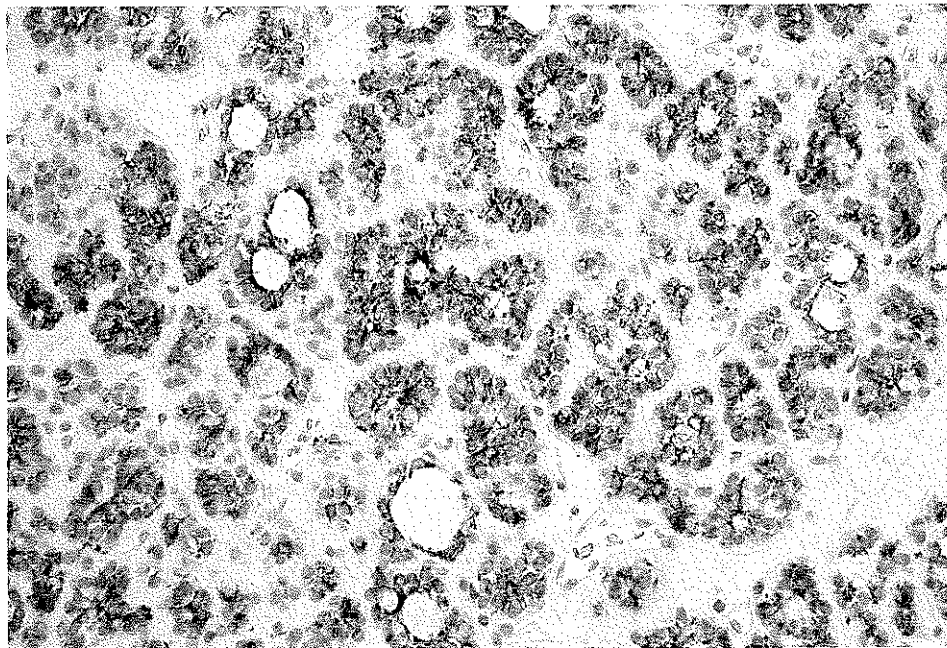
Obr. 1: Cysticky dilatovaná solidní buněčná hnízda (vlevo nahoře).



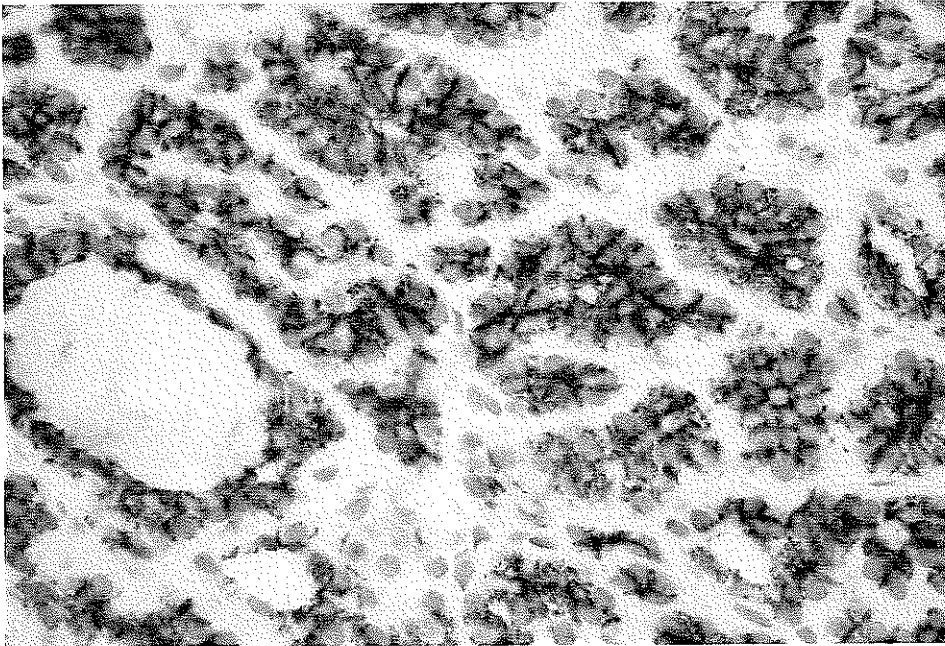
Obr. 2: Silná exprese gal3 v solidním buněčném hnízdu.



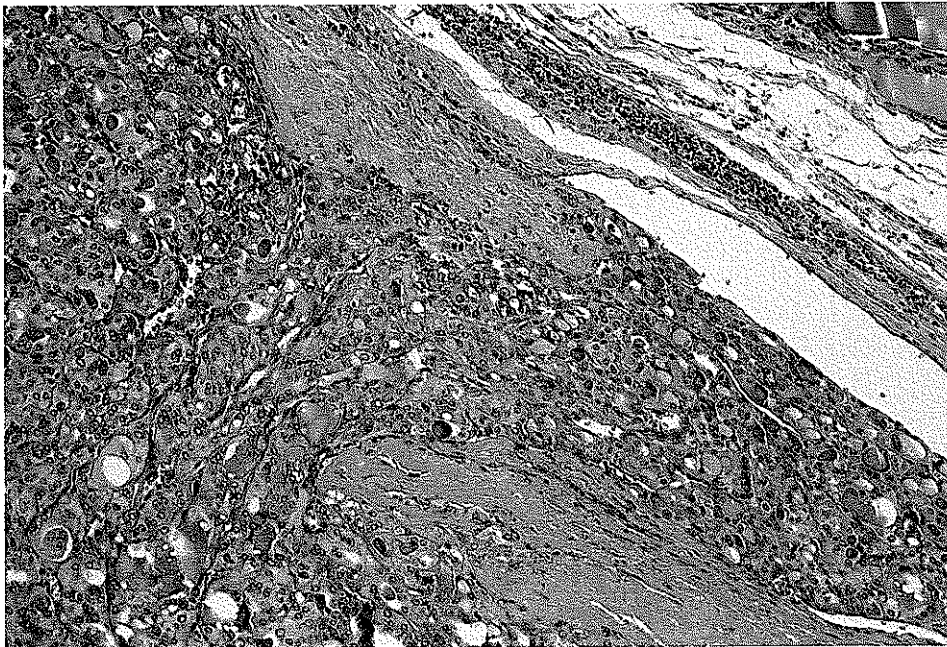
Obr. 3: Folikulární adenom obdán tenkým vazivovým pouzdrém. Vlevo dole normální parenchym štítné žlázy.



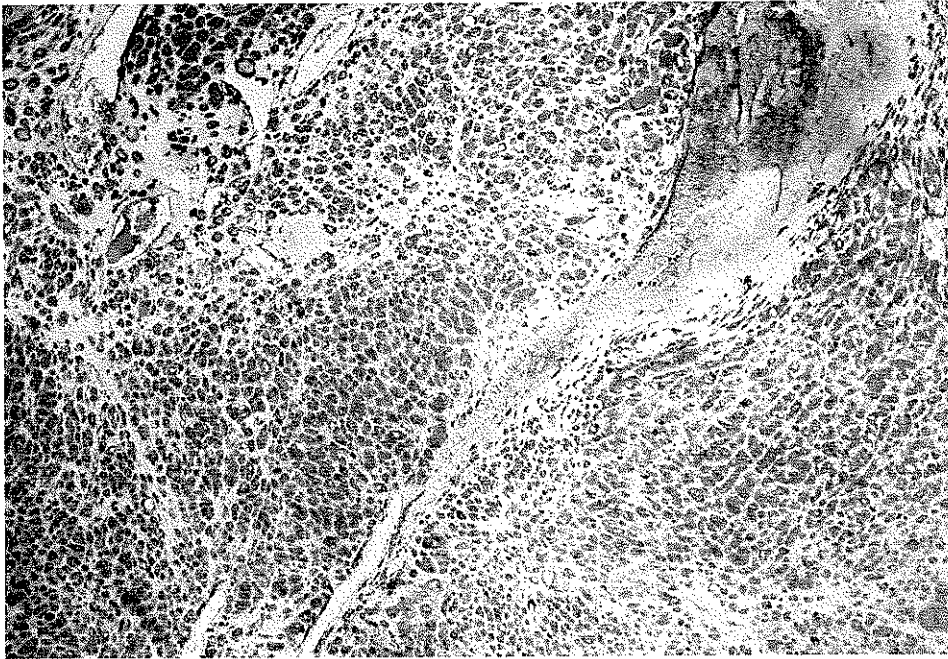
Obr. 4: Silná difúzní membránová exprese NCAM ve folikulárním adenomu (histoskóre 15).



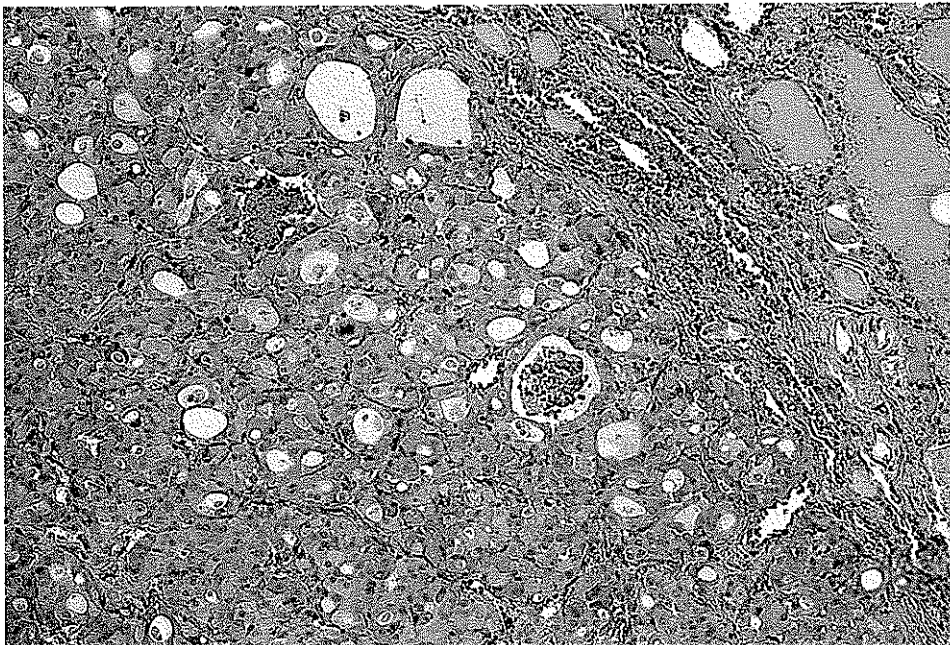
Obr. 5: Silná difúzní membránová exprese Ecad ve folikulárním adenomu (histoskóre 15).



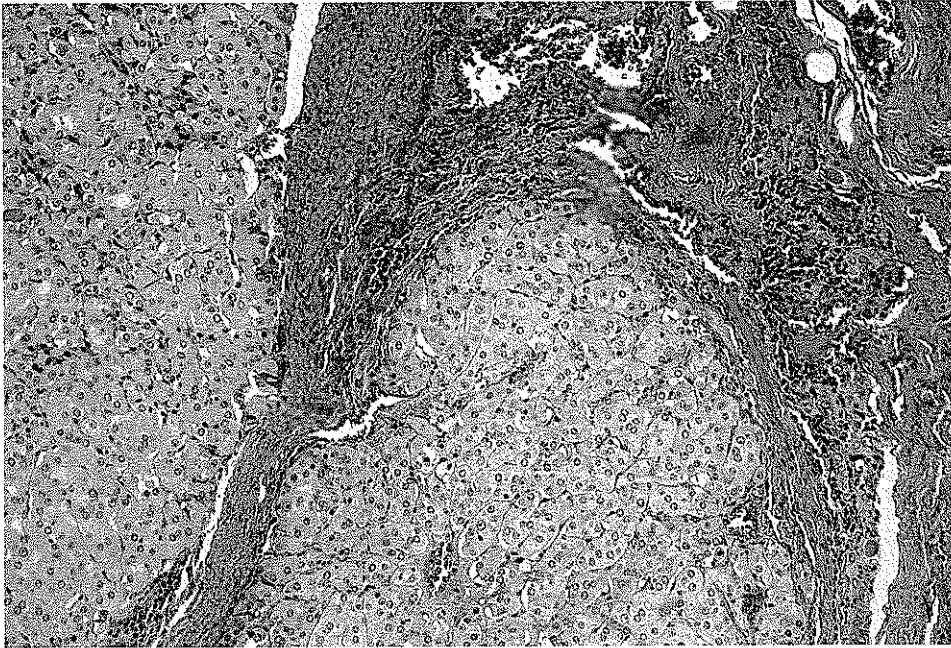
Obr. 6: Kompletní transkapsulární invaze nádorových buněk minimálně invazivního folikulárního karcinomu.



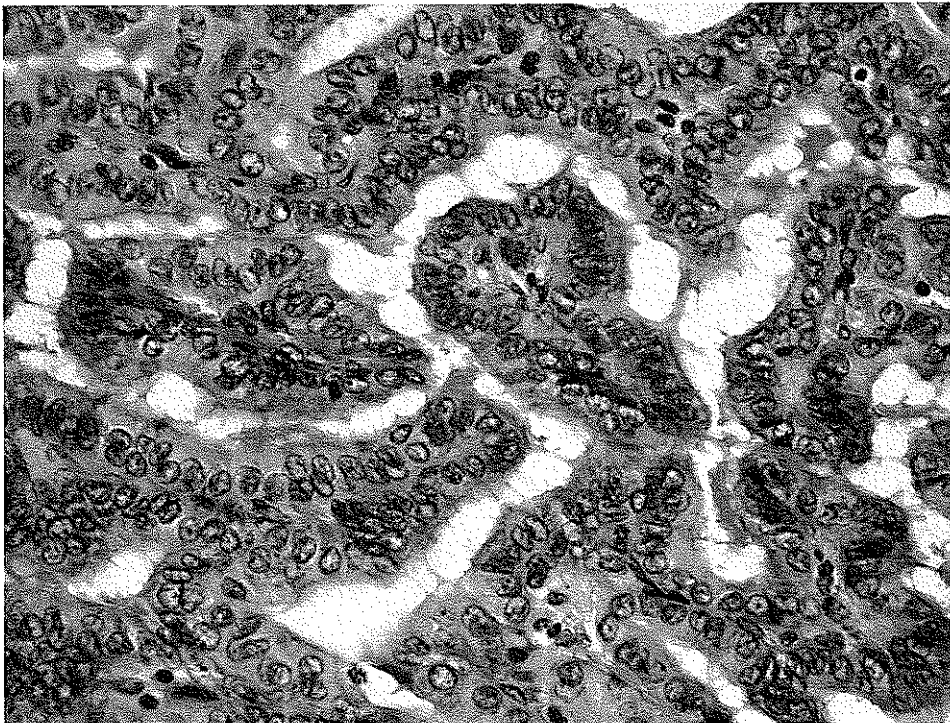
Obr. 7: Silná difúzní exprese gal3 nádorovými buňkami folikulárního karcinomu (histoskóre 15).



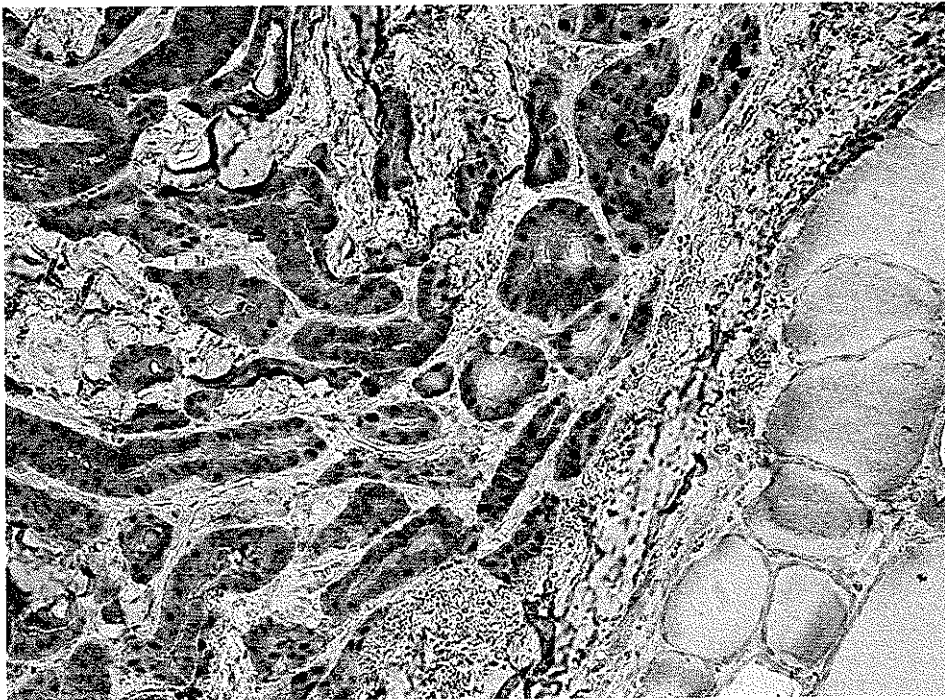
Obr. 8: Onkocytární adenom mikro- až normofolikulární úpravy.



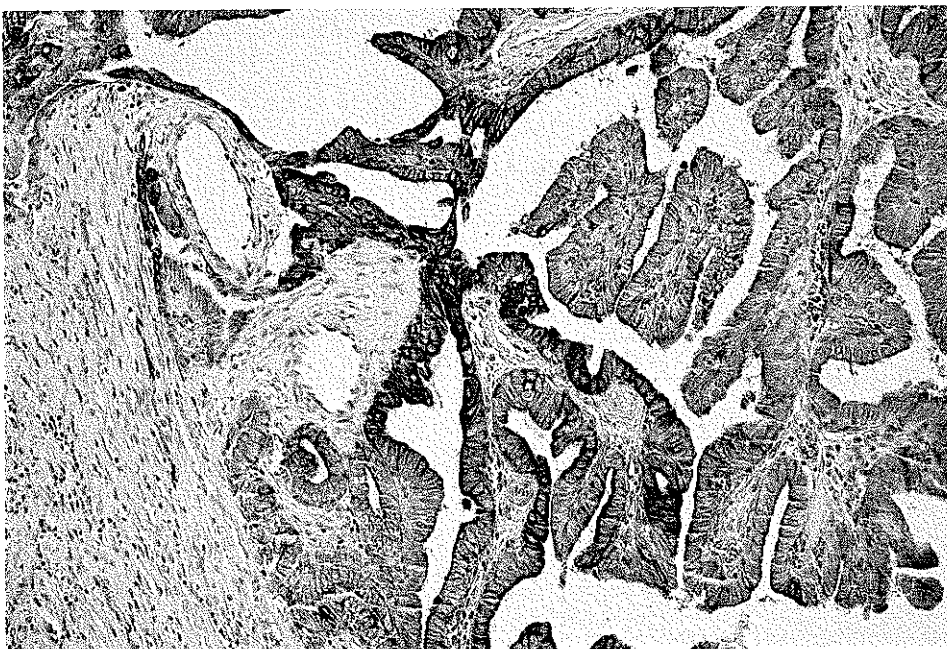
Obr. 9: Onkocytární karcinom (vlevo) s čepem prorůstajícím okolní parenchym (v centru).



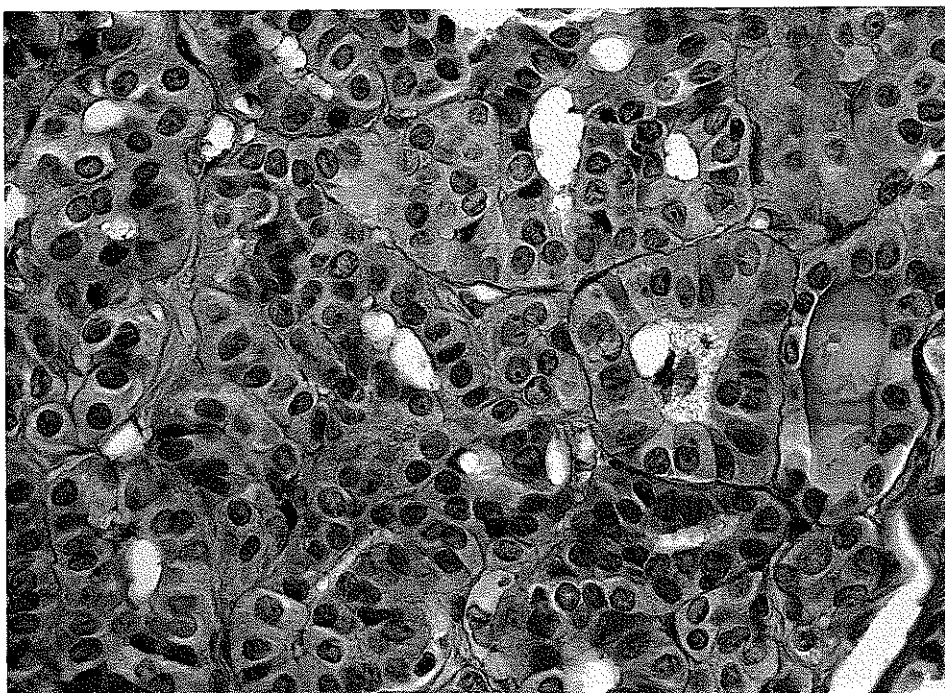
Obr. 10: Klasická varianta papilárního karcinomu.



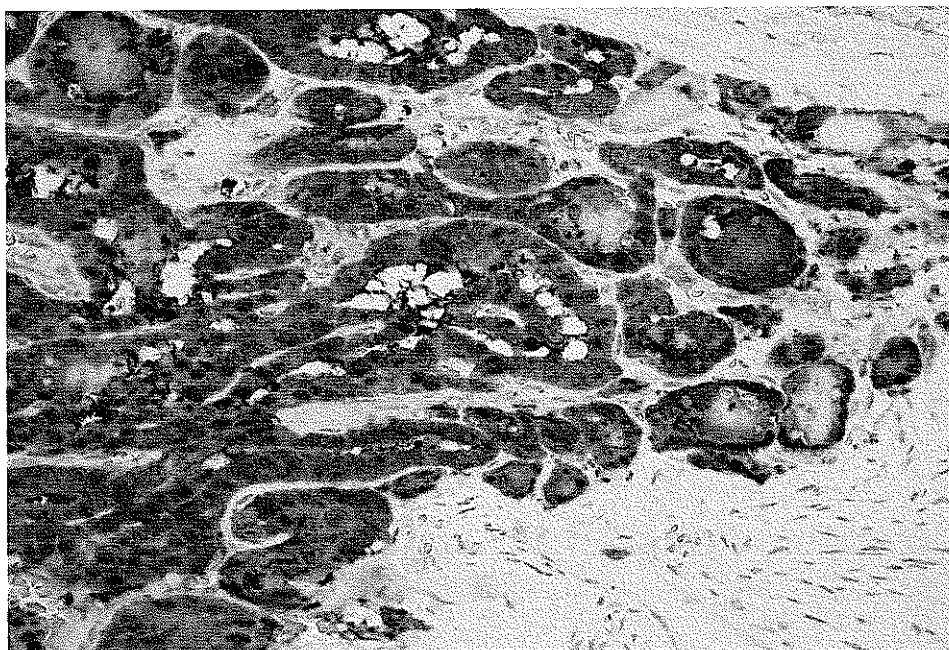
Obr. 11: Silná difúzní exprese gal3 v papilárním karcinomu (histoskóre 15). Vpravo normální parenchym štítné žlázy se slabou pozitivitou koloidu v těsném sousedství nádoru.



Obr. 12: Variabilní, ložiskově silná exprese CK 19 v klasické variantě papilárního karcinomu (histoskóre 10).

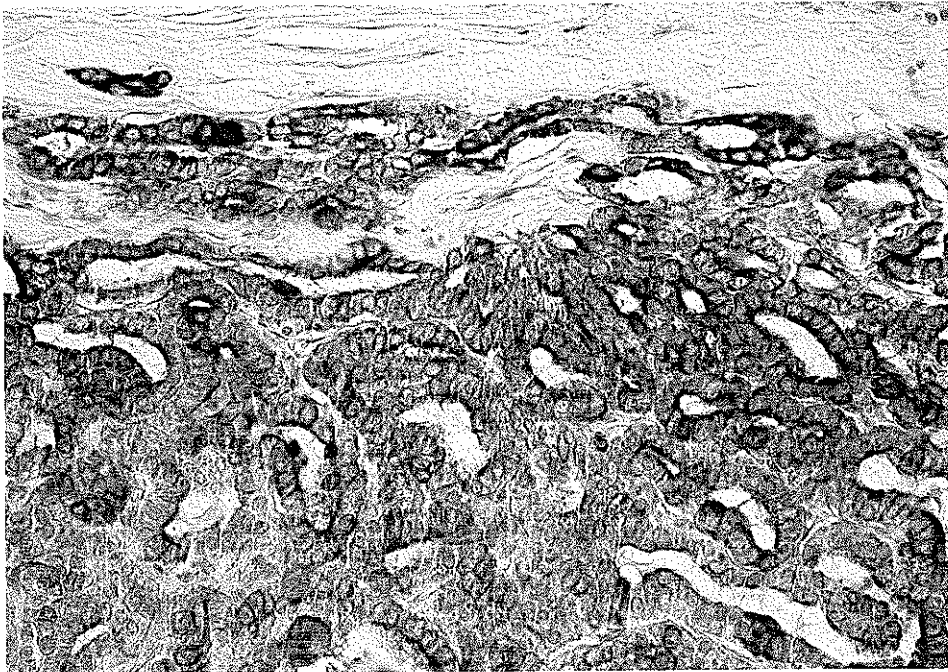


Obr. 13: Folikulární varianta papilárního karcinomu.

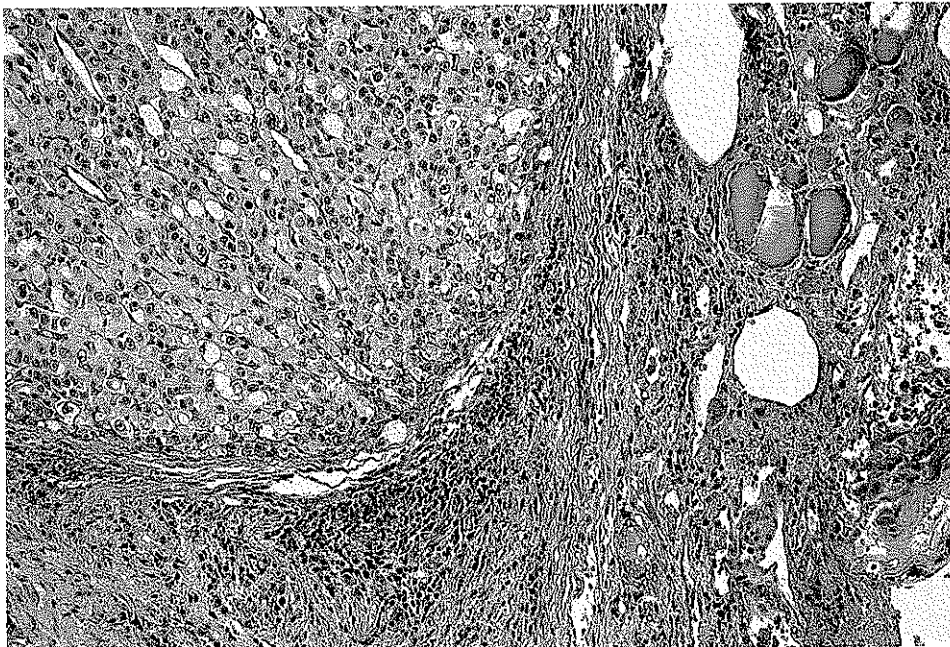


Obr. 14: Silná difúzní exprese gal3 ve folikulární variantě papilární karcinomu (histoskóre 15).

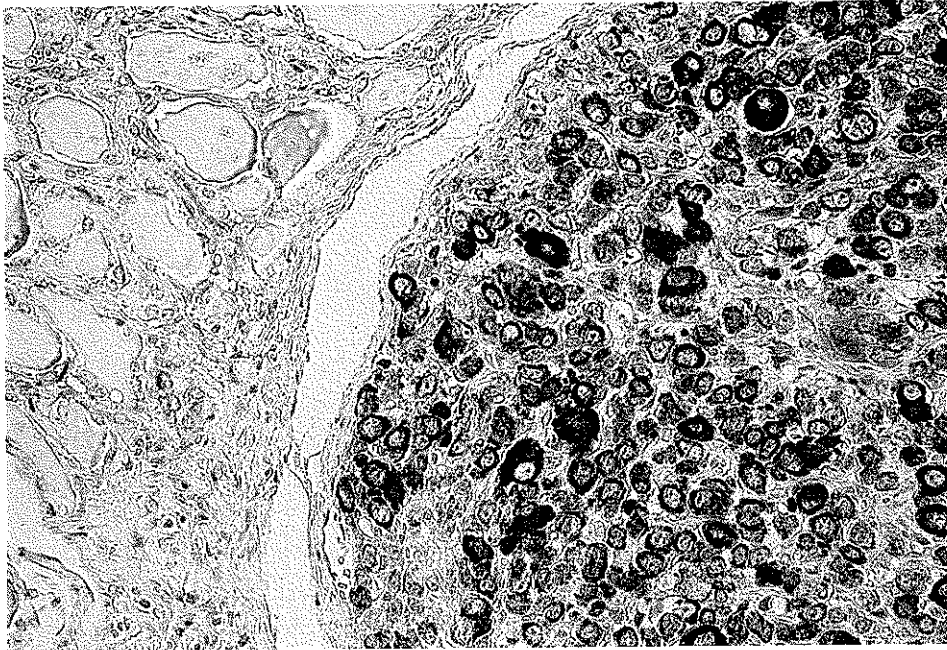




Obr. 15: Středně silná až silná exprese CK 19 ve folikulární variantě papilárního karcinomu (histoskóre 12).



Obr. 16: Nádorový čep medulárního karcinomu. Vpravo normální parenchym štítné žlázy.



Obr. 17: Silná difúzní exprese gal3 v nádorových buňkách medulárního karcinomu (histoskóre 15). Vlevo negativní normální parenchym štítné žlázy.

## 11. Poděkování

*Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906.*

*Postgraduální studium doktoranda bylo finančně podpořeno Nadací "Nadání Josefa, Marie a Zdeňky Hlávkových".*

Závěrem bych chtěl poděkovat všem, kteří mi byli v průběhu celého doktorského studia zakončeného touto disertační prací nápomocni. Můj dík patří v první řadě přednostovi Fingerlandova ústavu patologie prof. MUDr. I. Šteinerovi, CSc., který mi umožnil doktorské studium na ústavu a přispěl cennými připomínkami k závěrečné podobě této disertační práce. Nemenší dík patří mému školiteli doc. MUDr. A. Ryškovi, Ph.D, který mi byl kdykoli během studia ochoten přispět dobrou radou. Dík patří také všem ostatním kolegům z Fingerlandova ústavu patologie za pozitivní stimulaci během celého studia. RNDr. E. Čermákové bych chtěl poděkovat za ochotnou spolupráci při statistické analýze dat.

Tato práce by nikdy nemohla vzniknout bez vstřícného postoje a ochotné spolupráce laborantek bioptické a imunohistochemické laboratoře Fingerlandova ústavu patologie pracujících pod vedením pí. J. Herelové a pí. B. Špicarové, stejně jako by nemohla vzniknout bez spolupráce pracovníků archivu Fingerlandova ústavu patologie, především pí. E. Šiškové. Všem patří moje poděkování.

Můj největší dík však patří mým nejbližším – mé rodině, za obdivuhodnou toleranci a pochopení pro mé časové zaneprázdnění a občasné chvíle trdomyslnosti v průběhu doktorského studia.

*Tuto disertační práci věnuji své přítelkyni Míše.*