

# Genetikai tényezők vizsgálata a pajzsmirigy-rák kialakulásában

Doktori értekezés

**Dr. Halászlaki Csaba**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Programvezető: Dr. Lakatos Péter, az MTA doktora, egyetemi tanár  
Témavezető: Dr. Takács István, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Reismann Péter, Ph.D., egyetemi tanársegéd,  
Dr. Lőcsei Zoltán, Ph.D., osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Tóth Miklós, az MTA doktora, egyetemi tanár  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Kovács László, Ph.D., c. egyetemi docens,  
Dr. Szücs Nikolette, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest  
2015

## Tartalomjegyzék

Ábrák jegyzéke.....	4
Táblázatok jegyzéke.....	6
Rövidítések jegyzéke.....	7
<b>1 Bevezetés.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1 A pajzsmirigytmorok áttekintése.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.1 A pajzsmirigytmorok etiopatogenezise.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1.1.1 A pajzsmirigyrák-típusok genetikája.....</b>	<b>13</b>
1.1.1.1.1 BRAF.....	14
1.1.1.1.2 RAS.....	15
1.1.1.1.3 RET/PTC.....	17
1.1.1.1.4 PAX8/ PPAR- $\gamma$ .....	18
<b>1.1.2 A pajzsmirigytmorok epidemiológiája.....</b>	<b>20</b>
<b>1.1.3 A pajzsmirigytmorok klinikai képe.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.3.1 Papillaris carcinoma.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.3.2 Follicularis carcinoma.....</b>	<b>22</b>
<b>1.1.3.3 Rosszul differenciált pajzsmirigy carcinoma.....</b>	<b>23</b>
<b>1.1.3.4 Anaplasticus carcinoma.....</b>	<b>23</b>
<b>1.1.3.5 Medullaris carcinoma.....</b>	<b>24</b>
<b>1.1.4 A pajzsmirigytmorok diagnóza.....</b>	<b>25</b>
<b>1.1.5 A pajzsmirigytmorok kezelése.....</b>	<b>29</b>
<b>1.1.6 A pajzsmirigytmorok prognóza és gondozása.....</b>	<b>32</b>
<b>2 Célkitűzések.....</b>	<b>34</b>
<b>3 Módszerek.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1 Vizsgált betegek.....</b>	<b>35</b>

3.2	Nukleinsav izolálás .....	37
3.3	Szomatikus onkogén génmutációk vizsgálata .....	38
3.4	Szomatikus onkogén génátrendeződések vizsgálata.....	39
3.5	Statisztika .....	40
4	Eredmények.....	42
4.1	Szomatikus BRAF génmutáció vizsgálata benignus pajzsmirigyöbökben .....	42
4.1.1	A BRAF mutáció és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése....	44
4.2	Szomatikus RAS géncsalád (HRAS, NRAS, KRAS) mutációinak vizsgálata benignus pajzsmirigyöbökben .....	45
4.2.1	A RAS mutáció és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése .....	47
4.3	Szomatikus RET/PTC génátrendeződés vizsgálata benignus pajzsmirigyöbökben .....	47
4.3.1	A RET/PTC átrendeződés és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése .....	47
4.4	Szomatikus PAX8/PPAR- $\gamma$ génátrendeződés vizsgálata benignus pajzsmirigyöbökben .....	48
4.5	Több éves betegkövetés alapján a genetikai eltérések diagnosztikus eszközként való alkalmazásának biostatistikai elemzése .....	49
4.5.1	Egy éves követés .....	49
4.5.2	Két éves követés.....	50
4.5.3	Három éves követés .....	51
5	Megbeszélés .....	55
5.1	Szomatikus géneltérések vizsgálata benignus pajzsmirigyöbökben.....	58
5.2	Szomatikus géneltérések és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése .....	59
5.3	Több éves betegkövetés alapján a genetikai eltérések diagnosztikus eszközként való alkalmazásának biostatistikai elemzése .....	65

<b>6</b>	<b>Következtetések .....</b>	<b>69</b>
<b>6.1</b>	<b>Új eredmények .....</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Összefoglalás .....</b>	<b>71</b>
<b>8</b>	<b>Irodalomjegyzék .....</b>	<b>73</b>
<b>9</b>	<b>Saját publikációk jegyzéke .....</b>	<b>83</b>
<b>10</b>	<b>Köszönetnyilvánítás .....</b>	<b>85</b>
	<b>Melléklet .....</b>	<b>86</b>

**Ábrák jegyzéke**

I. ábra: A BRAF fehérje szerepe a tumorigenesisben.....	14
II. ábra: Jelátviteli utak szerepe differenciált carcinomában.....	16
III. ábra: Papillaris carcinoma.....	21
IV. ábra: Follicularis carcinoma.....	22
V. ábra: A követési szakaszok bemutatása.....	36
VI. ábra: BRAF mutáció olvadáspont görbéje.....	38
VII. ábra: HRAS mutáció olvadáspont görbéje.....	39
VIII. ábra: NRAS mutáció olvadáspont görbéje.....	39
IX. ábra: RET/PTC1 génátrendeződés expressziós képe.....	40
X. ábra: BRAF génmutáció a vizsgált göbökben egy év után.....	42
XI. ábra: BRAF génmutáció a vizsgált göbökben két év után.....	43
XII. ábra: BRAF génmutáció a vizsgált göbökben három év után.....	43
XIII. ábra: A rosszindulatú daganatok megoszlása egy éves követés alatt ...	44
XIV. ábra: RAS géncsalád mutációi a vizsgált göbökben egy év után.....	45
XV. ábra: RAS géncsalád mutációi a vizsgált göbökben két év után.....	46
XVI. ábra: RAS géncsalád mutációi a jóindulatú göbökben három év után..	46
XVII. ábra: Kapcsolat a molekuláris genetikai teszt és a rosszindulatú átalakulás között 1 év után.....	49
XVIII. ábra: Kapcsolat a molekuláris genetikai teszt és a rosszindulatú átalakulás között 2 év után.....	50
XIX. ábra: Kapcsolat a molekuláris genetikai teszt és a rosszindulatú átalakulás között 3 év után.....	51

XX ábra: Statisztikai jellemzők bemutatása a három éves követés alapján...	52
XXI. ábra: Szenzitivitas összehasonlítása a papillaris carcinomát és az összes rosszindulatú daganatot tekintve.....	52
XXII. ábra: A rosszindulatú pajzsmirigydaganatok prevalenciája.....	53
XXIII. ábra: Prevalenciától független arányok.....	53
XXIV. ábra: Prevalenciától erősen függő mutatók.....	54
XXV. ábra: Célzott terápia a BRAF jelátvitelben.....	63

## Táblázatok jegyzéke

I. táblázat: A rosszindulatú pajzsmirigydaganatok osztályozása .....	10
II. táblázat: A pajzsmirigyrákok TNM beosztása (2002) .....	11
III. táblázat: Pajzsmirigyrák stádiumai (I-IV) .....	12
IV. táblázat: A pajzsmirigyrákok génmutációi .....	19
V. táblázat: Thyroid Imaging Reporting and Data System (TIRADS) /USA/ .....	27
VI. táblázat: Bethesda citológiai felosztás .....	30
VII. táblázat: 779 beteg/minta jellegzetessége .....	37
VIII. táblázat: Fogalmak a vizsgálati eredmények diagnosztikus értékeléséhez .....	41

**Rövidítések jegyzéke**

AJCC	American Joint Committee on Cancer
AKT	proteinkináz B
AUS	nem meghatározható jelentőségű atípia
BRAF	V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
BSA	bovine serum albumin
cAMP	ciklikus adenzin monofoszfát
CCDC6	coiled-coil domain containing 6
CRAF	V-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1
CT	komputertomográfia
DNS	deoxiribonukleinsav
ERK	extracelluláris jel hatására aktivált kináz
FDG-PET	fluorodeoxiglükóz (18F) -pozitronemissziós tomográfia
FLUS	nem meghatározható jelentőségű follicularis lézió
FNAB	vékonytű aspiráció (fine needle aspiration biopsy)
FTC	follicularis carcinoma (follicular thyroid cancer)
GDP	guanozin-difoszfát
GDP	bruttó hazai termék
GEC	gene expression classifier
GEF	guanine nucleotide exchange factor
GMP	gene mutation panel
GRB2	növekedési faktor receptor-kötő protein 2
GTP	guanozin-trifoszfát
HRAS	Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
MAPK	mitogénaktivált proteinkináz
MAPKK	mitogénaktivált proteinkináz kináz
MEK	mitogénaktivált proteinkináz kináz
MEN	multiplex endokrin neoplasia



MIBG	<sup>131</sup> I-meta- jodo-benzil-guanidin
MIBI	methoxy-isobutyl-isonitrile
MRI	mágneses rezonancia vizsgálat
mRNA	messenger ribonukleinsav
NGS	Következő Generációs Szekvenálási Technikák
NRAS	neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog
PAX8	paired box 8
PBS	foszfáttal puffereelt sóoldat (phosphate-buffered saline)
PCR	polimeráz láncreakció
PDGFR	vérlemezke eredetű növekedési faktor receptor
PI3	foszfatidilinozitol-3
PI3K	foszfatdilinozitol-4,5-bifoszfát 3-kináz
PLC $\gamma$	foszfolipáz C gamma
PPAR- $\gamma$	peroxiszóma proliferátor aktivált receptor $\gamma$
PTC	papillaris carcinoma (papillary thyroid cancer)
QALY	quality life year
RAF	rapidly accelerated fibrosarcoma
RAS	rat sarcoma
RET	rearranged during transfection proto-onkogén
RNS	ribonukleinsav
RT-PCR	valós idejű polimeráz láncreakció
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results
SNP	egy pontos nukleotid polimorfizmus (single nucleotid polimorfizm)
SOS	Son of Sevenless
TIRADS	Thyroid Image Reporting and Data System
TSH	tireotrop hormon/thyreotropin
TSP-1	thrombospondin-1
UH	ultrahang
USA	Amerikai Egyesült Államok
WHO	Egészségügyi Világszervezet

## 1 Bevezetés

Az utóbbi évtizedben igen nagy figyelem terelődött a pajzsmirigy rosszindulatú betegségeire, mert az évente diagnosztizált új esetek száma igen jelentősen megnőtt. Ennek a legfőbb oka az lehet, hogy a modern rutindiagnosztika egyre kifinomultabb módszereket alkalmaz és ezek könnyebben hozzáférhetőek. Okok keresendők abban is, hogy a gyakoriság földrajzi különbségeket mutat. A csernobili nukleáris katasztrófa után napjainkban a fukushimai atomkatasztrófa ugyancsak a pajzsmirigydaganatokra irányította a figyelmet. Tekintettel a differenciált pajzsmirigy-tumorok jó kezelhetőségére, illetve arra, hogy ezeknek a száma emelkedik, nagyon fontos a pajzsmirigy-rákok ismerete a gyakorló orvos számára a korai felismerés érdekében.

A molekuláris genetika egyre növekvő térnyerésének is köszönhető, hogy rohamosan gyarapodnak az ismereteink a pajzsmirigydaganatok kialakulásának a molekuláris szintű megértésében. Az utóbbi évtizedben zajló forradalom a molekuláris biológia terén segíti a daganatok gyógyítását. A modern orvostudományt is érinti az a tény, hogy a humán genom teljes szekvenciájának megismerésével egy új korszak kezdődött, a „post-genomiális” korszak, amelyre jellemző a nagyléptékű adatáramlás, a genetikai információ értelmezése és az új tudományos technológiák elterjedése. Előtérbe került a bioinformatika, melynek köszönhetően a kutatók korábban nem is sejtett összefüggésekre bukkanhatnak, és már nem a feltételezett gyanús géneket vizsgálják, hanem azokat, amelyek egy egészséges és egy beteg sejt genetikai profiljában eltérést mutatnak.

## 1.1 A pajzsmirigy-tumороk áttekintése

Az elsődleges rosszindulatú pajzsmirigy-daganatok két nagy csoportra oszthatók: az epithelialis tumorokra és a nem epithel eredetű daganatokra. A folliculus epithelből négyfajta, eltérő viselkedésű rosszindulatú daganat alakulhat ki: a daganatok körülbelül 80-90%-a a jól differenciált papillaris vagy follicularis carcinoma; a többi a rosszul differenciált és a differenciálatlan, anaplasticus carcinoma. A parafollicularis C-sejtek kóros elfajulása okozza a medullaris carcinomát. Számos primer egyéb epithelialis tumor is létezik (pl. squamosus sejtes rák), illetve a másodlagos tumorok ritkán, de előfordulhatnak a pajzsmirigyben. A nem epithel eredetű daganatok közé tartoznak a sarcomák, a malignus haemangioendotheliomák és a malignus lymphomák (1-4). (I. táblázat)

I. táblázat: A rosszindulatú pajzsmirigy-daganatok osztályozása

(forrás: Konrády A. A pajzsmirigy rosszindulatú megbetegedései. In: Lakatos P, Takács I (szerk.), Pajzsmirigybetegségek a gyakorlat oldaláról. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2007:154-182.)

Epitheliális tumorok		Nem epithel eredetű tumorok	
Jól differenciált pajzsmirigy carcinoma		lymphoma	
Papillaris carcinoma		sarcoma	
	encapsulált	haemangioendothelioma	
	follicularis variáns	másodlagos tumorok	
	diffúz sclerotizáló variáns	vese carcinoma	
	Hürtle-sejtes	mamma carcinoma	
	magas és oszlopos sejtes variáns	tüdőrák	
	papillaris microcarcinoma	melanoma	
Follicularis carcinoma			
	minimálisan invazív		
	kifejezetten invazív		
	Hürtle-sejtes		
	világos sejtes variáns		
Rosszul differenciált pajzsmirigy carcinoma			
Anaplasticus carcinoma			
Medullaris carcinoma			

Az osztályozást tekintve a TNM klasszifikáció látszik a legmegbízhatóbbnak. (II. táblázat) A stádiumbeosztás (I–IV.) is a TNM beosztáson alapul, de hangsúlyosan veszi figyelembe a beteg életkorát: III–IV. stádium 45 év alatt alig fordul elő (5). (III. táblázat)

## II. táblázat: A pajzsmirigyrákok TNM beosztása (2002)

(forrás: American Joint Committee on Cancer/AJCC/, Cancer Staging Manual 7.kiadás, 2010, 87.o.)

TX	Primer tumor nem ítéhető meg
T0	Primer tumor nem mutatható ki
T1	2 cm vagy kisebb legnagyobb kiterjedésű, pajzsmirigyre korlátozódó daganat
T1a	1 cm vagy kisebb legnagyobb kiterjedésű, a pajzsmirigyre korlátozódó daganat
T1b	1 cm-t meghaladó, de legfeljebb 2 cm legnagyobb kiterjedésű, pajzsmirigyre korlátozódó daganat
T2	2 cm-t meghaladó, legfeljebb 4 cm legnagyobb kiterjedésű, pajzsmirigyre korlátozódó daganat
T3	4 cm-nél nagyobb kiterjedésű, pajzsmirigyre korlátozódó, vagy minimális mértékben a pajzsmirigyen túl (pl. a m. sternothyreoideusra, vagy a pajzsmirigy körüli lágy részekbe) terjedő daganat
T4a	A daganat áttörte a pajzsmirigy tokját és ráterjed a következők bármelyikére: subcutan lágyrészek, gége, légcső, nyelőcső, n. laryngeus recurrens.
T4b	A daganat a prevertebrális fasciára vagy a mediastinum ereire terjed, netán befogta az a. carotist.
<i>Minden anaplasticus carcinomát a T4 kategóriába kell sorolni.</i>	
T4a	Pajzsmirigyre korlátozódó anaplasticus carcinoma - mérsékelten előrehaladott
T4b	Pajzsmirigyen túlterjedő anaplasticus carcinoma - kifejezetten előrehaladott
NX	Regionális nyirokcsomó nem ítéhető meg
N0	Nincs regionális nyirokcsomóáttét
N1	Regionális nyirokcsomóáttét
N1a	VI-os szintű metastasis (pre-, paratrachealis, valamint prelaryngealis (Delphi-i) nyirokcsomókban
N1b	Egy- vagy kétoldali, vagy ellenoldali nyaki, vagy retropharyngealis, vagy felső mediastinalis nyirokcsomók I-es, II-es, III-as, IV-es vagy V-ös szintű áttéte
MX	Távoli áttét nem ítéhető meg
M0	Nincs távoli áttét
M1	Távoli áttét
s=	solitaer tumor
m=	multifokális tumor

## III. táblázat: Pajzsmirigy-rák stádiumai (I-IV)

(forrás: AJCC Cancer Staging Manual 6.kiadás, 2002)

Papillaris és follicularis carcinoma (életkor < 45 év):				
Stádium	T	N	M	
I	bármely	bármely	M0	
	T	N		
II	bármely	bármely	M1	
	T	N		
Papillaris és follicularis carcinoma (életkor > 45 év),				
Medullaris carcinoma:				
Stádium	T	N	M	
I	T1	N0	M0	
II	T2	N0	M0	
III	T3	N0	M0	
	T1-3	N1a	M0	
IVA	T4a	N0-1a	M0	
	T1-4a	N1b	M0	
IVB	T4b	bármely N	M0	
IVC	bármely	bármely	M1	
	T	N		
Anaplasticus carcinoma:				
Stádium	T	N	M	
IVA	T4a	bármely	M0	
		N		
IVB	T4b	bármely	M0	
		N		
IVC	bármely	bármely	M1	
		T	N	

### **1.1.1 A pajzsmirigy-tumorok etiopatogenezise**

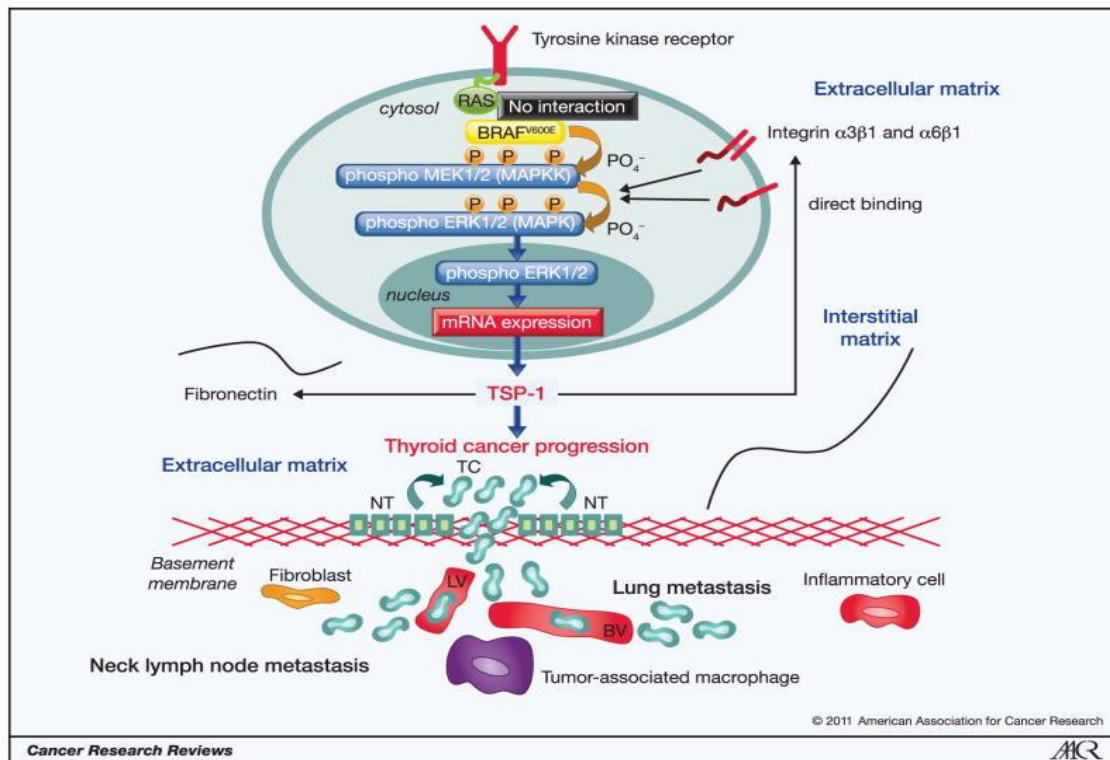
A molekuláris biológiai és onkogenetikai kutatások eredményei nagymértékben bővítették az ismereteinket a pajzsmirigy-daganatok keletkezéséről. A legtöbb pajzsmirigy-daganat monoclonalis eredetű, ebből arra lehet következtetni, hogy olyan genetikai események állnak a keletkezés hátterében, amelyek vagy aktiválják az onkogéneket, vagy inaktiválják a tumor szuppresszor géneket. Ezen események mögött pontmutációk vagy génátrendeződések, -újrarendeződések állhatnak (6). Szerepe van a különféle sugárexpozíciónak is, amelyeknek hatásai szintén az onkogéneken keresztül valósulnak meg (3). Több olyan klinikai kép ismert, amelyben a pajzsmirigy-rák genetikai vonatkozású: a Gardner-szindróma, a Carney-komplex (7,8) és a Cowden-szindróma (9). Az anaplasticus pajzsmirigy-rák a korábban fennálló papillaris vagy follicularis pajzsmirigy-rák dedifferenciálódásával keletkezik (10). A medullaris carcinomák 10-20%-a autoszomális dominanciával öröklődik. A familiáris medullaris pajzsmirigy-rákot a RET (rearranged during transfection) proto-onkogén csírvonalas mutációja okozza. Számos genetikai mutációt azonosítottak a pajzsmirigy-daganatokban (11,12).

#### **1.1.1.1 A pajzsmirigy-rák-típusok genetikája**

Az utóbbi években a pajzsmirigy-rák egyre inkább a figyelem középpontjába került, mert az évente felismert új esetek száma világszerte drámaian megnőtt. Valószínű, hogy ez a növekedés nem valami speciális onkogén hatás eredménye, hanem sokkal inkább a diagnosztika kifinomulásáról és a módszerek jobb hozzáférhetőségéről van szó. Számos genetikai mutációt azonosítottak a pajzsmirigy-daganatokban (4,12).

## 1.1.1.1.1 BRAF

A BRAF gén (V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) a szerin-treonin kináz fehérjét kódoló proto-onkogén. A BRAF gén 7. kromoszóma hosszú karján a 34. pozícióban helyezkedik el. A gén által kódolt fehérje szerepet játszik a klasszikus mitogénaktivált proteinkináz (MAPK) jelátviteli rendszer szabályozásában, és így hat a sejtosztódására és differenciálódására (I. ábra) (13).



I. ábra: A BRAF fehérje szerepe a tumorigenesisben

BRAF: V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1; BV: ér; ERK: extracelluláris jel hatására aktivált kináz; LV: nyirokér; MAPK: mitogénaktivált proteinkináz; MEK/MAPKK: mitogénaktivált proteinkináz kináz; mRNA: messenger ribonukleinsav; NT: normális pajzsmirigysejt; RAS: RA Sarcoma; TC: tumoros pajzsmirigysejt; TSP-1: thrombospondin-1;

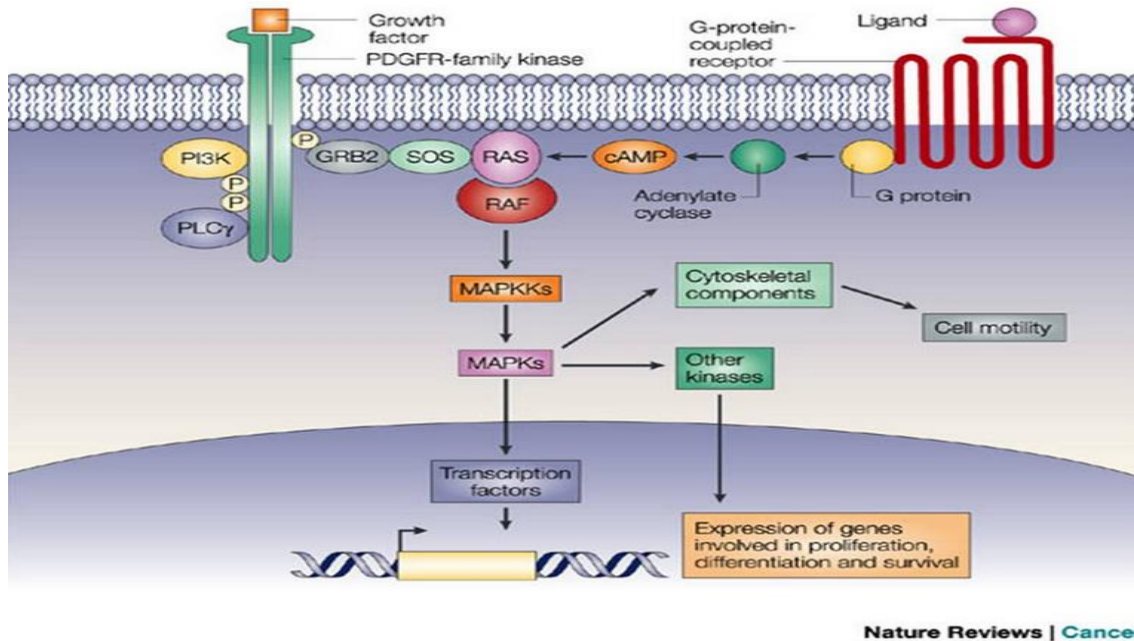
(forrás: Nucera C, Lawler J, Parangi S. (2011) BRAF(V600E) and microenvironment in thyroid cancer: a functional link to drive cancer progression. *Cancer Res*, 71:2417-2422)

A folliculusepithelből kialakuló tumorok közül a papillaris, a rosszul differenciált és az anaplasticus carcinomákban mutatták ki a BRAF gén pontmutációját. A BRAF gén szomatikus mutációja során a kódolt fehérjében a valin glutamára cserélődik ki a 600. aminosav-pozícióban, és így fokozódik a kinázaktivitás, ami tartósan stimulálja a MAPK szignálutat, és ez a folyamat tumor kifejlődéséhez vezethet. A pontmutáció a pajzsmirigysejtekben a jóanyagcsere és a jódranszport károsodásához vezet, aminek az a következménye, hogy a BRAF mutációval járó pajzsmirigy-tumороk nem reagálnak a radiojódrerápiára, illetve hamar kiújulnak. A BRAF szintjén kialakult változások a papillaris carcinogenesis korai fázisában már jelentkeznek, ezért BRAF V600E a papillaris rák specifikus markere lehet. A BRAF V600E mutációkat hordozó papillaris carcinomák jóval agresszívebbek, és átalakulhatnak differenciálatlan, anaplasticus carcinomává. Emiatt a betegek bármilyen osztálytípusba tartozó pajzsmirigy-rákja is van, a BRAF mutáció pozitivitása önmagában a betegség súlyosabb formáját valószínűsíti (4,12,14).

#### 1.1.1.1.2 RAS

A RAS (RAt Sarcoma) onkogének elnevezése a patkányokban kialakuló, vírus okozta sarcomából ered. Három formájuk van: az NRAS (neuralis forma az 1. kromoszómán), a KRAS (Kristen-sarcomavírus eredetű forma a 12. kromoszómán) és a HRAS (Harvey-sarcomavírus eredetű forma a 11. kromoszómán). A gének által kódolt fehérjék G-proteinekhez hasonlóak, inaktív állapotban guanozin-difoszfátot (GDP) kötnek, amit majd aktiválásukkor a GEF (guanine nucleotide exchange factor) fehérje guanozin-trifoszfátra (GTP) cserél. A kikapcsolás a RAS fehérje GTP-áz aktivitásán keresztül jön létre. A RAS fehérje jeltovábbító fehérje, mely a sejtfelszíni kinázaktivitású receptorok jeleit hivatott továbbítani. Az aktív RAS három típusú jelpályát aktivál: a MAP-kináz-útvonalat, az apoptózist szabályozó foszfatidilinozitol-3-(PI3)-kináz/proteinkináz B (AKT) útvonalat és az adhéziót, valamint a migrációt befolyásoló pályákat (II. ábra) (15). Az onkogén RAS pontmutáció révén keletkezik, a mutáció a jól differenciált pajzsmirigy-daganatok közül főleg a follicularis carcinomákban alakul ki, valamint kimutatható a rosszul differenciált és anaplasticus carcinomákban is.





II. ábra: Jelátviteli utak szerepe differenciált pajzsmirigy carcinomában

cAMP: ciklikus adenzin monofoszfát; GRB2: növekedési faktor receptor-kötő protein 2; MAPK: mitogénaktivált proteinkináz; MAPKKs: mitogénaktivált proteinkináz kinázok; PDGFR: vérlemezke eredetű növekedési faktor receptor; PI3K: foszfatdilinozitol-4,5-bifoszfát 3-kináz; PLC $\gamma$ : foszfolipáz C, gamma; RAF: rapidly accelerated fibrosarcoma; RAS: RA $\alpha$  Sarcoma; SOS: Son of Sevenless;

(forrás: Albarel F, Conte-Devolx B, Oliver C. (2012) From nodule to differentiated thyroid carcinoma: contributions of molecular analysis in 2012. *Ann Endocrinol (Paris)*, 73:155-164)

A RAS gének (H-, K- és N-ras) pontmutációi gyakoribbak a follicularis carcinomákban, mint a papillaris pajzsmirigy-tumorokban. A RAS géncsoport pontmutációja – ami szintén jelátviteli utakon keresztül fejti ki a káros hatását – a pajzsmirigy carcinogenesisének korai fázisában alakul ki. A mutáció kimutatható a differenciált pajzsmirigy carcinomákon kívül a follicularis adenomákban is. A génmutációk prevalenciája 20–40% a follicularis adenomákban. Számos vizsgálatban leírták, hogy a RAS géncsoport mutációja és a follicularis carcinoma metastasist képző tulajdonsága között összefüggés van, vagyis az a follicularis daganat, amelyikben kimutatható

például a KRAS mutáció, agresszívebb viselkedésű és könnyebben ad áttétet. A RAS gének pontmutációi egyúttal előre jelezhetik a kialakuló pajzsmirigydaganat agresszívebb tulajdonságát. A RAS géncsoport mutációja előfordul a papillaris carcinomákban is, de inkább a follicularis variánsokban, illetve az encapsulált típusokban mutatták ki (4,16-18).

#### 1.1.1.1.3 RET/PTC

A 10q11.2 kromoszóma-szakaszon elhelyezkedő RET-*proto-onkogén* tirozin-kináz aktivitású membrán receptort kódol, ami három szakaszból épül fel (extracelluláris, transzmembrán és intracelluláris rész). A gén újrendeződése során csak a papillaris pajzsmirigyrákokban kimutatott aktív onkogén, a RET/PTC (papillary thyroid carcinoma) jön létre. A RET gének nem expresszálódnak normális follicularis sejtekben, de aberránsan jelentkeznek a papillaris pajzsmirigy-tumorokban. A RET/PTC átrendeződések patológiás RET tirozin-kináz receptorokat hoznak létre. Mutált gén esetén nem szükséges ligand az aktivációjához(4,6). A papillaris microcarcinomában nagyon gyakori a kóros RET/PTC expresszió, tehát ezek az eltérések a pajzsmirigy carcinogenesis korai fázisában már részt vesznek. A RET/PTC gén újrendeződés 50–80%-át olyan tumoros betegek esetében mutatták ki, akik anamnézisében ionizáló sugárzás szerepel. Fontos tény a papillaris pajzsmirigy-tumor prognózisának megítélésében, hogy a RET/PTC pozitív tumorok nem alakulnak át anaplasticus pajzsmirigyrákká. A leggyakoribb RET/PTC gén újrendeződések a RET/PTC1, a RET/PTC3, valamint a RET/PTC2. A RET/PTC1 - a RET és a CCDC6 (coiled-coil domain containing 6) gének átrendeződése - főleg sporadikus papillaris pajzsmirigydaganatokban lép fel, felnőtt- és gyermekkorban egyaránt, ezek lefolyása jobb indulatú. A csernobili atomkatasztrófa után a látencia késői szakában kialakuló papillaris carcinoma klasszikus formáiban is ugyanezt a genetikai zavart találták, és a kórjóslat is jobb volt a többi szövettani formához és más RET/PTC újrendeződést hordozó esetekhez képest. A sporadikus forma az ionizáló sugárzáshoz kötött pajzsmirigyráknál jobb prognózisú. A RET/PTC3 génátrendeződés esetén a tumoros betegség klinikai lefolyása sokkal agresszívebb. Az irradiáció indukálta és RET/PTC3

pozitív pajzsmirigy-tumороk rossz prognózzal járó szövettani típusokként jelentkeznek. A csernobili baleset okozta gyermekkori papillaris carcinoma elsősorban RET/PTC3 újrendeződéshez társul és rossz kórjóslatot hordoz. A RET/PTC3 szintén egy ionizáló sugárzás hatására létrejövő intrakromoszomális átrendeződés eredménye. A RET/PTC2 előfordulása a legritkább (4,19-23).

Hereditér medullaris carcinómában, illetve a multiplex endokrin neoplasia (MEN) 2 szindrómában a RET proto-onkogén csírasejtes, míg a sporadikus formában a szomatikus mutációja a meghatározó. A MEN2 szindróma autoszomális domináns módon öröklődik, az érintett egyéneknél a RET gén csírasejtes mutációi heterozigóta formában vannak jelen. A kórképet okozó RET génmutációk a receptor konstitutív aktivációját okozzák. A RET ligandjaival komplexet alkot, ami a RET dimerizációját és a tirozin-kináz-funkció aktiválását okozza. A RET aktivációja megakadályozza az apoptózist (4,24).

#### 1.1.1.1.4 PAX8/PPAR- $\gamma$

A PAX8 (paired box 8) gén transzkripciós faktort kódol, aminek jelentős szerepe van az embrionális fejlődés során a szöveti differenciálódásban. A gén a 2. kromoszóma hosszú karján helyezkedik el a 12-es és a 14-es pozíció közt. A PPAR- $\gamma$  gén (peroxiszóma proliferátor aktivált receptor  $\gamma$ ) a 3. kromoszóma rövid karján található. Ez a gén sejtmagi receptort kódol. A PPAR- $\gamma$  döntő szerepet játszik, mint az adipogenesis transzkripciós szabályozója. A PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződést follicularis carcinómákban mutatták ki. A follicularis carcinómákban leírt PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződés esetén a tumorok fiatalabb korban jelennek meg, és kisebb méretűek. A gén újrendeződés 2–10%-ban megtalálható a follicularis adenómákban, ezek típusosan encapsuláltak, illetve az immunhisztokémiai mintázatuk megegyezik a rosszindulatú daganatok mintázataival. Ezek a PAX8/PPAR- $\gamma$  pozitív follicularis adenómák „in situ follicularis carcinómák”, azaz praecancerosus állapotnak felelnek meg. A sejtszintű és genetikai változások mechanizmusa még nem teljesen

ismert. A vad PPAR- $\gamma$  fokozott expressziója pajzsmirigy-tumoros sejtvonalakban gátolja a sejtnövekedést, és ezt a hatást elősegítik a PPAR- $\gamma$ -agonisták (4,25).

A papillaris carcinomában a BRAF mutáció prevalenciája 45%, a RET/PTC átrendeződés előfordulási gyakorisága 20%, a RAS pontmutációé pedig 10%. Ezek a genetikai változások a papillaris daganatok 70%-ában találhatók meg. A follicularis carcinomák 80%-ában a KRAS gén pontmutációja és a PAX8/PPAR- $\gamma$  gén transzlokációja jelenik meg. A génmutációk előfordulási gyakorisága: RAS 45%, PAX8/PPAR- $\gamma$  35%. A genetikai mutációk prevalenciája a rosszul differenciált és az anaplasticus carcinomák esetén: RAS 35–50%, illetve BRAF 20%. A külön entitású medullaris carcinoma (C-sejtes) sporadikus és a hereditér formájában jelentős a RET proto-onkogén mutációjának a szerepe (4,26-28). (IV. táblázat).

#### IV. táblázat: A pajzsmirigy-rákok génmutációi

(forrás: Nikiforova MN, Nikiforov YE. (2009) Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid*, 19:1351-1361)

<i>Gén</i>	<i>Daganat típusa</i>	<i>Prevalencia (%)</i>
<i>BRAF</i>	papillaris carcinoma	45
	rosszul differenciált pajzsmirigy-rák	20
	anaplasticus carcinoma	20
<i>RAS gének</i>	anaplasticus carcinoma	50
	follicularis carcinoma	45
	rosszul differenciált pajzsmirigy-rák	35
	papillaris carcinoma	10
<i>RET</i>	medullaris carcinoma	50-95
<i>RET/PTC</i>	papillaris carcinoma	20
<i>PAX8-PPAR<math>\gamma</math></i>	follicularis carcinoma	35

### 1.1.2 A pajzsmirigytmorok epidemiológiája

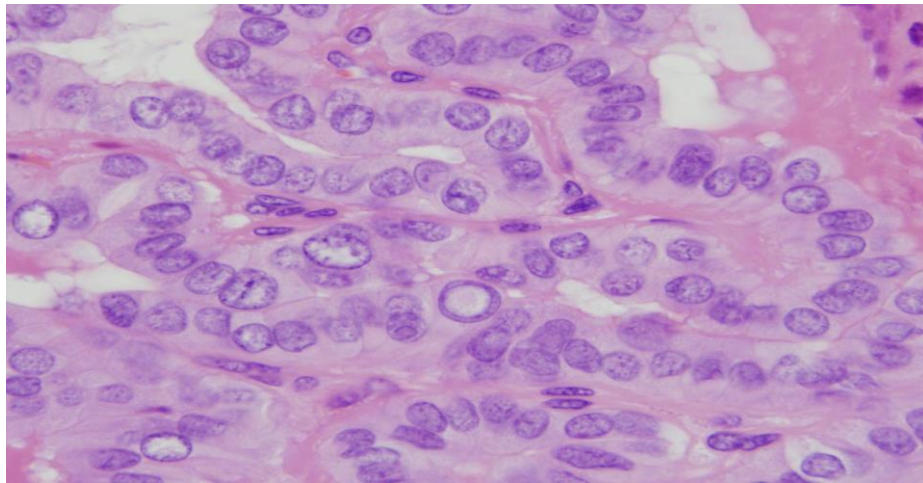
A pajzsmirigyrákot a XVIII. században írták le először (6). Az emberi rosszindulatú daganatok között a pajzsmirigyrák viszonylag ritka (1-2%), de az endokrin tumorok között ez a leggyakoribb. Az összes endokrin rosszindulatú tumor 95%-a pajzsmirigydaganat (29). A brit Cancer Research adatait tekintve 2012-ben világszerte kb. 298.000 új pajzsmirigytmort diagnosztizáltak. A National Cancer Institute Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program adatai szerint az Amerikai Egyesült Államokban (USA) 62450 új eset jósolható 2015-re. Az összes új daganatos megbetegedés 3,8%-a. 2012-ben összesen 601.789 pajzsmirigytmorban szenvedő beteget regisztráltak. 2008-2012 közötti adatok alapján a pajzsmirigydaganatok incidenciája összesen 13,5/100.000 lakos/év. 10 év alatt az új pajzsmirigyrákok száma átlag 5%-os növekedést mutatott évente. Hazánkban kb. 550 új eset van évente. Az utóbbi 25 évben a pajzsmirigyrákok száma nőtt, nők esetében 11,7 eset és férfiak esetén 4,2 eset 100 000 lakosra nézve.

A gyakoriságot tekintve a pajzsmirigyrákok 65–80%-a papillaris, 10–15%-a follicularis, a medullaris 5–7%, az anaplasticus 2–5%, egyéb 1-2% (5). A legtöbb jól differenciált pajzsmirigyrák esetet 30-60 év közötti időszakban diagnosztizálják. Az anaplasticus carcinoma a hetedik évtized megbetegedése, melyben enyhe női túlsúly állapítható meg (3). A medullaris carcinomák körülbelül 80%-a nem társul más endokrin tumoral, ezek sporadikus daganatok. A sporadikus tumorok megjelenése 40–60 év között a leggyakoribb. A nő/férfi arány körülbelül 1:1. A másik fő forma a herediter forma, ami körülbelül 20%-a a medullaris carcinomáknak. A herediter esetek 30%-a az önmagában fennálló familiáris medullaris carcinoma, míg a maradék 70% része a MEN2A és 2B szindrómáknak, amelyekben egyéb endokrin kórképek társulnak a medullaris rák mellé. Az önálló entitású familiáris medullaris carcinoma az élet második szakaszában fordul elő, míg a multiplex endokrin neoplasiák keretében megjelenő formák a fiatal felnőtteket érintik (4).

### 1.1.3 A pajzsmirigy-tumorok klinikai képe

#### 1.1.3.1 Papillaris carcinoma

A leggyakoribb rosszindulatú pajzsmirigy-daganat a papillaris carcinoma, ez teszi ki az összes pajzsmirigy-tumor 60–80%-át. Fiatal felnőttek, különösen nők esetében alakul ki a leggyakrabban. Jóddal ellátott területeken gyakoribb az előfordulása. Jellemzően tömött, kemény göb jelenik meg a nyakon. A tumor gyakran multifokális és bilaterális megjelenésű. Korán ad metastasisokat a nyaki nyirokcsomókba. Sokszor okkult formában jelenik meg. Mikroszkópos képére jellemző a valódi papillaképződés vagy/és óraüvegszerű magok (a ráksejtek magjainak „mattüveg” kromatinszerkezete van). Számos variánsa létezik, ezek közül kiemelendő a follicularis, az encapsulált, a microcarcinoma, a diffúz szklerotizáló, a Hürthle-sejtes, valamint a magas és oszlopos sejtes forma (4,30). Az 5–10 mm közötti microcarcinomák néha agresszív viselkedést mutatnak idősebb betegeken (5). (III. ábra).

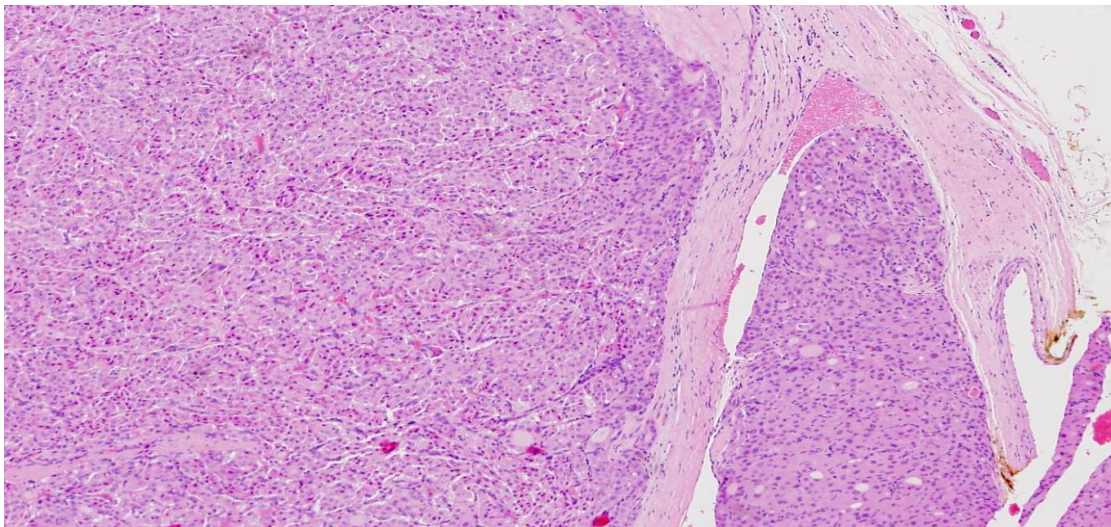


III. ábra: Papillaris carcinoma

(forrás: Halászlaki C, Lakatos P, Kósa PJ, Balla B, Járny B, Takács I. (2012) A pajzsmirigy-daganatok genetikai háttere. *Lege Artis Medicinæ*, 22:9-16)

### 1.1.3.2 Follicularis carcinoma

Az az összes pajzsmirigydagánat körülbelül 12-15%-a. Ez a carcinoma az idősebb betegek, főleg nők esetében alakul ki. Típusosan fájdalomtalan csomó jelenik meg a nyakon, amely nem multicentrikus. Nyirokcsomóáttét ritka. A follicularis carcinoma haematogen disseminatióra hajlamos. Metastasisok a tüdőben vagy a csontokban alakulnak ki. Mikroszkópos képére a papillaris szerkezet és a sejtmag jellegzetességek hiánya jellemző. Három altípusa van: a minimálisan invazív, a nagymértékben invazív és a Hürthle-sejtes variáns. Ez utóbbi sok tulajdonságban különbözik a klasszikus follicularis carcinomától: bilaterális, multifokális és a nyaki nyirokcsomókba ad áttétet. A papillaris carcinománál agresszívebb, áttöri a pajzsmirigy tokját és benő az erek lumenébe. A férfiak kórjósata rosszabb. (4,31). (IV. ábra)



IV ábra: Follicularis carcinoma

(forrás: Halászlaki C, Lakatos P, Kósa PJ, Balla B, Járny B, Takács I. (2012) A pajzsmirigydagánatok genetikai háttere. *Lege Artis Medicinæ*, 22:9-16)

### 1.1.3.3 Rosszul differenciált pajzsmirigy carcinoma

A jól differenciált pajzsmirigydagánatokkal ellentétben a rosszul differenciált pajzsmirigy-tumorokat nehéz definiálni. Ezek az epithelialis malignus dagánatok a papillaris és a follicularis carcinomákból alakulnak ki, azonban a jól differenciált pajzsmirigy-tumoroktól eltér a szövettani jellegzetességük, a biológiai viselkedésük, valamint a kórjóslatuk és a kezelésre adott válaszuk. A mikroszkópos képük változatos: a papillaris és follicularis carcinomák klasszikus szerkezetét a nem mirigyszövetre jellemző alkotóelemek színesítik, és vannak olyan rosszul differenciált pajzsmirigy-tumorok, amelyek csak nonglandularis elemeket tartalmaznak. Ezek általában nem mutatnak anaplasticus átalakulásra utaló jeleket (4,32). 2006-ban leírt torinói kritériumok segíthetnek a pontosabb diagnózis felállításában: 1. solid, trabecularis és insularis szöveti mintázat, 2. nincsenek meg a papillaris carcinoma mag jellegzetességei és 3. egy jellemző megléte a következő háromból: a) kicsi, hyperchrom, mazsolaszerű hasadt mag, b) necrosis, c) kifejezett mitotikus aktivitás (33). Agresszív viselkedésűek, invazívak és angioinvazívak, de annyira nem agresszív a biológiai viselkedésük, mint az anaplasticus carcinomának. A sebészeti és az irradiációs kezelésre is kevésbé reagálnak, a betegek teljes gyógyulása sokszor nem lehetséges. Az ötéves túlélés rosszabb, mint a jól differenciált pajzsmirigydagánatok esetében (4).

### 1.1.3.4 Anaplasticus carcinoma

A differenciálatlan vagy anaplasticus carcinoma kifejezetten rosszindulatú daganat, és az egyik legagresszívebb rosszindulatú daganat, amely emberben előfordul. Már a kórkép felfedezésekor a nyaki és mediastinalis nyirokcsomókban metastasisok vannak, illetve akár 50%-ban távoli áttéteket ad. A szöveti szerkezet változó, a sejtek differenciálatlanok. A legrosszabb prognózisú valamennyi pajzsmirigy-tumor között, gyorsan nő, hamar ad lokális és távoli áttétet (4,10,34).



### **1.1.3.5 Medullaris carcinoma**

A parafollicularis C-sejtek egyetlen fontos kóros elváltozása a medullaris carcinoma. A medullaris carcinoma tömött és kemény göb. A sporadikus formák egygócúak, a hereditár medullaris carcinomák a pajzsmirigyen belül multicentrikus és bilaterális megjelenésűek. A medullaris carcinoma a nyaki régió kivül is adhat áttétet, például a tüdőbe, májba, csontokba, néha a bőrbe és az agyba. Mikroszkóposan a fészkes vagy köteges szerkezetű daganat kisméretű sejteket tartalmaz, amelynek granulomai neuroendokrin vonásokat mutatnak. A tumor stromájában jellemző az amiloidlerakódás (4,35).

#### 1.1.4 A pajzsmirigytmorok diagnózisa

A pajzsmirigygöb a mirigy állományától eltérő tapintatú, felszínéből körülírt terime. A család- és ikervizsgálatok endémiás és nem endémiás vidéken nyilvánvalóan bizonyítják a golyvafejlődés genetikus determináltságát (36). A pajzsmirigyben lévő tapintható és látható göbök gyakorisága 4-7 %, a nem tapintható és nem látható, az 1-1,5 cm-nél kisebb göbök, azaz az incidentalomák igen gyakoriak, nők esetében elérik a 20-30 %-ot. A pajzsmirigygöb lehet solitaer vagy multiplex. A malignitás kockázata nagyobb azokban a multinodularis golyvás betegekben, akik évekkorábban a nyak vagy a fej régiójában besugárzásban részesültek (37). A jóindulatú göbös pajzsmirigy heterogén betegség, amely gyakrabban fordul elő jódszegény területeken. Nőkben kb. ötször gyakoribb a jóindulatú göbös struma előfordulása. A kialakult göbökben fibrosis (szolid) vagy elfolyósodás (cysta), esetleg mindkettő (pseudocysta) jön létre. A pseudocysták esetében a malignitás veszélye megnő.

A göbök eloszlása funkcionalitás szempontja szerint a pajzsmirigy-szcintigráfias kép alapján általában 85 %-ban hideg, 10% meleg és 5% forró, bár ez a különböző jódelátottságú területeken módosulhat. A rosszindulatú elváltozások nagy része hideg göbben található. Ugyanakkor a hideg göbök nagy része jóindulatú. A malignitás ritkábban, de előfordulhat a meleg és forró göbökben is (36). A diagnosztika feladata azt megállapítani, hogy melyik hideg göb vált már rosszindulatúvá vagy fog daganatosan átalakulni (19).

A pajzsmirigyrákok diagnosztikájában fontosak az anamnesztikus adatok (életkor, öröklődés, nyaki irradiáció, előző pajzsmirigybetegségek stb.). A fizikális vizsgálat (megtekintés és tapintás) elkerülhetetlen a diagnózis felállítása előtt. A malignitás gyanúját veti fel a pajzsmirigygöb gyors növekedése, a göb fixáltsága, rekedtség, helyi fájdalom, nyelési zavar, felső légúti stenosis tünetei, illetve a tiroxinkezelés ellenére növekvő göb. Malignitást jelezhet az aszimmetrikus nyaki nyirokcsomó-megnagyobbodás, a Horner-szindróma és a nervus recurrens paresis. Régen fennálló multinodularis struma keménnyé válása anaplasticus transzformáció lehetőségére utal (38).

Pajzsmirigyrákban általános tünetek (étvágytalanság és fogyás) a kezdeti időben nincsenek, a pajzsmirigyfunkció érintetlen. Felmerülhet a medullaris pajzsmirigyrák gyanúja, ha a pajzsmirigy megnagyobbodásával együtt egyéb endokrin szervek kóros eltérése mutatható ki. Medullaris carcinomában a laboratóriumi diagnosztika (kalcitonin) van a segítségünkre (38).

Minden nyaki solitaer göb, főleg fiatal, 30 év alatti férfi esetén mindaddig rosszindulatúnak tekintendő, amíg az ellenkezője be nem bizonyosodik. A malignitás prevalenciája nő még a 65 év feletti életkorban és azoknál a betegeknél, akiknél 3 cm-t meghaladja a göb nagysága, továbbá akiknek a családjában pajzsmirigyrák előfordult. Pajzsmirigyrák lehetősége ellen szól a puha tapintat, a kis méret, illetve a göb csökkenése pajzsmirigyhormon-kezelésre. Nem létezik azonban egyetlen biztos tünet sem, amely önmagában a carcinoma létét bizonyítaná vagy kizárná. Előfordulhat, hogy az első tünet nyaki nyirokcsomó-megnagyobbodás anélkül, hogy a pajzsmirigyben tapintanánk valamit (36,37).

A göbös golyva mérete vagy elhelyezkedése miatt okoz tüneteket: diszkomfortérzés, gombócérzés, nyelési nehezítettség és növekedési fájdalom. A pajzsmirigyfunkció megítélése nélkülözhetetlen a betegeknél, akkor is, ha nincs diszfunkcióra utaló tünet. A göbök igen jelentős hányada általában nem tapintható, még az 1 cm-nél nagyobbak sem, főleg a dorsalis elhelyezkedésűek, de ebbe segít a mindennapi diagnosztikában rutinná vált ultrahangvizsgálat. Az ultrahangvizsgálat egyre növekvő számban használatos, aminek a pajzsmirigy incidentalomák igen gyakori megjelenése köszönhető. Az 1-1,5 cm-es és a nagyobb elváltozások egyértelműen citológiai vizsgálatot és kontroll ultrahangos követést is igényelnek (19,36-38).

Az ultrahangvizsgálat nélkülözhetetlen a pajzsmirigy-tumороk kórismézésében. A legtöbb tumoros göb echoszegény és határvonalai általában nem élesek, valamint a vastag, parciális „haló” jelenség is figyelemfelkeltő lehet. A göb ultrahangképe sokszor szolid hipervaszkuarizált szövet, melyben lehet necrosis, cysta és vérzés. A belső fali növekedést tartalmazó cystákban gyakori a papillaris carcinoma. A tok elmeszesedése malignitás mellett szólhat (3,4,6). A pontszerű meszesedések mikroszkópos psammoma

testeket jelezhetnek papillaris carcinomában. Nagy területű meszesedést lehet látni medullaris rákban. Az ultrahangvizsgálat segít a tumor vaszkularizációjának megítélésében és a kóros nyirokcsomók felismerésében (3).

Az Amerikai Egyesült Államokban bevezetett Thyroid Imaging Reporting and Data System (TIRADS) ultrahangos képalkotó klasszifikációs rendszer segítségével könnyebben felállítható a vékonytű aspiráció (FNAB) indikációja (V. táblázat). A TIRADS 1–2 esetén nem szükséges FNAB, míg a TIRADS 4–5 esetében mindenképpen indokolt. A TIRADS 3 esetében szoros követés javasolt.

V. táblázat: Thyroid Imaging Reporting and Data System (TIRADS) /USA/

(forrás: Horvath E, Majlis S, Rossi R, Franco C, Niedmann JP, Castro A, Dominguez M. (2009) An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management. J Clin Endocrinol Metab, 94:1748-1751)

TIRADS	Dignitás	Ultrahang (UH) kép	Malignitás %
1	normális pajzsmirigy	homogén, közepes echogenitású struktúra	-
2	jóindulatú pajzsmirigygöb	pontszerű echogen kolloid	0
3	valószínűleg jóindulatú pajzsmirigygöb	Hashimoto-thyreoiditishez hasonló kép	0-5
4A	nem egyértelmű dignitás	változatos megjelenés: de Quervain-thyreoiditishez hasonló, illetve solid tumorra gyanús UH kép	5-10
4B	malignitásra gyanús pajzsmirigygöb	malignitás jelei: mikrokalcifikáció, egyenetlen kontúr, echoszegénység és hypervascularizáció	10-80
5	valószínűleg malignus pajzsmirigygöb		80-100
6	egyértelműen bizonyított malignitás	(biopsziával igazolt rák képe)	100

Az ultrahangvezérléssel végzett aspiráció a legjobb módszer a malignitás felismerésére az esetleges álnegatív vagy álpozitív esetek ellenére. FNAB vizsgálat indokolt bármilyen pajzsmirigygöb esetén, ha az 1 cm-nél nagyobb, de ha az ultrahang gyanús jeleket mutat, akkor kisebb göbök esetén is. Az áttétgyanús nyirokcsomók esetén is nagy segítséget adhat. Multinodularitas esetén a domináns göbből kell aspirációt végezni (3,4,36,37).

A vékonytű-biopszia sok esetben nem ad egyértelmű eredményt. Részből az ismételt szúrások, részben a feleslegesen elvégzett műtétek terhet jelentenek mind a betegek, mind az egészségügy számára. Ennél is nagyobb probléma a tumorok késői diagnosztizálása, ami jelentősen rontja a betegség gyógyíthatóságát. Számos retrospektív és egy prospektív vizsgálat eredménye igazolta, hogy a genetikai vizsgálat nagyban képes fokozni a vékonytű-biopszia vizsgálatok kórjelző erejét. Bizonytalan citológia esetén a daganatok kockázata 14-54 %, ez a százalékos gyakoriság elvileg nő a fenti molekuláris markerek pozitivitása esetén (4,19,38-41).

Nincs egyértelmű bizonyíték arra, hogy az eleve jóindulatú göbben az évek hosszú során rosszindulatú átalakulás következne be. Kezeletlen jóindulatú göbös struma esetén az ellenőrzések során arra figyelünk, hogy a göb milyen intenzitással növekszik, vagy van-e gyanújel a malignisatiora.

Kiegészítő vizsgálatként a légső és nyelőcső röntgenvizsgálata a megnagyobbodott, göbös pajzsmirigy által okozott diszlokációt vagy szűkületet mutathatja meg. (40). Pajzsmirigy-szcintigráfia inkább az autonóm adenoma felismerésére szolgál alacsony thyreotropin (TSH) -szint mellett jódhányos területen, de indokolt, ha a citológia follicularis elváltozást mutat (38,39). Izotópvizsgálatok során talált hideg göböknél mindig indokolt az FNAB vizsgálat, mert ezeknek a göböknél körülbelül 5-10%-a rosszindulatú. A <sup>99m</sup>Tc-methoxy-isobutyl-isonitrile (MIBI)-vel végzett vizsgálat a Hürthle-sejtes rák felismerésében hasznos. <sup>131</sup>I-meta- jodo-benzil-guanidin (MIBG) a medullaris carcinoma diagnosztikájában használatos, valamint az octreoscan a távoli áttétek megjelenítésében játszik szerepet. A komputertomográfia (CT), a fluorodeoxiglükóz (18F) -pozitronemissziós tomográfia (FDG-PET), a PET-CT és a mágneses rezonancia vizsgálat (MRI) a folyamat kiterjedtségéről és az áttétekről ad tájékoztatást (3,4).

### 1.1.5 A pajzsmirigytmorok kezelése

A göb eltüntetésében a hatékony gyógyszeres terápiának korlátozott lehetőségei vannak, de a normofunkciós göbös golyva kezelése megkísérélhető, ez a kezelés függ a jódeállapottságtól. Jódszegény területen 40 éves kor alatt 200 µg jodid + 75 µg levotiroxin adása javasolt 1-2 évig. A tiroxinkezelést követően még egy évig szükséges a jodid adása, majd a profilaktikus jódekezelés folytatása indokolt. 40 és 60 éves kor között csak 75 µg levotiroxin adása javasolt, mivel a jód hyperthyreosist provokálhat. Jódgazdag területen 60 éves kor alatt alkalmazhatjuk az előbbi hormonkezelést. Mintegy 20-30% volumencsökkenés várható, és amennyiben 3-6 hónapon keresztül alkalmazott tiroxin-szuppressziós kezelés mellett a göb mérete felére csökken, akkor az elváltozás feltehetően jóindulatú. 60 éves kor felett sem jódszegény, sem jódgazdag területen gyógyszeres kezelés nem ajánlott euthyreoticus golyva esetén. Idősebb betegnél, ha tumor gyanú nincs, és a trachea kompresszió nem veszélyesen kifejezett, akkor nagyobb adagú radiojódekezelés jön szóba. A radiojódekezelés átlagos eredményessége: 1-2 év alatt a pajzsmirigyvolumen a felére csökken (36,37,42). A szuppressziós kezelés elkezdése alaposan megfontolandó, mivel ismert, hogy a differenciált pajzsmirigy carcinomák is olykor pozitívan reagálhatnak e kezelési formára (37).

Az autonóm hiperfunkció megszüntetésére radiojódekezelés javasolt (43,44), de 40 éves kor alatt műtét jöhet szóba. Daganat, microfollicularis adenoma gyanúja és jelentős trachea kompresszió esetén műtét indokolt (37). Műtéti indikáció áll fenn nagyméretű göb (3-5 cm), panaszt okozó göb, substernalisan terjedő, panaszt okozó struma, valamint pajzsmirigycysta ismételt punkciója utáni visszatelődése esetén is. Műtétet követően a pajzsmirigyfunkció ellenőrzése szükséges, sőt a recidíva megelőzéseként a tiroxin-szuppressziós kezelés szintén mérlegelendő. Alkalmas kezelési mód főleg nagyobb pajzsmirigycysták kezelésére az alkoholos infiltráció. A pseudocysták műtéti eltávolítása javasolt (36,37,42). A műtéttel vagy izotóppal kezelt betegek ~10%-ban a göbök újból megjelennek. A göbök ultrahangkövetése ½-1 évente javasolt. A göbök harmadánál észlelhető lassú folyamatos növekedés. Ilyenkor érdemes a citológiát megismételni (36,37,42). A pajzsmirigy citológiai diagnosztikában használatos a Bethesda klasszifikáció, ami nagyban segítheti a terápiás döntéshozatalt. (VI. táblázat)

## VI. táblázat: Bethesda citológiai felosztás

(forrás: Dr. Francz Monika PhD, A Bethesda klasszifikáció bevezetése közben szerzett tapasztalataink, XI. Citológus Kongresszus, 2012; Cibas ES, Ali SZ. (2009) The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology. Am J Clin Pathol, 132:658-665)

Bethesda	Leírás	Malignitási rizikó	Teendők
I.	Nem diagnosztikus, nem elfogadható <i>sejtszegény, csak cystafolyadék, technikai okok</i>	1-4%	ismétlés
II.	Benignus <i>strumagöb, gyulladás, egyéb</i>	< 1-3%	követés
III.	Nem meghatározható jelentőségű atípiá vagy follicularis lézió	5-15%	ismétlés
IV.	Follicularis neoplasia vagy annak gyanúja, <i>onkocyter gyanút külön kiemelni</i>	20-30%	lobectomy
V.	Malignitásra gyanús <i>papillaris, medullaris, lymphoma gyanú vagy egyéb malformatio gyanú</i>	60-75%	lobectomy vagy totális thyroidectomy
VI.	Malignus	97-99%	totalis thyroidectomy

A differenciált pajzsmirigyrákban szenvedő betegek kis és nagy kockázatú csoportba sorolhatók. A 45 évesnél fiatalabb betegek, ha a göb nagysága kisebb, mint 4 cm, nincs intra- vagy extraglandularis kiterjedésre utaló jel, és ha komplett kezdeti terápiát kapnak, akkor kis kockázatú csoportba tartoznak. A többi esetet nagy kockázatúnak kell tekinteni. Ebbe a csoportba azok a betegek tartoznak, akiknek távoli metastasisa van, akiknek a daganat resectioja nem volt teljes, vagy ha teljes is volt, nagy a valószínűsége a recidívának (3,38). Kis kockázatú esetekben, ha a tumor kicsi (1 cm-nél kisebb) és izolált, nincs adat familiaritásra, illetve korábban nem történt irradiáció a nyaki területre, akkor lobectomy és isthmectomy indokolt, egyébként totális vagy „near total” thyroidectomy szükséges. Nyirokcsomóáttétek esetén nyaki dissectioval (centrális és/vagy laterális) kell kiegészíteni a totális thyroidectomiát. A centrális nyirokcsomó-dissectio ajánlatos profilaktikus célból papillaris carcinoma (T3 és T4) és Hürthle-sejtes carcinoma esetén is. A radikális műtét a megfelelően választott nyirokcsomó-dissectioval együtt az alacsony rizikójú betegeken lényegesen csökkenti a kiújulás veszélyét (3,4,38).

A posztoperatív radiojód abláció feltétlenül indokolt III. és IV. stádiumban, illetve 45 évnél fiatalabb összes betegnél a II. stádiumban, de a 45 évnél idősebbek jó részénél is. Az ablációt I. stádiumban akkor végezzük el, ha a daganat multifokális és ha nyirokcsomóáttétek vannak, tokáttörés vagy érbetörés látszik, vagy a szövettani kép agresszívebb viselkedésre utal (3). (III. táblázat) Célja a mikroszkopikus daganat és a reziduális pajzsmirigyszövet kiirtása. Az abláció előkészítése során arra kell törekedni, hogy azt minél nagyobb TSH érték mellett végezzük el, mert akkor vesz fel több radiojódot a megmaradt mirigyállomány. A nagyon alacsony rizikójú csoportba soroljuk azokat a betegeket, akiken a tumor unifokális, 1 cm-nél kisebb, nem töri át a tokot és nem ad metastasist. Ebben a csoportban a radiojód abláció nem indokolt. Az alacsony rizikójú csoport (multifokális, 2 cm-nél kisebb tumorok, illetve a közeli vagy távoli metastasis nélküli 4 cm-nél kisebb tumorok) megítélése nem teljesen egyértelmű a különböző irányelvekben. Sok helyen elvégzik az ablációt, ha a műtét nem volt teljes, ha nem volt nyirokcsomó-dissectio, a beteg 18 évnél fiatalabb volt, illetve ha a hisztológia kedvezőtlen (atípusosan differenciált, agresszív tumorok). Fokozott kockázatú betegek esetében mindenképpen szükséges a posztoperatív radiojód abláció (3,5). Az ablációs dózissra vonatkozóan nincs egységes álláspont: 1,1-3,7 GBq közötti dózisokat ajánlanak. Nagyobb jódfelvétel esetén kisebb dózis is megengedhető. Az ablációt a 300 Gy-nál nagyobb besugárzási dózisok esetén lehet elérni. Rekombináns humán TSH előkészítése után adott 3,7 GBq <sup>131</sup>I dózissal 90% feletti ablációs sikert lehet elérni (3,5,6). A tiroxinkezelés célja a műtét utáni hypothyreosis korrekciója, illetve a TSH dependens daganatnövekedés gátlása (TSH <0,1 mU/L). Utóbbira a daganatmentes állapotban már nincs szükség, így a TSH = 0,5–1,0 mU/L között lehet (5). Jódfelvételt nem mutató, metastaticus differenciált pajzsmirigyrák eseteiben jöhet szóba kemoterápia, melynek eredményei szerények. A sorafenib kináz-inhibitor célzott terápiaként alkalmazható a progresszív, lokálisan előrehaladott vagy áttétes, radioaktív jódkézelésre refrakter differenciált pajzsmirigy carcinomában. A redifferenciációs kezelés helyreállítja a sejtek növekedési kontrollját, ez a terápiás módszer reális alternatív lehetőségnek látszik (3).

A rosszul differenciált pajzsmirigydaganatok esetén totális thyreoidectomia szükséges, és nyirokcsomóáttét esetében ezt szintén módosított nyaki dissectioval kell



kiegészíteni. Megkísérelhető a radiojód abláció és a külső besugárzás, valamint a kemoterápia alkalmazása is (4).

Anaplasticus carcinoma esetében régen isthmectomiát, illetve palliatív külső besugárzást alkalmaztak. Azonban a kombinált multiplex terápiás eljárások: a tumor teljes eltávolítása, a szisztémás kemoterápia és a besugárzás kissé kedvezőbb eredményeket adtak. A biológiai kezelési formákkal mintegy 5-10%-os átmeneti eredménynövekedés érhető el (4,45).

Medullaris carcinoma kezelése során a totális thyreoidectomiától és nyirokcsomóáttétek esetében nyaki vagy akár mediastinalis dissectiótól, esetleg külső besugárzástól várható eredmény. A távoli áttétek bizonyítása a műtétet ellenjavallja. Inoperábilis helyzetben előtérbe kerül a citotoxikus és a biológiai kezelés. Kóros génhordozók preventív műtéti ellátása a familiáris medullaris pajzsmirigyrák esetében 6 éves kor felett javasolt. (3,4,46)

### **1.1.6 A pajzsmirigy-tumороk prognózisa és gondozása**

A jól differenciált pajzsmirigy-daganatok prognózisa attól függ, hogy a TNM rendszer szerint milyen stádiumban van a betegség (4). A kis rizikójú betegek túlélési esélyei nagyon jók, a gyógyulás aránya a 90%-ot is meghaladhatja. Sajnos a nagy rizikójú betegcsoport kilátásai lényegesen rosszabbak (3,5).

A nyomon követésben igen fontos a tireoglobulin monitorozása (5). Kis rizikójú betegen a primer kezelést követően 3 hónappal csak a TSH-szintet kell ellenőrizni (a tiroxinkezelés beállításának ellenőrzése), míg 6–12 hónap után kell sort keríteni ultrahangvizsgálatra és stimulált tireoglobulin-meghatározásra. Ha a tireoglobulin küszöb alatti értékű és az ultrahang is negatív, a beteg tumormentesnek tekinthető (5). Ilyenkor a kezelést szubsztitúciós kezeléssé kell alakítani és a betegeket évente ellenőrizni (3). Ha a tireoglobulin a stimulálás (endogén vagy exogén) után emelkedett, de még a beavatkozási küszöb érték alatti (kb. 1-2 ng/ml), akkor a stimulálást egy év múlva újra el kell végezni (3,9). Ismétléskor az 5-10 ng/ml-es stimulált tireoglobulin nagy valószínűséggel perzisztáló betegséget jelez, ilyenkor műtét vagy radiojódterápia

jön szóba (3). Ha beavatkozási küszöb fölötti értéket kapunk, vagy képkötő vizsgálatokkal eltérés látszik, stimulálás után nagy dózisú ( $^{131}\text{I}$  3,7-7,4 GBq) izotópkezelés ajánlatos (3,5). Mivel az antitireoglobulin autoantitestek befolyásolják a tireoglobulin szintet, azokat is érdemes meghatározni. Gyógyulás esetén az autoantitestek eltűnnek a vérből, bár az antigén eltűnése után 2-3 évet is igénybe vehet (9). Ha a tireoglobulin ismét megjelenik a vérben, vagy normális, illetve küszöb alatti tireoglobulinérték mellett az antitireoglobulin antitestek mennyisége fokozatosan emelkedik az egyes kontrolloknál, recidíva gyanújáról van szó (6).

A nagy rizikójú csoportba tartozó perzisztáló vagy rekuráló, illetve metastaticus betegség esetén rossz a prognózis (5). Lokális, regionális recidíva a differenciált pajzsmirigyrákos betegek 5-20%-ánál fordul elő, ezek egyötödében távoli metastasis is van. A nyaki recidívák 60-70%-a nyirokcsomó metastasis (9). Lokális, regionális recidívánál műtét és/vagy izotópterápia szükséges, jódfelvétel hiányában külső besugárzás (5). Locoregionalis recidíva esetén a 10 éves túlélés 60% körüli lehet (9). A mikronodularis tüdőmetastasisok izotópkezelése után akár 60%-ban is elérhető a remisszió. Csontmetastasisoknál – ha lehet – műtét, illetve izotópkezelés szükséges (ha van jódfelvétel), esetleg külső besugárzás (5).

Az anaplasticus carcinoma kevés kivétellel letális kimenetelű, az érintettek a diagnózis felállítását követően 4-6 hónapon belül meghalnak. Valódi gondozásról nem beszélhetünk (3,4).

A medullaris carcinoma esetén a legagresszívebb rák a MEN2B csoportba tartozó, míg kevésbé a MEN2A csoportú és a familiáris carcinoma (4). A sporadikus forma fennálltakor a prognózis rendszerint kedvezőbb, az 5 éves túlélés 80 %. Áttétek hiányában a hormonszint 6, majd 12 havonként történő ellenőrzése javasolható. Metastasisok esetén 3-6 havonta végzett kontroll jön szóba. 6 éves kor felett a családszűrésnek az adja meg az értelmét, hogy korai stádiumban a rosszindulatúság még csak kevés sejtre lokalizált, így az érintett családtagok kellő radikalitású műtéttel egyszer s mindenkorra meggyógyíthatók (3).

## 2 Célkitűzések

A molekuláris genetika ma már sok kórkép esetében nélkülözhetetlen diagnosztikai eszköz. Az elmúlt évtizedben sikerült olyan mutációkat felderíteni, amelyek előfordulása gyakoribb egyes pajzsmirigydaganatokban. Munkánk során célul tűztük ki, hogy hazai mintákban jóindulatú pajzsmirigygöbökből több gént és génátrendeződést, mint lehetséges klinikai markereket azonosítsunk. A pajzsmirigyrák kialakulásában fontosnak gondolt genetikai tényezők vizsgálatával növelni kívántuk a diagnosztikus pontosságot. Emellett a génmutációk jelenléte jóindulatú göbökben előrevetítheti a rosszindulatú átalakulás lehetőségét, hozzájárulva annak eldöntéséhez, hogy melyik „hideg” göb műtéti eltávolítására van feltétlenül szükség. Nagy esetszámú, prospektív magyarországi vizsgálatunk során az alábbi szempontokra helyeztük a hangsúlyt:

1. Szomatikus BRAF génmutáció vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben, valamint a BRAF mutáció és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése.
2. Szomatikus RAS géncsalád (HRAS, NRAS, KRAS) mutációinak vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben, valamint a RAS mutáció és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése.
3. Szomatikus RET/PTC génátrendeződés vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben, valamint a RET/PTC átrendeződés és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése.
4. Szomatikus PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződés vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben, valamint a PAX8/PPAR- $\gamma$  átrendeződés és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése.
5. Több éves betegkövetés alapján a genetikai eltérések diagnosztikus eszközként való alkalmazásának biostatistikai elemzése.

### 3 Módszerek

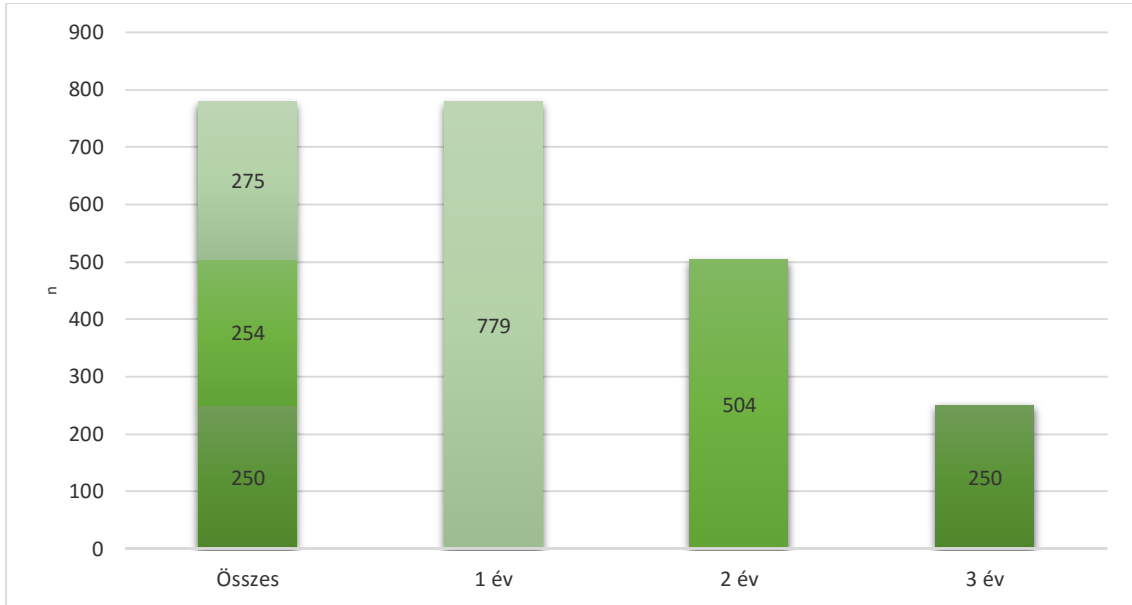
#### 3.1 Vizsgált betegek

A jelen tanulmányban 824 pajzsmirigygöb vizsgálatát végeztük el. A betegek az ország minden tájáról érkeztek a Semmelweis Egyetem I. számú Belgyógyászati Klinika, I. számú Sebészeti Klinika és II. számú Patológiai Intézet közös Aspirációs Citológia Szakrendelésére. Innen kerültek kiválasztásra azok a betegek, akik fizikális vizsgálat, laboratóriumi teszt és képalkotó vizsgálatok (ultrahang, szcintigráfia és CT) alapján a pajzsmirigy göbös megbetegedésében szenvedtek. A diagnózis felállítása minden esetben az érvényben lévő szakmai protokollok szerint, a klinikai tünetek, képalkotó vizsgálatok és hormonvizsgálatok eredményeinek birtokában történt.

A betegek pajzsmirigy „hideg” göbeiből vékonytű-biopsziával nyertük a vizsgálati mintákat. Az aspirációs citológia vizsgálatkor 779 (611 nő és 168 férfi, átlagéletkor  $54,7 \pm 15,3$ ) „hideg göb” jóindulatúnak bizonyult, amit alátámasztott két, egymástól független, tapasztalt patológus szakorvos véleménye.

A citológiai vizsgálattal malignitást vagy kétes eredményt mutató göböket az I. Sebészeti Klinikán eltávolítottuk. Nem diagnosztikus értékű vagy nem elfogadható leletek esetében újabb vizsgálatra került sor a beválasztás előtt, vagy az érintett beteg nem került a vizsgálatba.

A vizsgálatot az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá (ETT-TUKEB 1160-0/2010-1018EKU). (1. melléklet) A vizsgálatba való beválasztás előtt valamennyi beteg részletes írásos és szóbeli tájékoztatásban részesült, majd írásos beleegyezésüket adták a részvételhez. (2. melléklet) A vizsgálatunkba négy év alatt összesen 779 pajzsmirigygöbből vett minta került. A mintagyűjtéssel párhuzamosan a megfigyelés és kapcsolatteremtés évente történt a 2010-es év végétől kezdve. (V. ábra)



V. ábra: A követési szakaszok bemutatása

A vizsgált egyének egészségi állapotával kapcsolatos változások nyomon követését rendszeresen ismételt telefoninterjúk és orvosi vizitek formájában végeztük. A következő kérdéseket tettük fel az interjúk során:

1. Történt-e érezhető változás vagy romlás az állapotában a szöveti mintavétel (túbiopszia) óta?
2. Volt-e pajzsmirigyműtété a biopsziát követően?
3. Volt-e ismételt vagy újabb biopszia? (a fenti időpont óta)

A válaszok mellett rögzítettük a szövettani vagy citológiai eredményeket és a követés módját. (3. melléklet) (VII. táblázat)

VII. táblázat: 779 beteg/minta jellegzetessége

<u>Jellegzetesség</u>	<u>Összes /n=779/ (%)</u>
Kor(évek)	54,7 ± 15,3
Nem(nő:férfi)	611:168
<b>FNAB ismétlése</b>	
1 alkalommal	96(12,3)
több alkalommal	27(3,5)
<b>Műtét</b>	
	49(6,3)
<b>UH követés</b>	512(65,7)

FNAB: vékonytű aspiráció (fine needle aspiration biopsy)

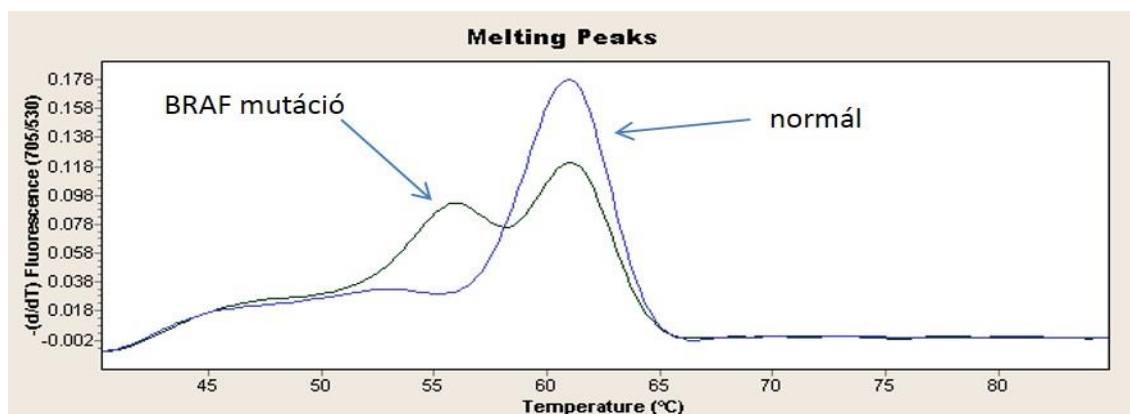
UH: ultrahang

### 3.2 Nukleinsav izolálás

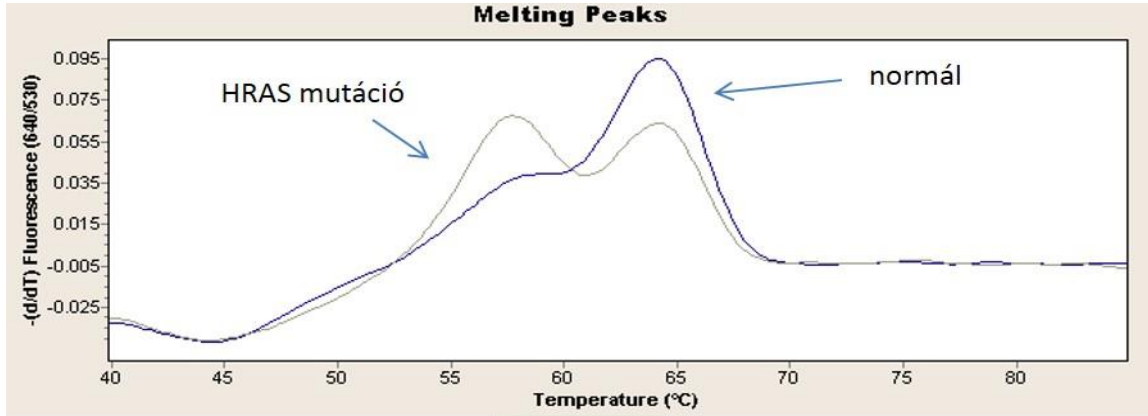
A mintavételi anyagokból a DNS-izolálás a Roche High Pure PCR template Preparation Kit (Roche, Indianapolis, IN, Amerikai Egyesült Államok) segítségével történt. A teljes RNS-t a Roche High Pure RNA Isolation Kittel (Roche) nyertük ki a mintákból. Minden esetben a cég által előírt protokollt használtuk. Az izolált RNS és DNS mennyiségét és minőségét NanoDrop spektrofotométerrel (Nanodrop Technologies, Montchanin, DE, Amerikai Egyesült Államok) ellenőriztük 260/280 nm hullámhossztartományon.

### 3.3 Szomatikus onkogén génmutációk vizsgálata

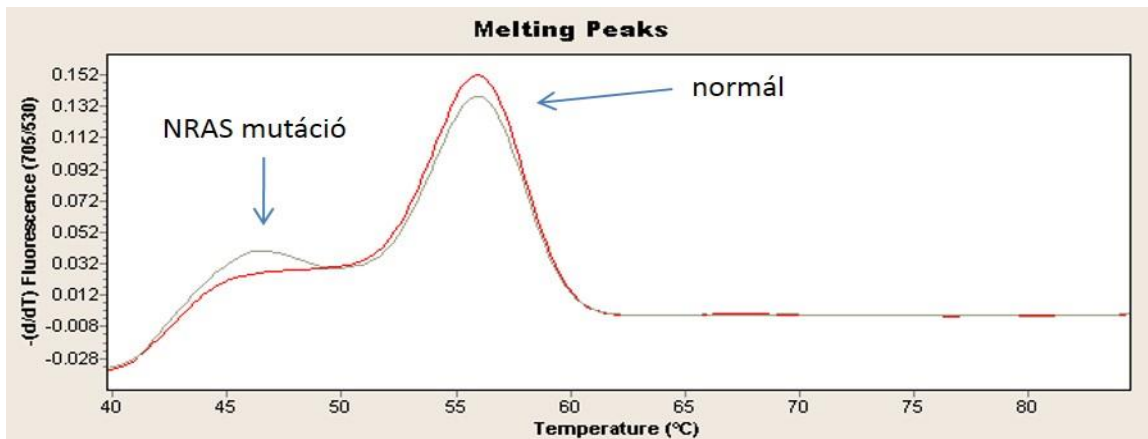
A BRAF gén 600-as kodon rs113488022 számú, a HRAS gén 61-es kodon rs28933406 számú, az NRAS gén 61-es kodon rs79057879 számú és a KRAS gén 12-es kodon rs118135424 számú, illetve 13-as kodon rs121913535 számú egy pontos nukleotid polimorfizmusát (SNP) vizsgáltuk. A DNS-mutációk fluoreszcens detektálásához Roche LightCycler készüléket használtunk (Roche LightCycler 2.0 Instrument). Mindegyik mutációhoz előre megtervezett primer párt és oligonukleotid próbákat alkalmaztunk (40). Az amplifikáláshoz felhasználtunk 1  $\mu$ l izolált DNS-t, 0,5-0,5  $\mu$ l-t mindkét primerből (TIB MOLBIOL Berlin), 0,5-0,5  $\mu$ l-t mindkét hibridizációs próbából (TIB MOLBIOL Berlin), 1,5  $\mu$ l vizet, 0,5  $\mu$ l bovine serum albumin (BSA) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Amerikai Egyesült Államok) és 5  $\mu$ l JumpStartTaq ReadyMix PCR polymerase (Sigma-Aldrich) oldatot. A vizsgálatot a következő protokoll alapján végeztük: 5 percen át 95 °C-on történő denaturálás; 60 cikluson át 10 s 95 °C, 10 s 54 °C és 15 s 72 °C, majd a készülék által 40–80 °C között fluoreszcens jelzéssel detektált melting görbét elemeztük. A melting görbét a fluoreszcens jel hőmérséklet szerinti negatív deriváltjából ( $-dF/dT$ ) határozta meg a szoftver. A módszer mutáció szenzitivitása 10% volt, ami azt jelenti, hogy minimum 10%-ot kell elérniük a mutáns allélt hordozó sejtek arányának a mintában. Mindezt a pozitív kontrollok hígítási során végzett vizsgálatokra alapoztuk. (VI-VIII. ábra)



VI. ábra: BRAF mutáció olvadáspont görbéje



VII. ábra: HRAS mutáció olvadáspont görbéje



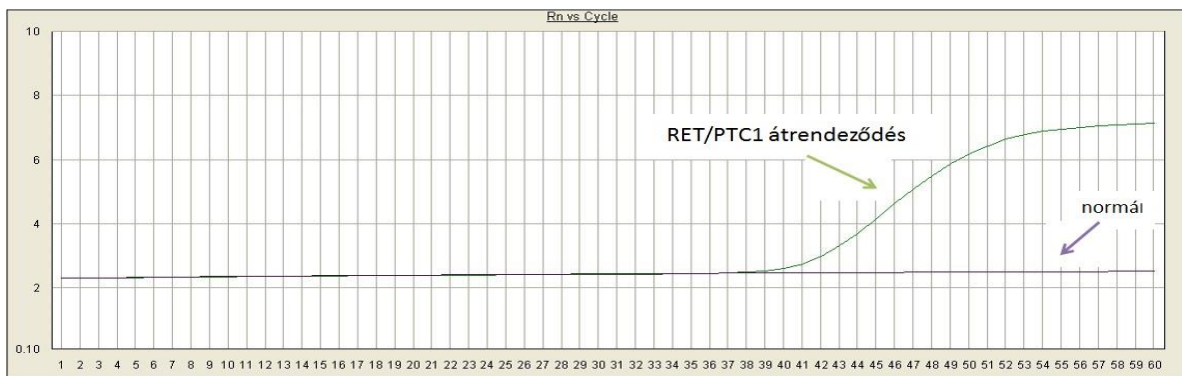
VIII. ábra: NRAS mutáció olvadáspont görbéje

### 3.4 Szomatikus onkogén génátrendeződések vizsgálata

A RET/PTC1, RET/PTC3, PAX8ex7/PPAR- $\gamma$  és PAX8ex9/PPAR- $\gamma$  génátrendeződéseket RNS-ből valós idejű polimeráz láncreakció (RT-PCR) technikával vizsgáltuk ABI Prism 7500 (Applied Biosystem by Life Technologies, Foster City, CA, Amerikai Egyesült Államok) rendszeren. Mintánként 10  $\mu$ l RNS-t (250-300 ng) reverz transzkripció során cDNS-re fordítottunk 200 U SuperScriptIII RN-áz H reverz transzkriptáz (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok), 40 U RNaseOUT ribonukleáz-inhibitor (Invitrogen Life Technologies) és 2  $\mu$ l random primer (Promega, Madison, WI, Amerikai Egyesült Államok) felhasználásával. A reakcióelegyet 37 °C -on egy órán át inkubáltuk. Génspecifikus



TaqMan-próba alapú génexpressziós eljárást alkalmaztunk (40), ahol minden génspecifikus szett tartalmazott egy 5' irányú és egy 3' irányú primert, valamint egy fluoreszcens jelölő-molekulával ellátott próbát. A polimeráz láncreakció (PCR) 20 µl végtérfogatban zajlott, amely tartalma volt 2 µl cDNS, 10 µl TaqMan 2x Universal PCR Master Mix NoAmpErase UNG (Applied Biosystems by Life Technologies), 0,5 µl, validált génspecifikus, 2 pmol koncentrációjú hibridizációs TaqMan-próbák 20x (Applied Biosystems by Life Technologies), 40 pmol koncentrációjú primerek és 7,5 µl ultrapure víz. Minden gént 2-2 párhuzamos méréssel vizsgáltunk 96 lyukú lemezeken a következő protokoll szerint: első lépésként 2 perc inkubálás 50 °C-on, majd 10 perc denaturálás 95 °C-on, utána a PCR amplifikálás, amely 60 ciklusból állt. Az egyes ciklusok pedig a következőkből álltak: 15 s denaturálás 95 °C-on, 15 s anneálás 55 °C-on és 1 perc szintézis 60 °C-on. (IX. ábra)



IX. ábra: RET/PTC1 génátrendeződés expressziós képe

### 3.5 Statisztika

Vizsgálatunkat kétféle torzítás terhelheti: az álpozitív és az álnegatív eredmények. Ennek megfelelően, a validitásnak két komponense van, a szenzitivitás és a specificitás.

A vizsgálat szenzitív, ha korrekten azonosítja a valóban pozitív betegeket, azaz kevés az álnegatív eredmény. Ez azt jelenti, hogy a vizsgálat szenzitivitása közel 100%-os. A vizsgálat specifikus, ha a nem beteg személyeket azonosítja korrekten, azaz kevés az álpozitív eredmény. Más szóval a vizsgálat specificitása közel 100%-os.

A szenzitivitáson és a specificitáson túlmenően, egy vizsgálat eredményességi mutatója a vizsgálat prediktív értéke.

A vizsgálat pozitív prediktív értéke megadja, hogy egy pozitív eredményű személy milyen valószínűséggel beteg. A negatív prediktív érték azt méri, hogy egy személy negatív eredményéből milyen valószínűséggel következik a betegségtől való mentessége.

Egy vizsgálat pontosságát ezért olyan szám fejezi ki, amely a valós (pozitív és negatív) eredmények arányát adja meg az összes kimenetelhez képest. (VIII. táblázat)

A statisztikai elemzéshez a MedCalc Statistical Software 11.5.0 programcsomagot használtuk. (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium) A választott szignifikancia szint minden esetben  $p < 0,05$  volt.

VIII. táblázat: Fogalmak a vizsgálati eredmények diagnosztikus értékeléséhez

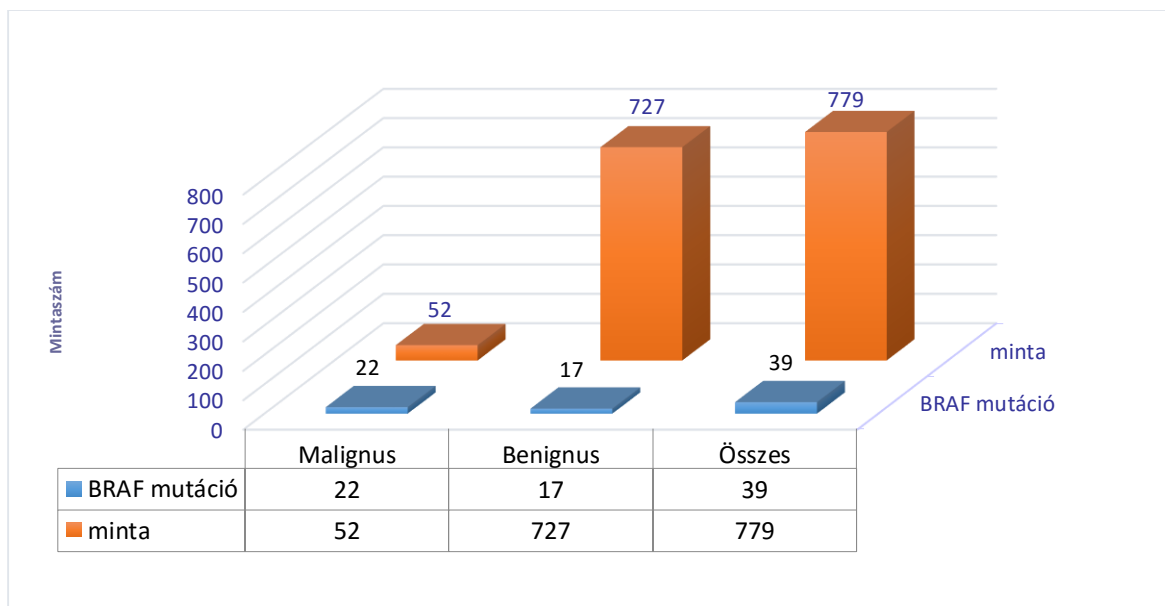
		valós állapot		
		pozitív (+)	negatív (-)	
vizsgálat eredménye	pozitív (+)	Valódi pozitív (VP)	Álpozitív (ÁP)	Pozitív prediktív érték $VP/(ÁP + VP)$
	negatív (-)	Álnegatív (ÁN)	Valódi negatív (VN)	Negatív prediktív érték $VN/(ÁN + VN)$
		szenzitivitás $VP/(VP + ÁN)$	specificitás $VN/(VN + ÁP)$	pontosság

## 4 Eredmények

### 4.1 Szomatikus BRAF génmutáció vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben

A BRAF génmutációt tekintve összesen 779 jóindulatú pajzsmirigygöb mintát vizsgáltunk, amelyből 611 származott nőtől és 168 pedig férfi betegtől, az összes beteg átlagéletkora  $54,7 \pm 15,3$  volt.

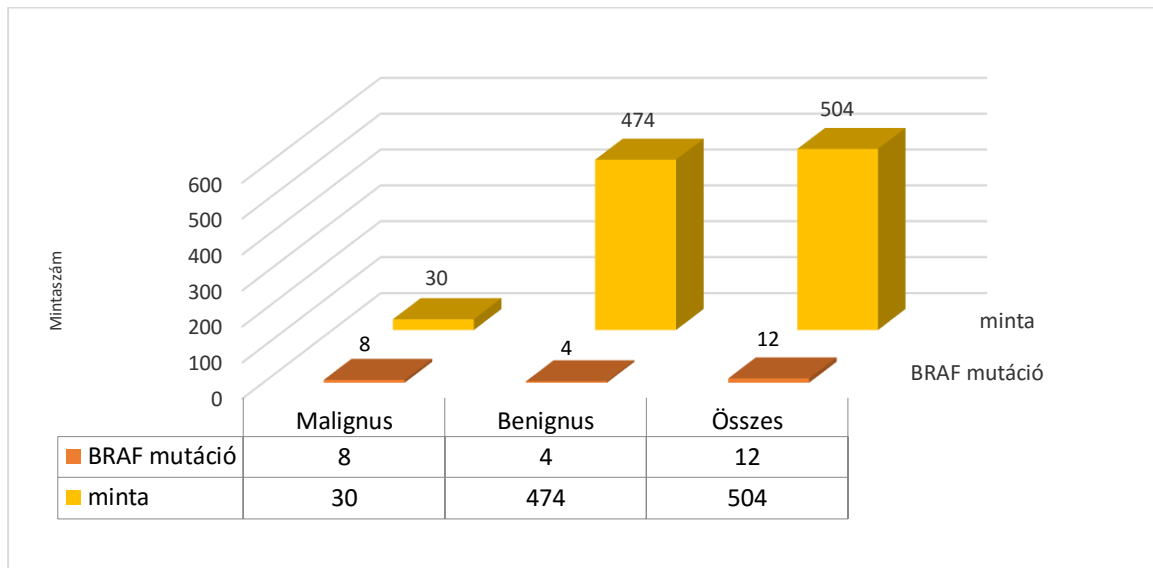
39 (5%) minta hordozta a BRAF defektusát. Kiinduláskor végzett aspirációs citológia vizsgálatkor az összes „hideg göb” jóindulatúnak bizonyult. A betegek egy éves követése alatt 727 (93%) göb volt jóindulatú, amiből 17 (2,3%) esetben detektáltunk BRAF mutációt. 52 (6,7%) malignus vagy praecancerosus betegség igazolódott aspirációs citológia vagy szövettani vizsgálat alapján. Ebben az 52 mintában 22 (42%) BRAF génmutációt találtunk. (X. ábra)



X. ábra: BRAF génmutáció a vizsgált göbökben egy év után

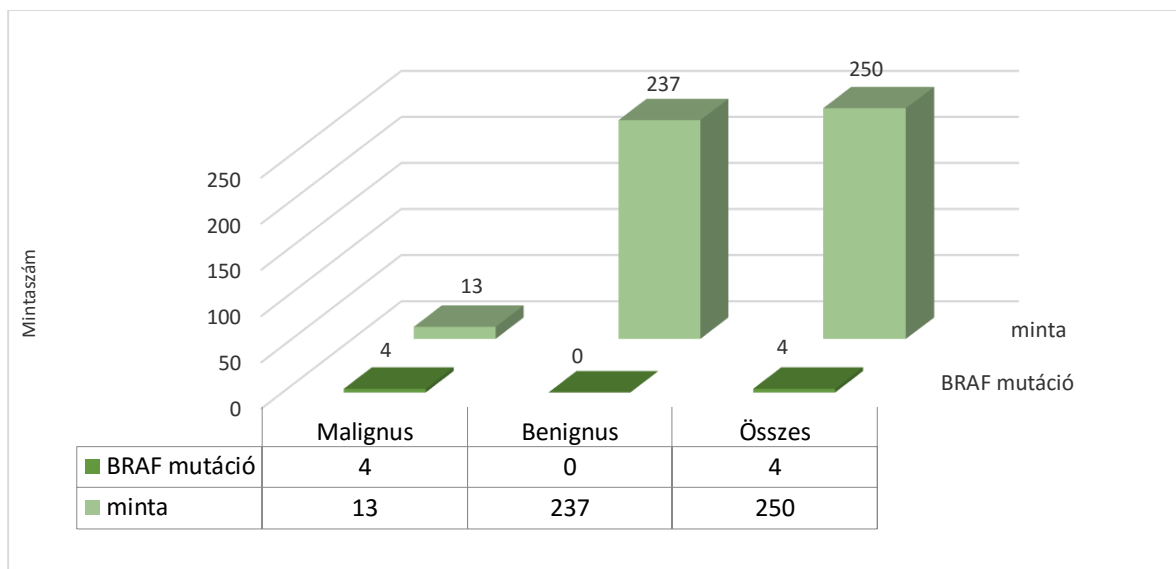
Két év követés után 504 mintából 12 (2,4%) BRAF mutációt ismertünk fel. 474 (94%) benignus göbből 4 (<1%) volt BRAF pozitív. 30 (6%) rosszindulatú daganatot és

follicularis adenomát vagy follicularis neoplasiat igazoltunk. Ebből 8 (26,7%) esetben volt pozitív a genetikai vizsgálat a BRAF mutációt tekintve. (XI. ábra)



XI. ábra: BRAF génmutáció a vizsgált göbökben két év után

A betegek három éves követése során 250 pajzsmirigycsomóból 4 (1,6%) BRAF mutációt azonosítottunk. 237 (94,8%) jóindulatú pajzsmirigygöb nem mutatott BRAF pozitivitást, ebből következik, hogy a maradék 13 (5,2%) pajzsmirigyrákban találtuk a 4 (30,8%) mutációt. (XII. ábra)



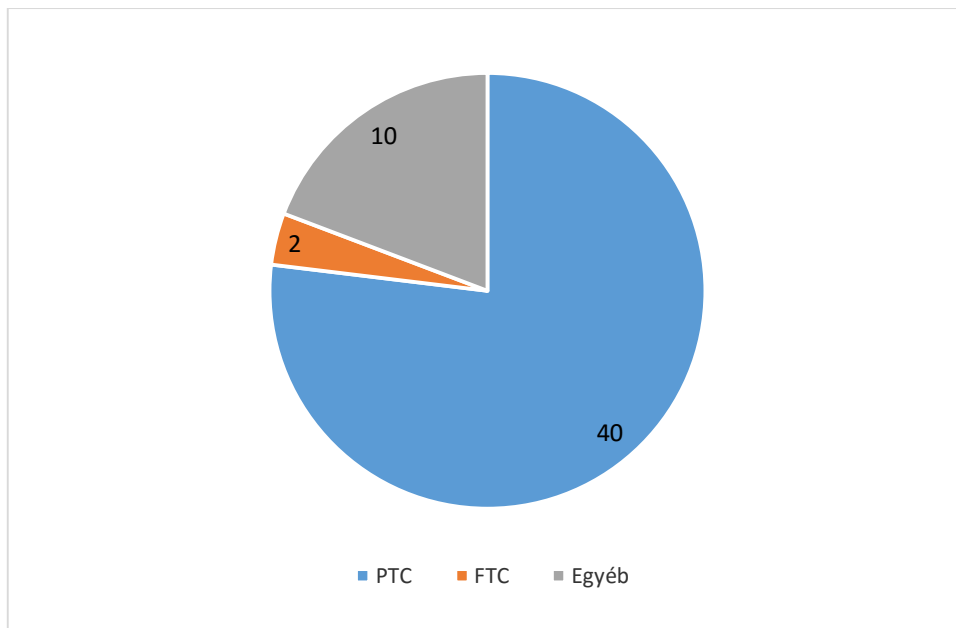
XII. ábra: BRAF génmutáció a vizsgált göbökben három év után

#### 4.1.1 A BRAF mutáció és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése

A betegek egy éves követése alatt a 22 (55%) BRAF mutációt a szövettanilag papillaris carcinomának (52-ből 40 minta) bizonyult esetekben fedeztük fel. 2 (4%) betegnél igazolódott follicularis carcinoma és 10 (19%) esetben egyéb (follicularis adenoma, anaplasticus és medullaris carcinoma), de ezekből a mintákból nem detektáltunk semmilyen genetikai elváltozást. (XIII. ábra)

Két éves követés után mind a 8 (30,8%) BRAF pozitivitás papillaris daganatban volt kimutatható. 1 (3,3%) betegnél találtunk follicularis carcinomat és 3 (10%) esetben follicularis adenomát vagy neoplasiat.

A betegek három éves követése során 13 (100%) papillaris pajzsmirigy carcinoma került felfedezésre, ezekben detektáltunk 4 (30,8%) BRAF mutációt.



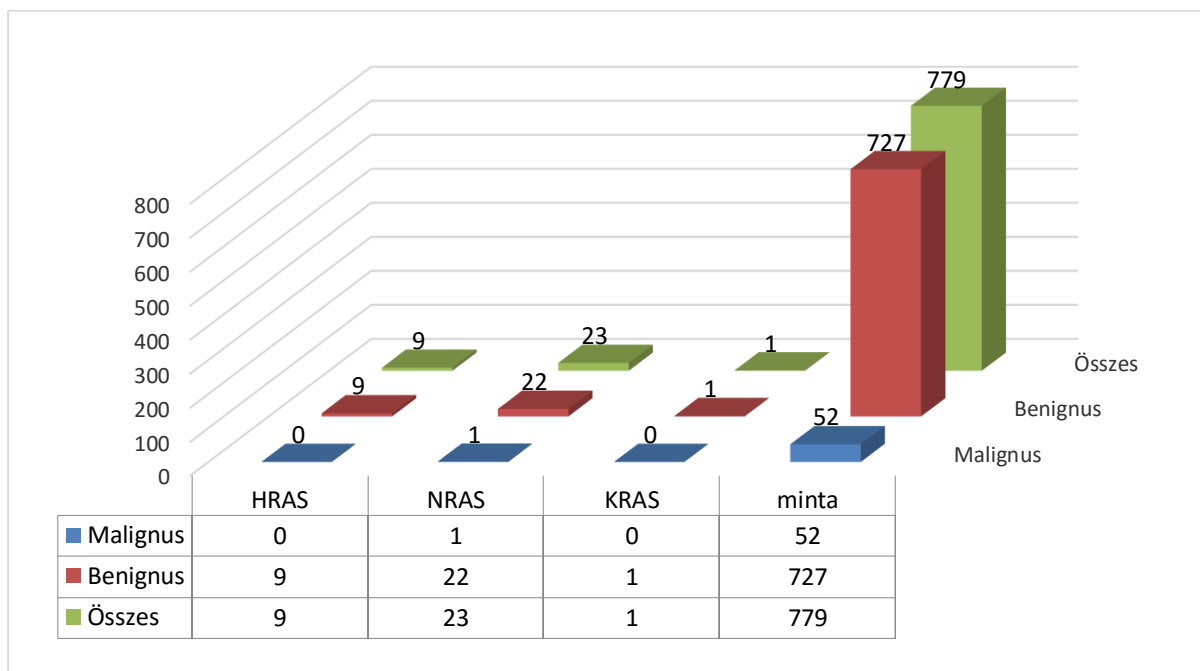
XIII. ábra: A rosszindulatú daganatok megoszlása egy éves követés alatt

PTC: papillaris pajzsmirigy carcinoma; FTC: follicularis pajzsmirigy carcinoma

#### 4.2 Szomatikus RAS géncsalád (HRAS, NRAS, KRAS) mutációinak vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben

A RAS géncsalád mutációinak esetében összesen 779 pajzsmirigygöb mintát vizsgáltunk, amelyből 168 származott férfitől és 611 pedig női betegtől (átlagéletkor  $54,7 \pm 15,3$ ). Összesen 9 HRAS, 23 NRAS és 1 KRAS mutációt találtunk ( $\Sigma$  4,2%).

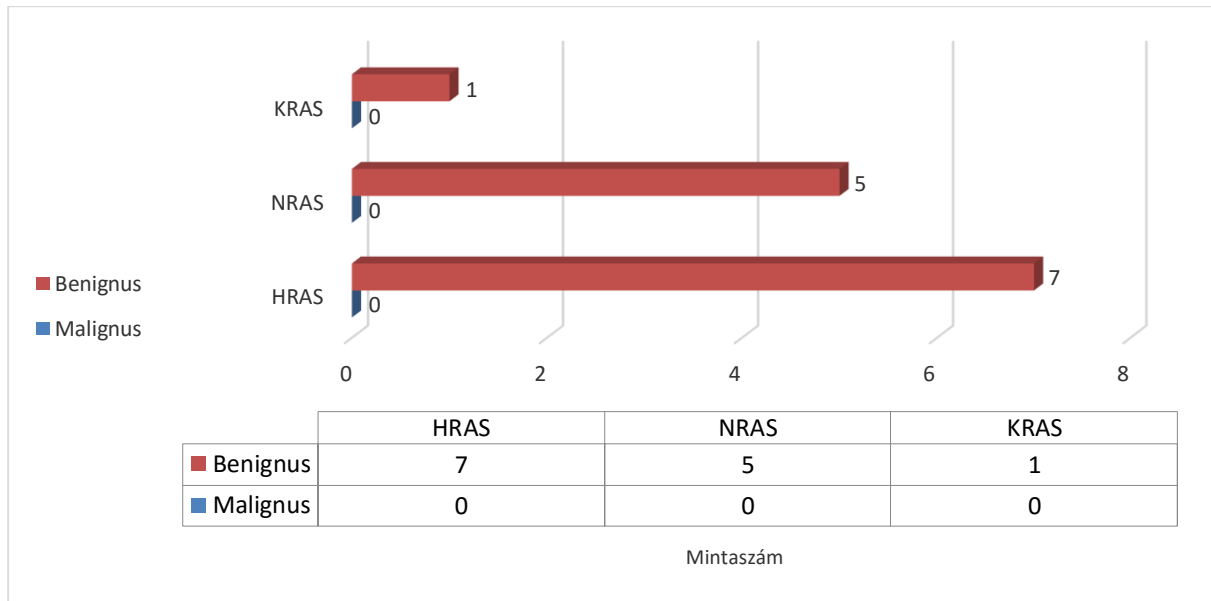
Kiinduláskor végzett aspirációs citológia vizsgálatkor az összes „hideg göb” jóindulatúnak bizonyult. A betegek egy éves követése alatt 727 (93%) göb volt jóindulatú, amiből 9 (1,2%) esetben HRAS, 22 (3%) esetben NRAS és 1 (<1%) esetben KRAS mutációt detektáltunk. 52 (6,7%) malignus vagy praecancerosus betegségből 1 (1,9%) hordozta a RAS – NRAS génmutációt. (XIV. ábra)



XIV. ábra: RAS géncsalád mutációi a vizsgált göbökben egy év után

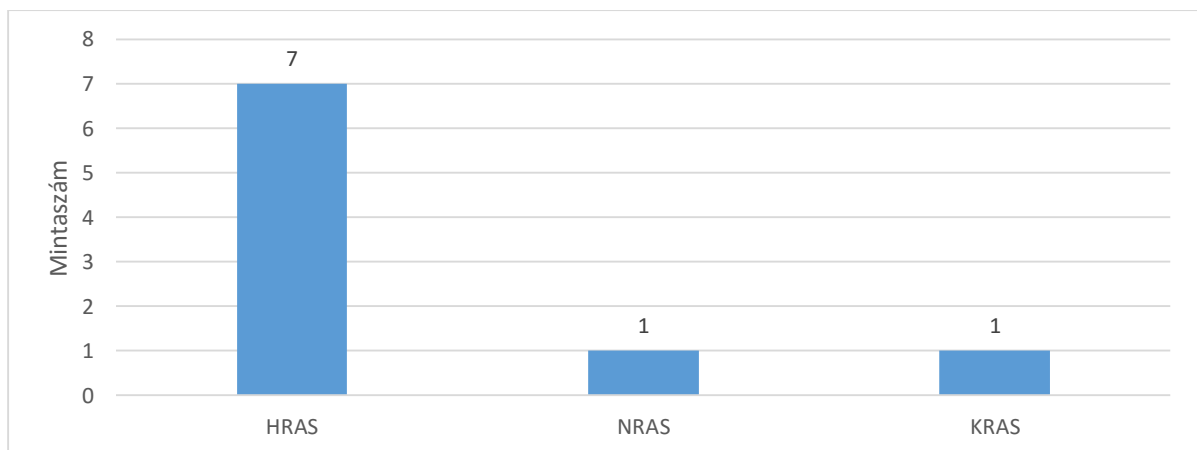
Két év követés után 504 mintából 7 HRAS, 5 NRAS és 1 KRAS mutációt ismertünk fel ( $\Sigma$  2,6%). 474 (94%) benignus göbből sikerült kimutatni ezt a 13 (2,7%) RAS mutációt.

A 30 (6%) malignus vagy malignitásra gyanús elváltozás nem hordozta ezt a genetikai mutációt. (XV. ábra)



XV. ábra: RAS géncsalád mutációi a vizsgált göbökben két év után

A betegek három éves követése során 250 pajzsmirigycsomóból 7 HRAS, 1 NRAS, 1 KRAS mutációt azonosítottunk ( $\Sigma$  3,6%). 237 (94,8%) jóindulatú pajzsmirigygöbbsből mutattuk ki az összes 9 RAS pozitivitást (3,8%), ebből következik, hogy a maradék 13 (5,2%) pajzsmirigy-tumorban nem találtuk a RAS mutációt. (XVI. ábra)



XVI. ábra: RAS géncsalád mutációi a jóindulatú göbökben három év után

#### **4.2.1 A RAS mutáció és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése**

A betegek egy éves követése alatt 1 (2,5%) NRAS mutációt igazoltunk 40 (77%) papillaris carcinomának bizonyult esetből. A szakirodalom szerint a follicularis carcinomában (FTC) gyakori RAS mutációt nem sikerült kimutatnunk egyik FTC-ből sem, illetve follicularis adenomából sem. Sem a két év alatt, sem a három év alatt követett betegek esetében nem igazoltunk RAS pozitívást mutató rosszindulatú pajzsmirigydaganatot.

#### **4.3 Szomatikus RET/PTC génátrendeződés vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben**

1 RET/PTC3 génátrendeződést igazoltunk az összes 779 pajzsmirigygöb mintából (611 nő és 168 férfi, átlagéletkor  $54,7 \pm 15,3$ ).

Kiinduláskor végzett aspirációs citológia vizsgálatkor az összes „hideg göb” jóindulatúnak bizonyult. A betegek követése alatt 727 (93%) göb volt jóindulatú, amiből egy esetben sem találtunk RET/PTC átrendeződést. 52 (6,7%) malignus vagy praecancerosus betegségből 1 (1,9%) hordozta a génátrendeződést.

#### **4.3.1 A RET/PTC átrendeződés és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése**

1 (2,5%) RET/PTC3 génátrendeződést detektáltunk a 40 (77%) papillaris pajzsmirigy carcinomából a teljes követést tekintve.



#### **4.4 Szomatikus PAX8/PPAR- $\gamma$ génátrendeződés vizsgálata benignus pajzsmirigyöbökben**

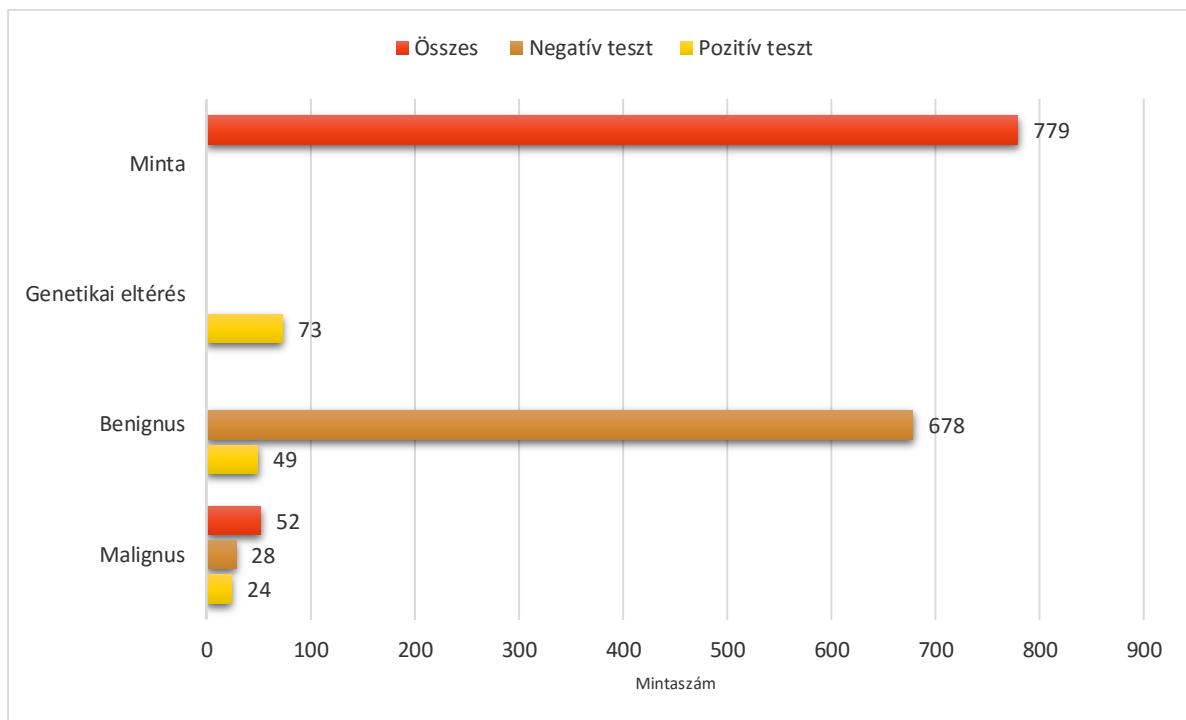
A PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződés esetében 779 pajzsmirigyöb mintát vizsgáltunk, amelyből 168 származott férftól és 611 pedig női betegtől (átlagéletkor  $54,7 \pm 15,3$ ). Egy mintában sem sikerült PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződést kimutatni.

## 4.5 Több éves betegkövetés alapján a genetikai eltérések diagnosztikus eszközként való alkalmazásának biostatistikai elemzése

### 4.5.1 Egy éves követés

A 779 pajzsmirigygöb mintából összesen 73 (9,4%) genetikai eltérést találtunk.

A betegek egy éves követése alatt 678 (87 %) göb volt jóindulatú, és a mutációkat tekintve ezek mind negatívak voltak. 52 (6,7%) malignus vagy praecancerosus betegség igazolódott aspirációs citológia és szövettani vizsgálat alapján. Ebből 24 (46,2%) esetben detektáltunk genetikai elváltozást. 28 (3,6%) rosszindulatú mintában nem találtunk genetikai eltérést. 49 (6,3%) genetikailag pozitív göb nem mutatott malignus elfajulást. (XVII. ábra)



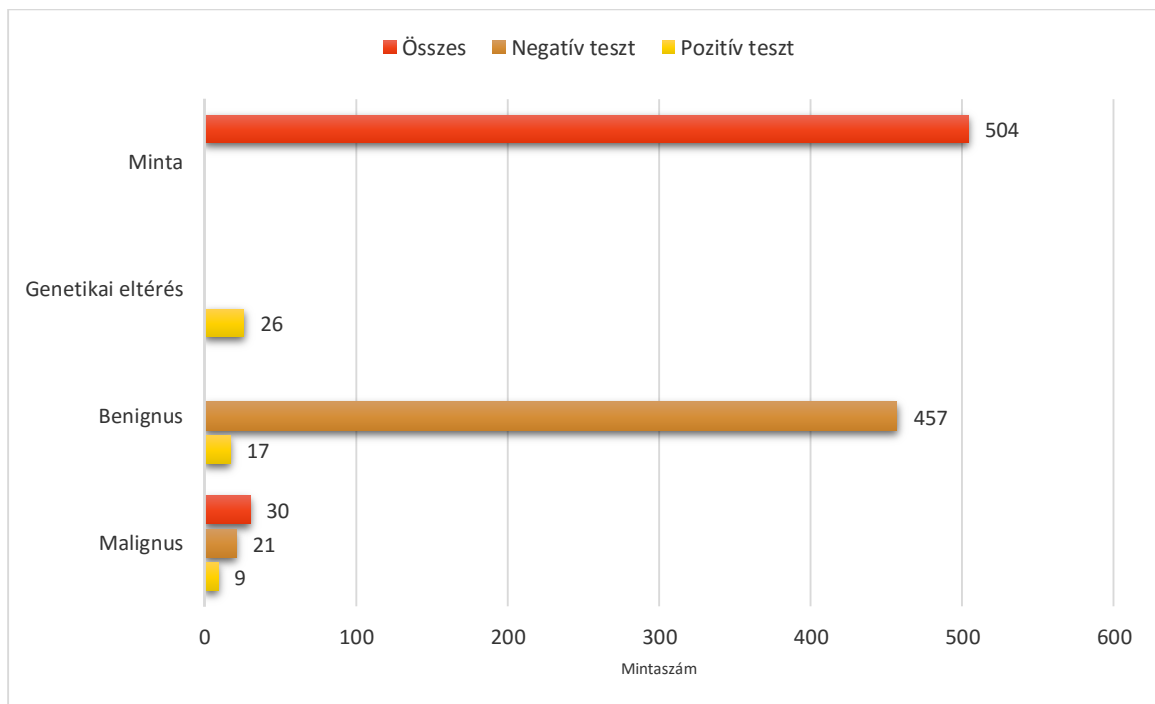
XVII. ábra: Kapcsolat a molekuláris genetikai teszt és a rosszindulatú átalakulás között  
1 év után

A vizsgálat szenzitivitása megegyezik a tumorok mutációs pozitívításával: 46,2 %. A specifitás 93,3 %, a pozitív prediktív érték 32,9 % és a negatív prediktív érték 96 %. A molekuláris biológiai vizsgálat pontossága egy év után: 90,1 %. Leszűkítve a kört és csak a papillaris carcinomákat tekintve a vizsgálat szenzitivitása 60%-ra nő.

#### 4.5.2 Két éves követés

504 mintából 26 (5,2%) genetikai elváltozást ismertünk fel.

A betegek két éves követése után 457 (90,7 %) szövet volt jóindulatú, és ezekben a genetikai vizsgálatok negatív eredményt adtak. 30 (6%) rosszindulatú daganatból 9 (30%) esetben volt pozitív a genetikai vizsgálat. 21 (4,2%) rákos göbben nem sikerült kimutatni genetikai változást, míg 17 (3,4%) pozitív minta nem vált rákossá. (XVIII. ábra)



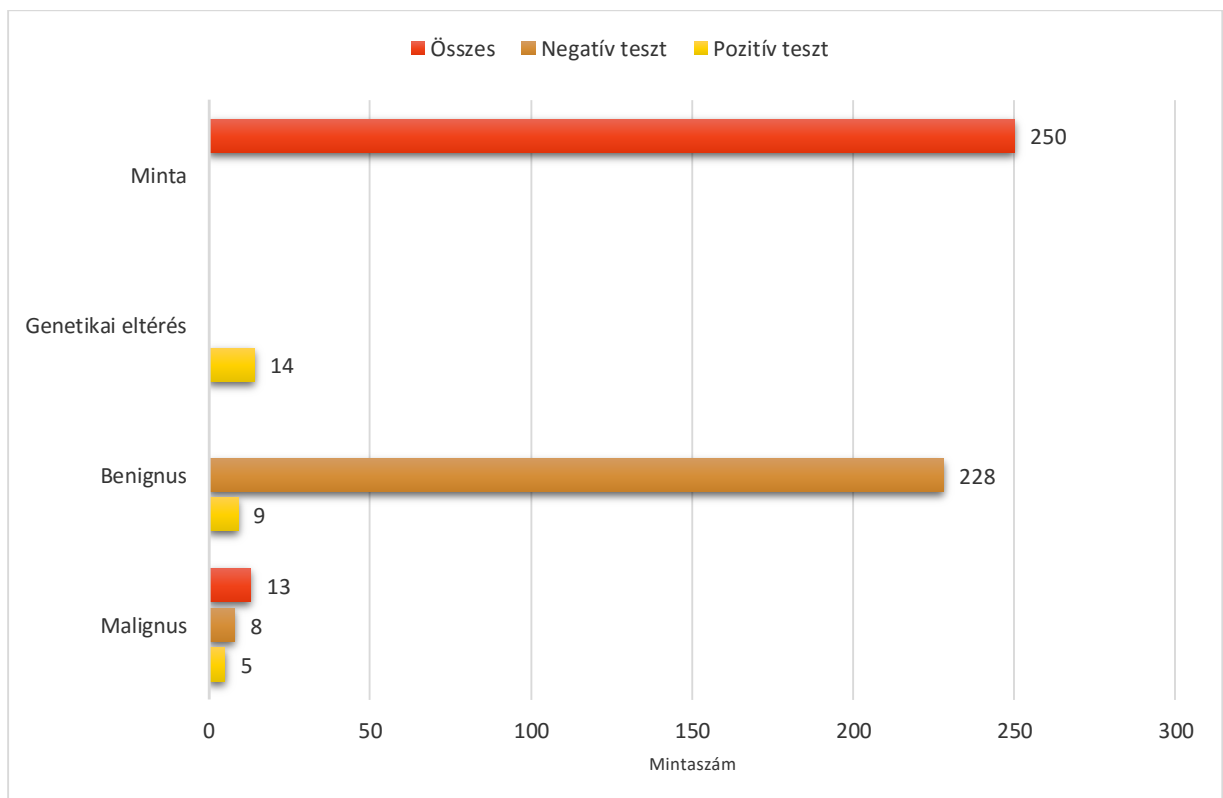
XVIII. ábra: Kapcsolat a molekuláris genetikai teszt és a rosszindulatú átalakulás között  
2 év után

Szenzitivitás 30 %, specificitás 96,4 %, pozitív prediktív érték 34,6 % és a negatív prediktív érték 95,6 %. A molekuláris biológiai vizsgálat pontossága két év után: 92,5%. Papillaris carcinomák esetében a szenzitivitás 34,6%.

#### 4.5.3 Három éves követés

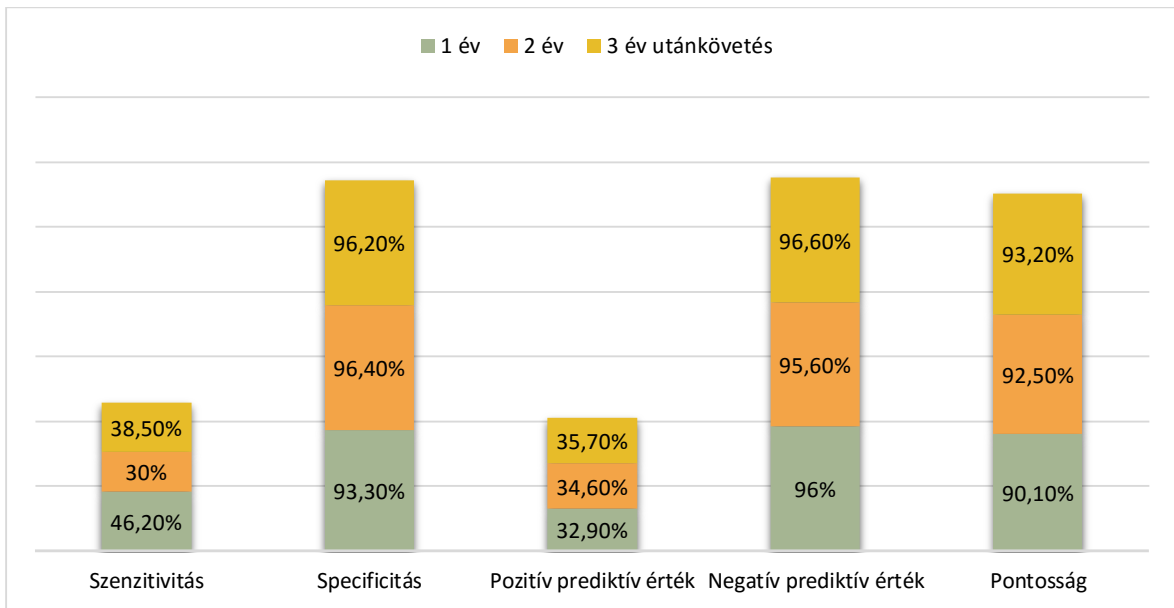
250 pajzsmirigycsomóból 14 (5,6%) mutációt azonosítottunk.

A betegek három éves követése során 228 (91,2%) benignus és mutációkra nézve negatív göböt találtunk. 13 (5,2%) papillaris carcinomából 5 (38,5%) esetben volt genetikai eltérés. 8 (3,2%) esetben a malignomákban nem detektáltunk genetikai mutációt, amíg 9 (3,6%) esetben a genetikai vizsgálat pozitív volt benignus göbökben. (XIX. ábra)

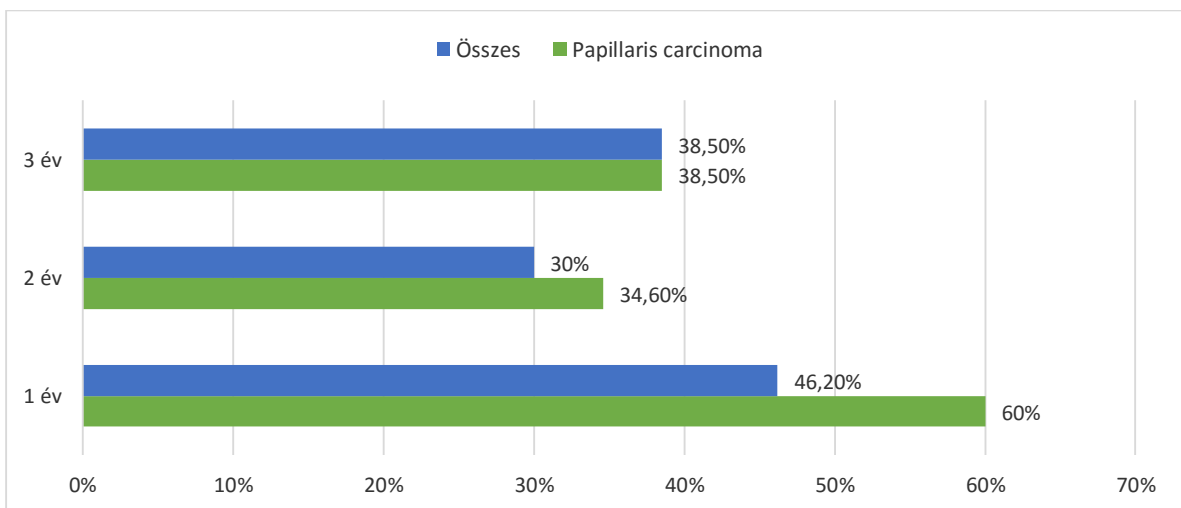


XIX. ábra: Kapcsolat a molekuláris genetikai teszt és a rosszindulatú átalakulás között  
3 év után

Szenzitivitás 38,5%, specificitás 96,2%, pozitív prediktív érték 35,7 % és a negatív prediktív érték 96,6%. A molekuláris biológiai vizsgálat pontossága három év után: 93,2 %. A molekuláris genetikai vizsgálat statisztikai jellemzőit a következő összehasonlító ábrák szemléltetik: (XX.-XXI ábra)

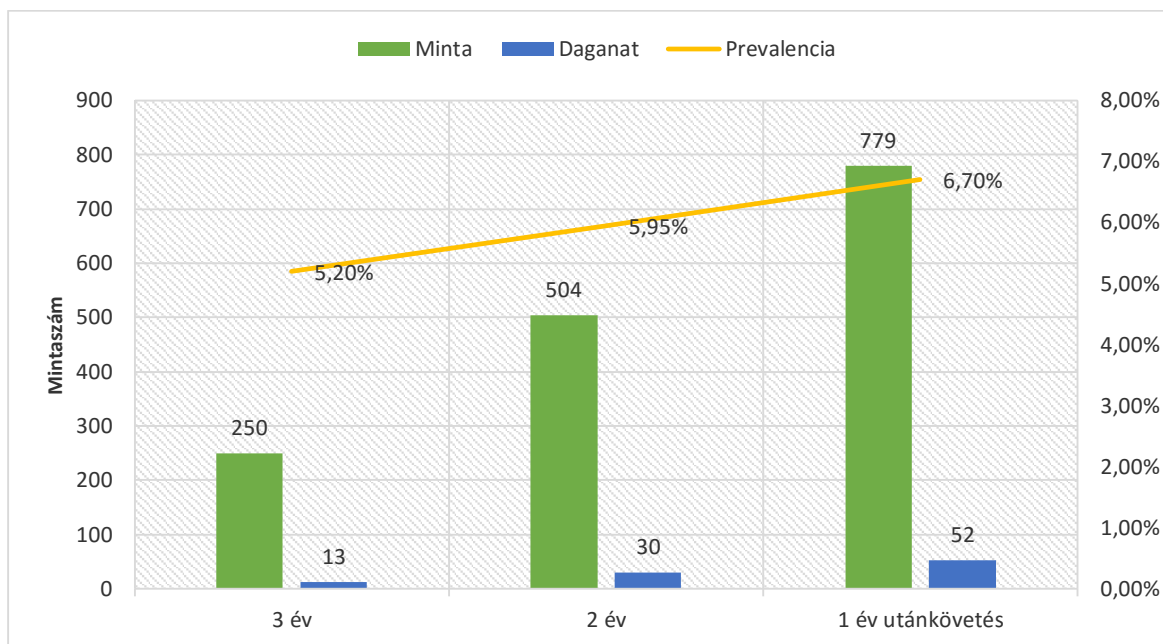


XX ábra: Statisztikai jellemzők bemutatása a három éves követés alapján



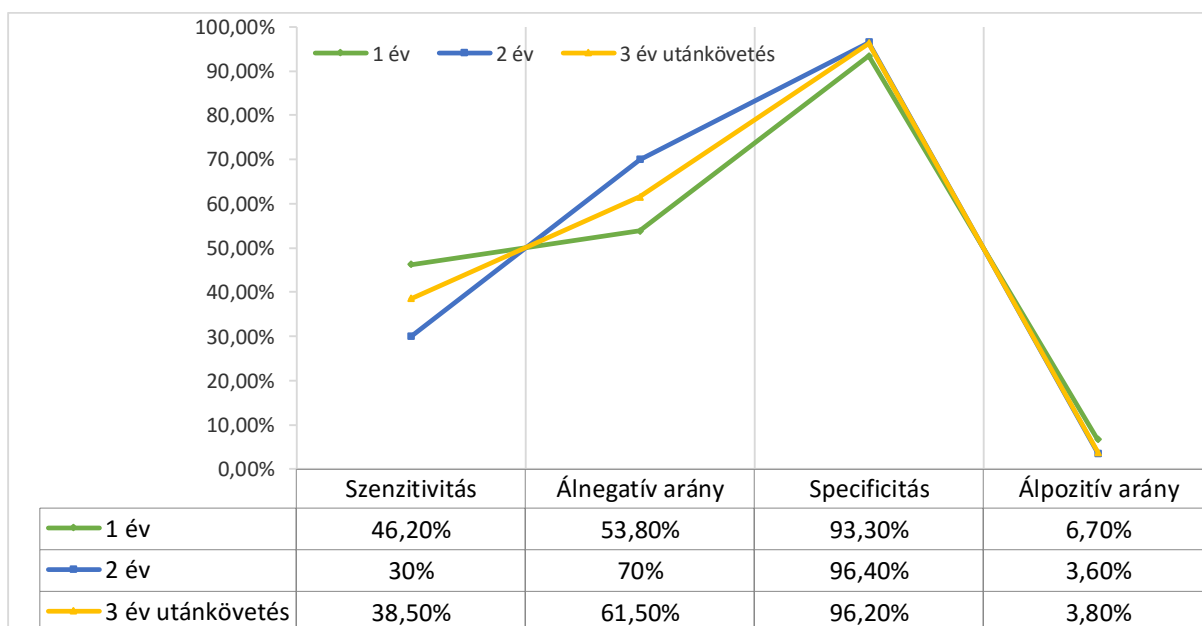
XXI. ábra: Szenzitivitás összehasonlítása a papillaris carcinomát és az összes rosszindulatú daganatot tekintve

A malignitás gyakorisága a követés alatt a következőképpen alakult: (XXII. ábra)



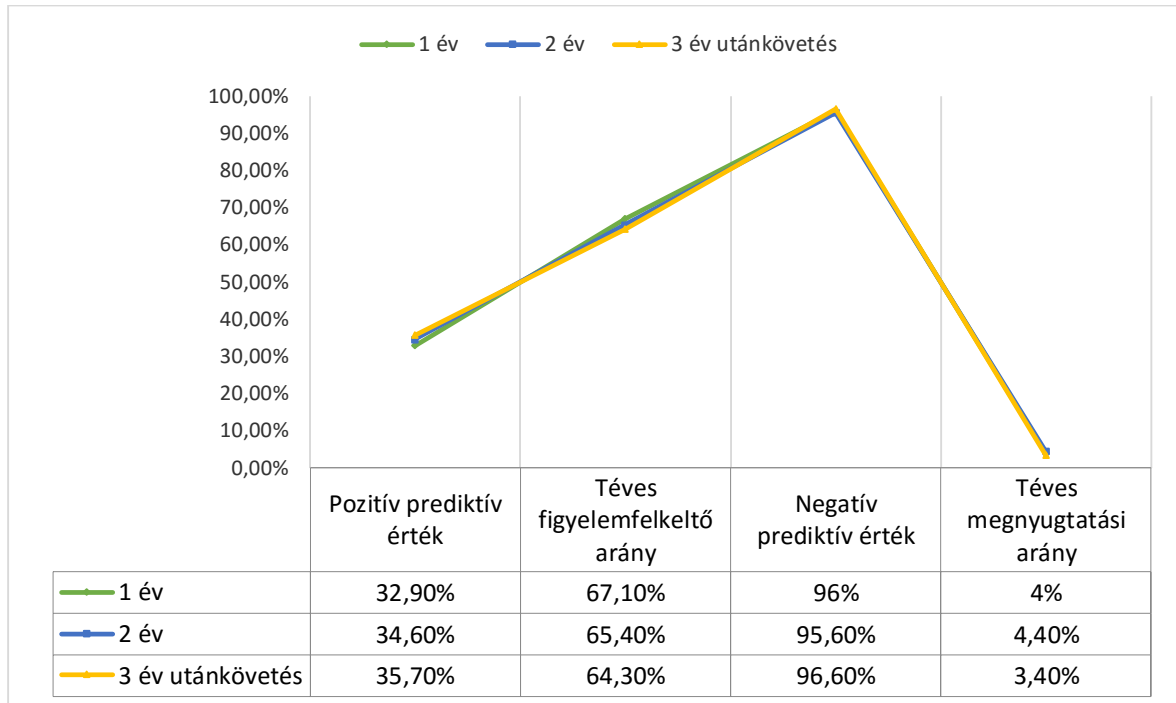
XXII. ábra: A rosszindulatú pajzsmirigydaganatok prevalenciája

Annak a valószínűségét, hogy a teszt egy malignusan elfajult góböt negatívnak talál a betegek közt, vagy annak a valószínűségét, hogy a genetikai vizsgálat malignitást igazol a jóindulatú góbök között, azt az alábbi ábra mutatja: (XXIII. ábra)



XXIII. ábra: Prevalenciától független arányok

A malignitás és a malignitás hiányának valószínűségét, ha a molekuláris genetikai teszt negatív, illetve pozitív a relevanciából és a szegreganciából számított téves figyelemfelkeltő és megnyugtató arány fejezi ki: (XXIV. ábra)



XXIV. ábra: Prevalenciától erősen függő mutatók

## 5 Megbeszélés

A pajzsmirigydaganatok kórismezésének a legfontosabb eszköze, az FNAB, sok esetben nem ad egyértelmű eredményt. Ilyenkor sokszor a sebészi biopszia vagy a műtéti preparátum lehet bizonyító erejű, azaz a diagnózis nem citológiai, hanem szövettani kritériumokon alapul (47). Bizonytalan citológiai vélemény előfordul, ezért ilyen esetben a genetikai vizsgálatok kiegészíthetik és pontosíthatják a diagnózist. A molekuláris genetika, mint diagnosztikus eszköz ma már egyre több kórkép igazolásához nélkülözhetetlen. Ezért cél egy olyan genetikai vizsgálati módszert kifejleszteni, aminek a segítségével akár már jóval korábban, a kóros folyamat manifesztálódása előtt is kimutathatóvá válik a betegség ténye (4,19).

A citogenetikai és molekuláris genetikai eltérések klinikai és patogenetikai szerepének vizsgálatával rosszindulatú betegségekben az onkogenetika foglalkozik. Az első kromoszóma-vizsgálatot a daganatos sejtekben 1956-ban, a humán kromoszómaszám felfedezésének évében, Levan és munkatársai végezték. A 70-es években már feltételezték, hogy a kromoszóma-eltérések alapvető szerepet játszanak a tumorigenesisben azáltal, hogy szelektív proliferatív előnyt biztosítanak a ráksejteknek a normális sejtekkel szemben. Az azóta eltelt évtizedek alatt a tumor citogenetika eredményei és a molekuláris genetika fejlődése bebizonyította, hogy a malignus transzformáció lényege a kiindulásul szolgáló sejt (progenitor) genetikai megváltozása, mutációja. E genetikai változás egyrészt génszintű történések (géndeléció, pontmutáció, virális tumor promotor beépülése a sejtgenomba), másrészt kromoszómaszintű változások (kromoszóma-átrendeződések, kromoszóma-többletek vagy -vesztések) útján következhet be. A spontán oszló daganatsejtekben kimutatható kromoszóma-eltérések eszerint a tumorigenesishez vezető molekuláris történések celluláris megnyilvánulásai. Mivel pedig a genetikai változások és azok anyagcsere következményei határozzák meg a ráksejt viselkedését, más sejtekkel való interakcióját, invazivitását, metasztatizáló képességét és terápia érzékenységét, érthető, hogy az oszló daganatsejtekben kimutatott kromoszóma-aberrációk és molekuláris genetikai eltérések alkalmasak a betegség klinikai jellemzésére: a diagnózis megerősítésére, a prognózis előrejelzésére és a terápiaérzékenység megítélésére (48).



Magyarországon elsőként kutatócsoportunk vizsgálta a vékonytű-biopszia során „hideg göbökből” vett pajzsmirigy mintákban fellelhető szomatikus mutációk és géntrendeződések arányát. Vizsgálatunkban ezeknek a genetikai eltéréseknek a pajzsmirigygöbök rosszindulatú elfajulásával való kapcsolatát kutattuk.

Ezt megelőzően hazánkban szintén elsőként mi vizsgáltuk (12,49) a molekuláris markerek előfordulását differenciált pajzsmirigyrákokban nagyszámú beteg populáción. A munkánk során beállított genetikai módszerek (PentaCore Thyreon) megteremtették az alapját ezen eljárások hazai, rutinszerű bevezetésének, ami nagyban elősegíthetné az egészségügyi kiadások csökkentését és a megtakarítások növelését. Véleményünk szerint a felesleges műtétek számát, a felmerülő egészségügyi költségeket és a betegek terheit egyaránt csökkenthetné ez az optimálisabb vizsgálati módszer.

Folyamatos vita zajlik a szakirodalomban arról, hogy a genetikai eltérések okai-e a rosszindulatú pajzsmirigyrákoknak, vagy a pajzsmirigygöb malignus transzformációjának a következményei. Kísérletes és epidemiológiai vizsgálatok bizonyítják, hogy a daganatképződés egy többlépéses folyamat eredménye, amelyben celluláris események sorozata zajlik. E folyamatban több, de legalább három fő lépést, az iniciációt, promóciót és progressziót kell elkülöníteni. Első lépésben (iniciáció) a normális sejt nyugvó, megváltozott válaszkészségű praeneoplasticus sejté alakul, majd ebből egy második lépésben (promóció) tényleges neoplasticus sejt képződik. A praeneoplasticus sejtet citogenetikailag a primer kromoszóma-aberráció jellemzi. Az ily módon genetikailag instabillá vált sejtben a klonális evolúció eredményeképpen szekunder aberrációk jelennek meg. A primer aberrációt az első, kompetencia onkogén kíséri, ami még nem elegendő a daganatos proliferációhoz, de feltétele annak. A ráksejt burjánzásához a szekunder aberrációk és velük összefüggésben egy újabb onkogén vagy onkogének (progresszió onkogén) aktiválódása szükséges (48).

Három nemrég készült tanulmányban (40,50,51) vizsgálták a genetikai eltéréseket pajzsmirigygöbökből származó mintákban, és azt a következtetést vonták le, hogy bármelyik mutáció vagy átrendeződés jelenléte megbízhatóan előre megjósolta a rák kialakulását. A göbök eltávolítása és szövettani feldolgozása után 89-97% között volt a mutáció pozitív tumorok aránya (52). Az általunk is vizsgált genetikai tényezők a pajzsmirigygöbökben nagyban hozzájárulnak a pajzsmirigyrák felismeréséhez.

Másik oldalról nézve lehetséges, hogy a pajzsmirigyrákokban kimutatható mitogénaktivált proteinkináz MAPK/AKT és foszfatdilinozitol-4,5-bifoszfát 3-kináz (PI3K)/AKT jelátviteli kaszkádfehérjéket kódoló génmutációk már a daganatokban, illetve a göbök daganatokká való átalakulásával párhuzamosan alakulnak ki. Ezek a jelátviteli utak fontos szerepet töltenek be a sejtosztódás és a sejt-differenciálódás terén, ezért a ráksejtben kialakult kóros működésük elősegíti a további tumoros növekedést és átalakulást (53,54). A rosszul differenciált és differenciálatlan (anaplasticus) pajzsmirigy-tumorok tipikusan a jól differenciált pajzsmirigyrákokból alakulnak ki dedifferenciálódással. Howell és munkacsoportja (52) szerint ebben a folyamatban a RAS gén mutációja közreműködhet. Ennek a megállapításnak az elmélete részben abból fakad, hogy in vitro kísérletek során megfigyelték, hogy a mutáns RAS kromoszóma instabilitást tud okozni (55). Nikiforova és munkatársai (56) azt állították, hogy a BRAF mutációk kizárólag papillaris carcinomákban és olyan rosszul differenciált és anaplasticus carcinomákban mutathatók ki, amelyek papillaris carcinomákból fejlődtek ki. Ezek a genetikai eltérések befolyásolják az átalakulási folyamatot. Összefoglalva a genetikai tényezők, mint egy következményei a malignus transzformációnak, de ezek egyben okai is a későbbi dedifferenciálódásnak.

Az általunk vizsgált onkogének többek közt a MAP-kináz útvonal működésében, ezáltal a sejtek osztódásában, differenciálódásában és a programozott sejthalál indukálásban játszanak kiemelkedő szerepet. Következtetéseink alapján az a tény, hogy ismerjük melyik daganat típusra melyik onkogén szomatikus mutáció jellemző, segíthet eligazodni a pajzsmirigy rosszindulatú daganatainak etiopatogenezisében és alapjául szolgálhat új gyógyszermolekulák fejlesztésének. Az onkogén által kódolt fehérje, legyen az tirozin-kináz, GTP-kötő fehérje, növekedési faktor, vagy annak receptora, hasson akár a membránban, a citoplazmában, akár a sejtmagban, meghatározott módon szól bele a sejt anyagcsere folyamataiba. Mivel pedig ezek az onkogéntermékek elengedhetetlenek a malignus transzformációhoz, e fehérjék ideális célpontjai a terápiának. A sejtanyagcsereben játszott funkciójuk specifikus gátlása egy céltudatosabb, egyénileg megválasztott kezelési lehetőséget jelent, amellyel módunk nyílna a megbetegedett sejt elpusztítására a normális sejtek károsítása nélkül. Ezáltal csökkenthető a kemoterápiás szerek mindennapos problémát okozó mellékhatása (48).

## 5.1 Szomatikus génelterések vizsgálata benignus pajzsmirigygöbökben

BRAF, RAS mutációkat és RET/PTC, PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződéseket vizsgálták amerikai mintákban Nikiforov és munkatársai (40). Azt találták, hogy a mutációk jelenléte rosszindulatú daganatok indikátora. 470 darab pajzsmirigygöböt vett aspirációs vékonytű-biopsziás mintát vizsgáltak. A vizsgálat elején a göbökből a citológiai vizsgálat vegyes (malignus, benignus és bizonytalan) eredményt mutatott. 32 (6,8%) mutációt találtak: 18 BRAF pontmutációt, 3 HRAS génelterést, 5 NRAS génelváltozást, 4 RET/PTC1, 1-1 RET/PTC3 és PAX8/PPAR- $\gamma$  átrendeződést.

A mi munkacsoportunk 779 darab - citológiai vizsgálattal alátámasztott - kizárólag jóindulatú pajzsmirigygöböt származó mintát vizsgált. 73 (9,4%) genetikai eltérést (39 BRAF, 9 HRAS, 23 NRAS és 1 KRAS mutációt, valamint 1 RET/PTC3 átrendeződést) találtunk. PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződést nem sikerült detektálnunk.

Mindkét vizsgálatban a BRAF mutáció fordult elő leggyakrabban.

Átlagosan 34 hónap követés után 50 darab rosszindulatú elváltozás igazolódott, ebből 31 (62%) esetben genetikai eltérést is kimutattak. 32 genetikai defektusból 31 (97%) előre jelezhetette a malignus transzformációt. A mi vizsgálatunk során 52 darab rosszindulatú és praecancerosus elváltozást igazoltunk 12 hónap után ebből 24 esetben (46,2%) detektáltunk genetikai mutációt. Nikiforovék a kiinduláskor 22 darab rosszindulatú és 52 darab bizonytalan viselkedésű göböt vizsgáltak, mi pedig mind jóindulatú göböket elemeztünk.

Jelen vizsgálatban csak olyan pajzsmirigygöböt igazoltunk BRAF génmutációt, amelyik a három éves követés során papillaris carcinomává alakult át.

A BRAF mutációval kapcsolatban sokáig ez volt a megállapítás, hogy csak a papillaris carcinomában fordul elő. Ezzel szemben egy az elmúlt években végzett vizsgálatunkban (12) négy follicularis carcinoma mintában sikerült BRAF mutációt detektálni (19,1%), így Pennelli és munkatársai (57) eredményeit mi is meg tudtuk erősíteni, akik egy FTC-s esetben találtak ilyen mutációt.

Ha a rosszindulatú átalakulást tekintjük, akkor megállapíthatjuk, hogy a RAS és a RET/PTC genetikai mutációk és átrendeződések anyagunkban ritkábban fordultak elő, mint az várható lett volna az irodalmi vagy az epidemiológiai adatok alapján, hozzátevé azt, hogy Nikiforovék (40) mintáiban is összesen csak 8 RAS mutációt mutattak ki.

A vizsgálataink során PAX8/PPAR- $\gamma$  génátrendeződést egyáltalán nem találtunk a pajzsmirigygöbökben. Módszerünket Németországból kapott, ismert génátrendeződést hordozó mintákkal validáltuk. Ezzel kizártuk, hogy eredményünk a módszerünk hibájából fakadt volna. Irodalmi adatok alapján ez a génátrendeződés a follicularis carcinomákban igen magas arányban (30-40%) fordul elő (58), de mi a követéses vizsgálatunk során a follicularis carcinomából is összesen csak kettőt találtunk. Ez arra utalhat, hogy ez a mutáció és következésképpen ez a daganat típus az átlagnál ritkábban alakul ki hazánkban. Ennek a pontos oka még meghatározandó, de felmerülhet magyarázatként a jódeháztartásbeli különbség is (12).

## 5.2 Szomatikus génelterések és a klinikai kimenetel kapcsolatának elemzése

Bármilyen alaposan is végezzük a preoperatív besorolást, lesznek esetek, amikor utólag derül ki, hogy a beavatkozás feleslegesen radikális volt, vagy éppen ellenkezőleg komplettáló műtetre lesz szükség.

Egy bizonytalan viselkedésű göb, például egy nem meghatározható jelentőségű follicularis lézió (FLUS) 5-10%-ban alakulhat át rosszindulatú daganattá. Ebben az esetben a kiegészítő molekuláris genetikai vizsgálat segíthet a malignitás előrejelzésében, a műtéti indikáció gyors felállításában, így az ismételt FNAB vizsgálatok elkerülésében. A genetikai módszerek költséghatékonyá teszik a pajzsmirigygöbök kivizsgálását és kezelését (40,59).

Ha egy bizonytalan citológiai lelet alapján, például egy 20-30%-ban rosszindulatú átalakulásra hajlamos follicularis vagy Hürthle-sejtes daganat gyanúja esetén, műtét mellett döntünk, akkor a műtéti beavatkozás módját nagyban befolyásolhatja a kiegészítő genetikai vizsgálat eredménye. Mutáció negativitás esetén totális

thyreoidectomia helyett lobectomy jöhet szóba, amikor is a szövődmények kockázata lecsökkenthető (40).

Számos vizsgálat szól már csak a BRAF V600E mutáció és a pajzsmirigydaganatok közti összefüggésről, amelyekben leírják, hogy a genetikai vizsgálattal kombinálva nő az aspirációs citológia szenzitivitása, de felhívják a figyelmet az álpozitív eredményekre is (60-67). Ezek a vizsgálatok azonban egy kivétellel nem voltak longitudinális vizsgálatok. Cradic és munkatársai (67) különösen a koreai populációban gyakori BRAF T1799A mutáció jelenlétét igazolták betegek vérmintáiban. Ezeket a betegeket reziduális vagy áttétes papillaris carcinoma miatt kezelték és gondozták. Megállapították, hogy a vérből kimutatott pozitív genetikai vizsgálat többlet információt nyújthat a diagnosztikában és a lefolyás megítélésében egyaránt. Coyne és munkacsoportja a BRAF K601E mutációt vizsgálták pajzsmirigygöbökben, és kimutatták, hogy ez a második leggyakoribb BRAF mutáció kedvezőbb lefolyású betegséget jósolhat meg. Indokoltnak tartották a differenciált pajzsmirigy carcinomákhoz erősen kapcsolódó mutáció vizsgálatát a preoperatív időszakban (68). Egy szülői munkacsoport vizsgálatuk során azt találta, hogy a papillaris carcinomákban – hazájukban kb. 70% gyakorisággal kimutatható BRAF V600E mutáció hasznos prognosztikai faktor lehet a betegek kezelésének szempontjából (69). A mi jelen vizsgálatunk szerint a kaukázusi rasszban is gyakori (kb. átlag 40%) az FNAB mintákban fellelhető BRAF mutáció pozitívitás a jól differenciált pajzsmirigy carcinomákban.

A minimálisan invazív follicularis rák nehezen különíthető el a follicularis adenomától. Az elkülönítésben a részletes hisztológiai vizsgálaton kívül új módszerek segíthetnek (5). A RAS mutáció pozitív follicularis adenoma előfutára a RAS mutációt hordozó follicularis carcinomának (4). Az észak-amerikai szerzők által közöltek alapján RAS mutáció pozitívitás esetén 87,5 % esélye van annak, hogy a göb pajzsmirigyrákká alakul át. (40,70). Ebből az következik, hogy a genetikai vizsgálat megkönnyítheti a pontos diagnózis felállítását, és ezzel a sebészeti megoldás így preventív lehet. A magyar FNAB mintákban egy olyan NRAS mutációt találtunk, amikor a göb a követés során malignus transzformáción ment keresztül, de a jódszegény területen gyakrabban előforduló papillaris carcinomává történt az átalakulás. Ezt a jelentős különbséget az

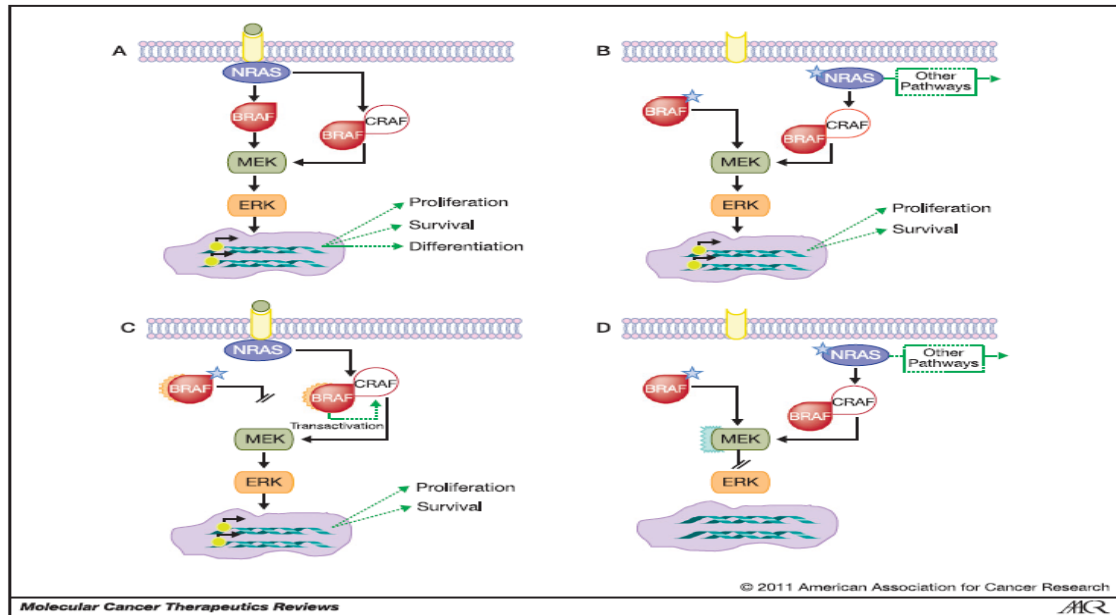
magyarázhatja, hogy a RAS mutáció - a jódban gazdag területen gyakoribb FTC-val mutat erős kapcsolatot (12,30,71). Felmerül a kérdés, hogy jóddal jól ellátott területen a jódbevitel okozhatja-e a rák kialakulásáért felelős RAS mutáció gyakoribb előfordulását, vagy a jód és a RAS mutáció együttesen okozhatnak gyakrabban malignus transzformációt, illetve fordítva, csak az epidemiológiai és földrajzi tényezőknek köszönhető a több RAS mutáció kimutatása.

A RET/PTC génátrendeződés a rosszindulatú daganatok közül csak a papillaris carcinomákra jellemző, így ez a genetikai eltérés segít differenciálni a többi tumor típustól (4,72). A mi vizsgálatunkban is - hasonlóan a nemzetközi vizsgálatokhoz - a papillaris rákban igazoltuk a RET/PTC átrendeződést. A RET/PTC3 pozitív pajzsmirigyrákok rossz prognózissal járó szövettani típusokként jelentkeznek (12,73). A pajzsmirigy carcinogenesis többlépcsős lefolyásának fontos mozzanata, hogy papillaris microcarcinomában gyakran észlelhető a RET/PTC expresszió, tehát ezek az eltérések a pajzsmirigy carcinogenesis korai fázisában már részt vesznek (19)

A papillaris carcinomat gyakran diagnosztizálják véletlenszerűen. Az 1 cm alatti szerkezeti eltéréseknek nő az onkológiai jelentősége, mivel a pajzsmirigy rosszindulatú daganatainak közel felét a pajzsmirigy microcarcinomák adják. Az ultrahangvizsgálat során detektált incidentalomák között van okkult pajzsmirigyrák, és ennek az incidenciája akár a 20%-ot is elérheti. Az 1 cm-nél kisebb göbök vizsgálatát a szakmai irányelvek nem tartják szükségesnek, kivéve abban az esetben, ha az ultrahangleírás alapos gyanút vet fel, mint például mikrokalcifikáció, fokozott vaszkularizáció a göb központjában, echoszegény struktúra, szabálytalanul határolt göb, elnyújtott alakú göb (ún. taller than wide shape), korábbi besugárzás a nyaki régióban, illetve pajzsmirigydaganat a családi anamnézisben (38). A microcarcinomák esetében csak a legszükségesebb beavatkozások elvégzésére kell törekedni, mivel minden radikális és felesleges beavatkozás a szövődmények arányának növekedését is eredményezheti (74). Ebből következik, hogy a genetikai vizsgálati módszerek kifejezetten hasznosak lehetnek a microcarcinomákat érintő terápiás döntéshozatalnál.

A BRAF és a RAS gének által kódolt fehérjék szerves részei olyan jelátviteli utaknak, amelyek célpontjai a sokat fejlődő multikináz-gátló kezelésnek (12,75). Ezáltal nagy jelentősége van a molekuláris folyamatok pontos megértésének, amelyek befolyásolásával gátolhatjuk a daganatsejtek aktivitását (53). A vékonytű aspirációs anyagokban kimutatott mutációk nagyban hozzájárulnak a mutáció-specifikus célzott kezelés megválasztásában olyan betegeknél, akiknél nem jön szóba műtét, vagy nem egyeznek bele az operációba, vagy műtét előtt biológiai kezelés mellett döntöttek (40).

A jól differenciált pajzsmirigydaganatokban leggyakrabban kimutatott BRAF génmutáció jól használható támadáspont lehet a daganatok, főleg a leggyakrabban diagnosztizált papillaris carcinoma gyógyszeres kezelésében (76). A BRAF pozitív melanoma gyógyítására használt BRAF-gátló vemurafenib is ígéretes hatással kecsegtet, ám egyelőre még a pajzsmirigy-tumörök nem szerepelnek az indikációs területek között. A genetikai kutatásoknak és a jelátviteli útvonal analíziseknek köszönhetően megnőtt a lehetséges kutatási célpontok száma az elmúlt 5-10 év során. Többek között sikerült közelebről megismerni a MAP-kináz/AKT útvonalat, amely fontos szerepet tölt be a pajzsmirigy carcinogenesisben. (XXV. ábra) Mindezek mellett a gyógyszerkutatás is jelentős potenciált talált a számtalan lehetséges célpontban a gyógyszeres terápia megvalósítása kapcsán (12,14). A sorafenib és a lenvatinib multikináz-inhibitorok a differenciált pajzsmirigy-tumor kezelésében, míg a vandetanib és a cabozantinib tirozin-kináz inhibitorok a medullaris carcinoma terápiájában játszanak szerepet (77). A selumetinib számos klinikai vizsgálat során bizonyította, hogy több célponton ható tirozin-kináz inhibitoroként hatékony és jól tolerálható gyógyszerhatóanyag a pajzsmirigydaganatok gyógyításában (78). Egy kínai metaanalízis szerint a sorafenib és a lenvatinib klinikai haszna a pajzsmirigy-rák kezelését tekintve jelentősebb, mint a toxicitása (79).



XXV. ábra: Célzott terápia a BRAF jelátvitelben

A: ép BRAF jelátviteli út; B: kóros BRAF jelátviteli út; C: BRAF-inhibitor és inhibitorrezisztencia; D: MEK a stratégiai támadáspont; BRAF: V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1; CRAF: V-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1  
ERK: extracelluláris jel hatására aktivált kináz; MEK: mitogénaktivált proteinkináz kináz; NRAS: neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog;

(forrás: Cantwell-Dorris ER, O'Leary JJ, Sheils OM. (2011) BRAFV600E: implications for carcinogenesis and molecular therapy. Mol Cancer Ther, 10:385-394)

Az ismételt, komplettáló műtétek költségeit az új vizsgálati módszer bevezetésével meg lehetne takarítani. Lawrence Lee és munkatársai (80) szerint az egyre több incidentaloma felismerése nagyban növeli az egészségügyi rendszer terheit a további vizsgálatok költségei által. Az új molekuláris diagnosztikai eljárások segíthetik az olyan pajzsmirigygöbök kezelését, amelyek az FNAB vizsgálat során a nem meghatározható jelentőségű atípiát (AUS) mutató citológiai osztályba sorolhatók. A genetikai vizsgálatok alkalmazásával csökkenthető lehet a felesleges és kockázattal járó műtétek száma. Azonban a kiadásokat tekintve még nem teljesen egyértelmű, hogy a génvizsgálat mennyire költséghatékony. A kutatócsoport tagjai a gazdasági értékelések



alapján azt sugallják, hogy egy kombinált rendszer, ami magába foglalja a rutin génexpressziós vizsgálatokat /gene expression classifier/ (GEC) a szelektív génmutációs panelekkel /gene mutation panel/ (GMP), költséghatékony lehet. Itt és most kijelenthetjük, hogy a korábban a genetikai kutatások és diagnosztikák középpontjában álló egyponos nukleotid polimorfizmusok (SNP) vizsgálatát mára felváltotta a robusztus génmutációs panelek vizsgálata. Feltételezik, hogy ezeknek a vizsgáló módszereknek a költségei csökkenni fognak, ha elterjednek a mindennapi diagnosztikában az Amerikai Egyesült Államokon kívüli területeken. Költségmegtakarításra vonatkozóan semmilyen pontos számítás nem ismert a hazai és a nemzetközi irodalomban. Feltételezhető, hogy az általunk kifejlesztett és használt genetikai panel segítségével ki lehet választani az operálandó és a csak obszerválandó göböket. Így valószínűleg csökkenthető a manifeszt malignitások megjelenése, illetve azokat korábban lehet kezelni, ami az adott betegek túlélését, illetve gyógyulását jelentősen segítheti. Arra vonatkozóan vannak számítások egyéb betegségek kapcsán, hogy egy QALY (quality life year), tehát jó egészségben megélt plusz év mekkora költségért gazdaságos. Ez általában az adott ország egy főre jutó bruttó hazai termékének (GDP) a háromszorosa az Egészségügyi Világszervezet (WHO) ajánlása szerint. Jelenleg jóval ennek a költsége alatt van a genetikai panel alkalmazása.

### **5.3 Több éves betegkövetés alapján a genetikai eltérések diagnosztikus eszközként való alkalmazásának biostatistikai elemzése**

Legújabban a géncsipekkel végzett molekulárisprofil-meghatározás eredményei alapján (akár több száz gén expressziójának vizsgálatával) pajzsmirigy-szövetmintákon – a génextpressziós különbségek szerint – biztonsággal el tudjuk különíteni a benignus és malignus mintákat (9). Fnais (81) és munkatársai egy metaanalízis alapján megállapították, hogy a pajzsmirigygöbökben egyedül csak a BRAF gén molekuláris vizsgálata alacsony szenzitivitást mutat, míg ehhez képest Giordano (82) és munkacsoportja szerint a több génelterést vizsgáló molekuláris panelek szenzitivitása magasabb.

Nikiforov és munkatársai (40) az észak-amerikai tanulmányban magas specificitást, de alacsony szenzitivitást írtak le a genetikai vizsgálatot elemezve, azaz nem mindegyik rosszindulatú daganat hordozza a génmutációkat. A mi eredményeink is alátámasztják az amerikai tanulmányban leírt biostatistikai jellemzőket egy közel kétszer akkora beteg populációban; Esetünkben a rosszindulatú daganatok előfordulásával párhuzamosan nő a tumorok mutációs pozitivitása, azaz a vizsgálat szenzitivitása. A papillaris pajzsmirigydaganatok esetében ez a növekedés kifejezettebb. A betegek további megfigyelése során a genetikai vizsgálat szenzitivitásának a javulása feltételezhető. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a genetikai és a citológiai vizsgálat kombinációja növelheti a szenzitivitást. Sőt Nikiforov (40) és munkatársai szerint 100%-os a rosszindulatú átalakulás valószínűsége a pajzsmirigygöbökben, ha pozitív genetikai vizsgálat társul bizonytalan citológiai lelethez.

Prospektív, megfigyeléses tanulmányunkban az FNAB minták genetikai negativitása a negatív citológiai eredménnyel együtt nagy biztonsággal kizárta a tumorok kockázatát. A vizsgálat specificitása közel 100%-os, ez az arány a három éves követés alatt mindvégig stabilan megmaradt. Ezt Nikiforov és társai (40) is így közölték. Ha az érvényességen túl az eredményességet tekintjük, a vizsgálatunk erős negatív prediktív értékeket eredményezett az utánkövetés során. Egy göb negatív eredményéből közel 100 %-ban következik a daganattól való mentessége. Ebből azt a következtetést

vonhatjuk le, hogy csökkenthető a diagnosztikus operációk száma a genetikai vizsgálatok segítségével.

Moses és munkatársai (83) Kaliforniában a bizonytalan és tumorra gyanús citológiai mintákat vizsgálták. A mi vizsgálatunkhoz képest kevesebb mintaszámnál hasonlóan magas specificitást, alacsony szenzitivitást és pozitív prediktív értéket igazoltak. Azonban alacsony negatív prediktív értéket mértek ellentétben a mi vizsgálatunkkal. Azt a következtetést vonták le, hogy nem csökkenthető a diagnosztikus célból végzett pajzsmirigyműtétek száma. Az ő vizsgálatuk nem longitudinális, hanem keresztmetszeti volt.

Aragon Han és munkatársai (84) szerint a genetikai vizsgálatok hasznossága megkérdőjelezhető a pajzsmirigyöbök preoperatív kivizsgálásánál. Wells és társa (85) által közölt tanulmány szerint a pajzsmirigydaganatok kezelésében is már szóba jön a kináz-inhibitorok adása a jövőben, de ezek hatásmechanizmusát ismerve a pajzsmirigyöbök kivizsgálásához hozzá kell tartoznia a genetikai vizsgálatok elvégzésének (75). A sorafenib kináz-inhibitor célzott terápiaként már most is adható a progresszív, lokálisan előrehaladott vagy áttétes, radioaktív jódkezelésre refrakter differenciált pajzsmirigy carcinomákban. Nikiforov és munkatársai (51) egy nagy esetszámú, prospektív vizsgálat adatait közölték, amelyben bizonytalan citológiai mintákat vizsgáltak, és erős pozitív és negatív prediktív értékekről számoltak be. Beaudenon-Huibregtse és munkacsoportja (86) szerint egy központosított és egységesített génspecifikus molekuláris genetikai vizsgálat hatékonyan kiegészíti az FNAB-k citopatológiai diagnózisát a klinikai gyakorlatban. A kombinált vizsgálati módszer javíthatja a pajzsmirigyrákos betegek személyre szabott sebészi vagy orvosi kezelését. Megerősíti az egy lépcsős totál thyreoidectomia melletti döntést, és csökkenti a felesleges diagnosztikus műtétek számát. Musholt és munkacsoportja (87) a RET/PTC1 és a BRAF V600E kiegészítő vizsgálatát egy gyors és költséghatékony elemző módszernek tekinti a rutin diagnosztikában. Véleményük szerint a mutációk kimutatása vagy kizárása tökéletesíti PTC műtét előtti azonosítását és pontosítja a betegség lefolyását, így egy optimális sebészi stratégia állítható fel. Yip és munkatársai (88) arról számoltak be, hogy azoknak az általunk is kutatott genetikai eltéréseknek a vizsgálata nagyban hozzájárul a jól differenciált pajzsmirigydaganatok ideális sebészeti

kezeléséhez, valamint egy tömör és világos, pajzsmirigyöbökkel kapcsolatos kezelési protokoll megszerkesztéséhez. Ezeknek a markereknek a kimutatása egy jól szelektált betegcsoportban hozzájárulhatna a kezelés személyre szabásához és a terápia optimalizálásához.

Cantara és munkatársai (50) 235 mintát elemeztek pajzsmirigyműtetet megelőzően és műtetet követően, majd arra a megállapításra jutottak, hogy a molekuláris biológiai vizsgálat egyértelműen növeli a hagyományos citológiai vizsgálat diagnosztikus pontosságát. A három év követés alatt a genetikai vizsgálat önálló használatával mi is egyre jobb pontossági adatokat mértünk (90-93%), megerősítve ezzel az olasz kutatócsoport következtetését. A betegek további megfigyelése során a genetikai vizsgálat pozitív prediktív értékének a javulása is feltételezhető. Liu és társai (89) a kínai populációt vizsgálták, valamint ők is megállapították, hogy a vékonytű-biopszia mintákban a pontmutációkat és a génátrendeződéseket kimutató vizsgálati eljárás eredményesen alkalmazható a klinikai gyakorlatban. A molekuláris vizsgálatok azon kívül, hogy növelik a citológiai vizsgálat alaposságát, kiegészítik a bizonytalan citológiai leletet.

Nikiforov és munkacsoportja 2013 és 2014 között a Következő Generációs Szekvenálási Technikák (NGS) közül a ThyroSeq v2 több génes panelt vizsgálta bizonytalan citológiájú pajzsmirigyöbökben. A follicularis neoplasia és arra gyanús göbökben a ThyroSeq v2 NGS alkalmazásának biostatistikai elemzése nagy pontosságot mutatott (90).

A genetikai vizsgálat új megközelítést tesz lehetővé. Az idén megjelent amerikai útmutatója a pajzsmirigyöbök és a differenciált pajzsmirigyrákok kezelésének sok helyen ajánlja a genetikai vizsgálatok és panelek alkalmazását a diagnosztikus és a terápiás döntések kialakításához. Igaz, leszögezi, hogy szükséges a genetikai eltérések diagnosztikus eszközként való alkalmazásának további biostatistikai elemzése (59). Az FNAB során nyert minták genetikai pozitivitása a citológiai eredménnyel együtt nagy biztonsággal előre jelezhetné a tumor kockázatát a beteg szoros követése esetén. FNAB-val nem egyértelmű diagnózis esetén a várakozás helyett korai operációra és radiojódkezelésre kerülhetne sor, ami alapvetően befolyásolná a betegek gyógyulási esélyét. A pajzsmirigyöbökből FNAB során vett mintákban és a sebészi úton

eltávolított tumoros szövetekben a rákspecifikus mutációk vizsgálata nagymértékben növelheti a diagnosztikai pontosságot és segítheti a kórlefolyás megítélését a gyakorló orvosok számára. A kombinált diagnosztikai eljárás hazai bevezetése előtt azonban megfelelő esetszámú, prospektív magyarországi vizsgálatokra van szükség, ami a hazai jóellátottsági viszonyok között is validálja a kombinált módszer hatékonyságát. A mi munkacsoportunk többek közt ezzel a vizsgálattal kívánt ehhez hozzájárulni.

## 6 Következtetések

A nagy esetszámú, longitudinális vizsgálatok eredményei alapján az alábbi megállapításokat tettük:

1. Nemzetközileg elsők között térképeztük fel az FNAB során vett pajzsmirigy „hideg” göbökben fellelhető szomatikus mutációk és génátrendeződések arányát.
2. Igazoltuk, hogy a pajzsmirigydaganatok kialakulásában fontos génelterések a citológiai jóindulatú pajzsmirigygöb mintákban megtalálhatóak.
3. Megállapítottuk, hogy a magyarországi, pajzsmirigygöb miatt vizsgált betegpopulációban a genetikai eltérések előfordulása közel megegyező azzal, amit napjainkban az irodalmi adatok mutatnak.
4. A mutációk megléte a jóindulatú léziókban előre jelezheti a rosszindulatú átalakulás lehetőségét, s ez alapjául szolgálhat egy új, a pajzsmirigygöböket érintő diagnosztikus és kezelési protokollnak.
5. A vizsgálatunk eredményei magas specificitást és erős negatív prediktív értéket igazoltak, így ezek alátámasztják, hogy a genetikai vizsgálat növelheti a diagnosztikus pontosságot.
6. A pajzsmirigygöbök rutin diagnosztikájában a kiemelkedő ultrahang vezérelt aspirációs citológiai vizsgálatot érdemes kombinálni a molekuláris genetikai vizsgálatokkal, ezáltal a kétes eredmények számát le lehet csökkenteni.

## 6.1 Új eredmények

1. Megállapítottuk, hogy a pajzsmirigy „hideg” göbökből vékonytű-biopsziával vett mintákban ugyanaz a génátrendeződés (RET/PTC) és ugyanazok a szomatikus mutációk (BRAF, RAS) mutathatók ki hazánkban, mint amelyeket a nemzetközi irodalomban közöltek, kivéve a PAX8/PPAR- $\gamma$  átrendeződést.
2. Kimutattuk, hogy a pajzsmirigygöbök malignus transzformációját előre jelezhetik a vizsgált genetikai eltérések.
3. A magas specificitás és az erős negatív prediktív érték alapján igazoltuk, hogy a genetikai vizsgálat javítja a diagnosztikus pontosságot, ezért kiegészíti a pajzsmirigy aspirációs citológiai vizsgálatot.
4. Eredményeink alapján a negatív molekuláris teszt nagy biztonsággal zárja ki a malignus átalakulás lehetőségét, a pozitív genetikai vizsgálat pedig elősegítheti a műtéti indikáció felállítását.
5. Adataink alátámasztják azt az elképzelést, hogy a genetikai tényezők oki szerepet játszhatnak a pajzsmirigydaganatok kialakulásában.

## 7 Összefoglalás

A pajzsmirigy göbös megbetegedéseinek töredéke a rosszindulatú tumor, de a malignus transzformációk száma növekedési tendenciát mutat. Napjainkban a legmegbízhatóbb vizsgálati eszköz a pajzsmirigygöbök differenciáldiagnózisában a vékonytű-biopszia, de a minták 10-40%-ában nem lehet egyértelműen igazolni a fennálló malignitást. Ennek orvoslásában egyre nagyobb szerepet kap a genetikai mutációk kutatása. Prospektív vizsgálatunk céljából tűztük ki, hogy egy nagyobb mintaszámú, hazai betegpopuláción elemezzük a pajzsmirigyrákokra jellemző genetikai markerek (BRAF, RAS, RET/PTC és PAX8/PPAR- $\gamma$ ) gyakoriságát jóindulatú pajzsmirigygöbökben. Munkacsoportunk megfigyelte, hogy a kimutatott genetikai eltérések és a klinikai kimenetel között van-e összefüggés, azaz a génmutációk és génátrendeződések megjósolják-e a göbök rosszindulatú átalakulását. 779 darab pajzsmirigygöb aspirációs citológiai mintában a RAS géncsalád és a BRAF gén szomatikus egy pontos nukleotid polimorfizmusait LigthCycler olvadáspontanalízis-módszerrel, míg a génátrendeződéseket valós idejű polimeráz láncreakció módszerével vizsgáltuk. A vizsgált egyének egészségi állapotával és a rosszindulatú daganat megjelenésével kapcsolatos történések nyomon követése három év alatt rendszeresen megtörtént. Saját hosszútávú, klinikai követéses vizsgálatban beszámoltunk arról, hogy a mintákban 39 BRAF, 33 RAS mutációt, és egy RET/PTC génátrendeződést találtunk. PAX8/PPAR- $\gamma$  átrendeződés nem igazolódott. 52 rosszindulatú pajzsmirigydaganatot diagnosztizáltunk. Három év követés alatt megállapítottuk, hogy a genetikai vizsgálat specificitása magas (93,3%), a szenzitivitása 46,2%, volt. A negatív prediktív érték elérte a 96%-ot. Kutatásunk során igazoltuk, hogy a pajzsmirigydaganatok kialakulásában fontosnak gondolt génmutációk és újrendeződések a hazai pajzsmirigygöbök vett mintákban is megtalálhatóak. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a pajzsmirigygöbökben talált genetikai mutációk diagnosztikai értéke jelentős lehet a pajzsmirigydaganatok időben való felismerése és megfelelő kezelése szempontjából (vemurafenib, sorafenib, selumetinib stb.) . Adataink azt mutatják, hogy a genetikai vizsgálat magas specificitása és erős negatív prediktív értéke segíti a daganatok pontos kizárását, és előre jelezheti a malignitásra való hajlamot a „hideg” göbökben, ezért a göb korai eltávolításával megelőzhető a malignoma megjelenése.



## Summary

Only a fraction of the nodular diseases are malignant tumours, but the number of malignant transformations has been on an increasing trend. Nowadays the most reliable test tool for the differential diagnosis of thyroid nodules is the fine needle biopsy, but in case of the 10-40% of the samples the existing malignancy cannot be clearly demonstrated. The research on genetic mutations is playing an increasing role in its remedy. We set as a target of our prospective study to analyse the frequency of genetic markers (BRAF, RAS, RET/PTC and PAX8/PPAR- $\gamma$ ) in benign thyroid nodules among a larger number of samples of the inland patient population. Our workgroup observed whether there is a correspondence between the detected genetic alterations and the clinical outcome that is to say whether gene mutations and gene rearrangements could predict the malignant transformation of the nodules. In 779 pieces of aspirational cytologic samples of thyroid nodules we examined the somatic single nucleotide polymorphisms of the RAS gene family and BRAF gene with LigthCycler melting point analysis method, while the gene rearrangements were examined with real-time polymerase chain reaction method. The follow-up of events related to the examined persons' state of health and appearance of malignant tumour occurred regularly in three years. We reported in our long-term clinical follow-up study that we had found 39 BRAF mutations, 33 RAS mutations, and a RET/PTC gene rearrangement in the samples. PAX8/PPAR- $\gamma$  rearrangement was not confirmed. We diagnosed 52 malignant thyroid tumours. During three years of follow-up we found that the specificity of the genetic trial was high (93, 3%), its sensitivity was 46, 2%. The negative predictive value reached up to 96%. In the course of our research we confirmed that gene mutations and rearrangements considered important for the emergence of thyroid cancer can be found in the samples taken from inland thyroid nodules. Based on our results, it can be assumed that the diagnostic value of genetic mutations found in the thyroid nodules may be significant regarding the timely detection and proper treatment of thyroid tumours (vemurafenib, sorafenib, selumetinib, etc.). Our data indicate that the high specificity and the strong negative predictive value of genetic testing help the accurate exclusion of the tumours, and may predict a predisposition to malignancy in the "cold" nodules, therefore with the early removal of the nodule the appearance of the malignancy can be prevented.

## 8 Irodalomjegyzék

1. Hedinger C, Williams ED, Sobin LH. (1989) The WHO histological classification of thyroid tumors: a commentary on the second edition. *Cancer*, 63:908-911
2. Nikiforov YE. Thyroid Tumors: Classification, Staging, and General Considerations. In: Nikiforov YE, Biddinger PW, Thompson LDR (szerk.), *Diagnostic Pathology and Molecular Genetics of the Thyroid: A Comprehensive Guide for Practicing Thyroid Pathology*. Wolters Kluwer Health and Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2012:108-111.
3. Konrády A. Differenciált pajzsmirigy-carcinoma. In: Leövey A, Nagy VE, Paragh G, Rácz K (szerk.), *Az endokrin és anyagcsere-betegségek gyakorlati kézikönyve*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2011:208-216.
4. Halászlaki C, Lakatos P, Kósa PJ, Balla B, Járay B, Takács I. (2012) A pajzsmirigydagánatok genetikai háttere. *Lege Artis Medicinæ*, 22:9-16
5. Konrády A. (2008) Aktualitások a differenciált pajzsmirigy-rák felismerésében és kezelésében. *Magyar Orvos*, 9:40-42
6. Konrády A. A pajzsmirigy rosszindulatú megbetegedései. In: Lakatos P, Takács I (szerk.), *Pajzsmirigybetegségek a gyakorlat oldaláról*. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2007:154-182.
7. Halászlaki C, Takács I, Butz H, Patocs A, Lakatos P. (2012) Novel genetic mutation in the background of Carney complex. *Pathol Oncol Res*, 18:149-152
8. Halászlaki C, Takács I, Patocs A, Lakatos P. (2011) Új genetikai mutáció a Carney-komplex-betegség magyarországi esetének hátterében. *Orv Hetil*, 152:802-804
9. Konrády A. Differenciált pajzsmirigy-rák. In: Hatfaludy Z (szerk.), *Anyagcsere-Endokrinológia Útmutató 2011 Klinikai Irányelvek Kézikönyve*. Medition Kiadó Kft., Budakeszi, 2011:CD-melléklet.
10. Kitamura Y, Shimizu K, Tanaka S, Ito K, Emi M. (2000) Allelotyping of anaplastic thyroid carcinoma: frequent allelic losses on 1q, 9p, 11, 17, 19p, and 22q. *Genes Chromosomes Cancer*, 27:244-251

11. Nikiforova MN, Nikiforov YE. (2008) Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis, treatment and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn*, 8:83-95
12. Tobias B, Halaszlaki C, Balla B, Kosa JP, Arvai K, Horvath P, Takacs I, Nagy Z, Horvath E, Horanyi J, Jaray B, Szekely E, Szekely T, Gyori G, Putz Z, Dank M, Valkusz Z, Vasas B, Ivanyi B, Lakatos P. (2015) Genetic Alterations in Hungarian Patients with Papillary Thyroid Cancer. *Pathol Oncol Res*,
13. Nucera C, Lawler J, Parangi S. (2011) BRAF(V600E) and microenvironment in thyroid cancer: a functional link to drive cancer progression. *Cancer Res*, 71:2417-2422
14. Xing M, Haugen BR, Schlumberger M. (2013) Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer. *Lancet*, 381:1058-1069
15. Albarel F, Conte-Devolx B, Oliver C. (2012) From nodule to differentiated thyroid carcinoma: contributions of molecular analysis in 2012. *Ann Endocrinol (Paris)*, 73:155-164
16. Malumbres M, Barbacid M. (2003) RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer*, 3:459-465
17. Garcia-Rostan G, Zhao H, Camp RL, Pollan M, Herrero A, Pardo J, Wu R, Carcangiu ML, Costa J, Tallini G. (2003) ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer. *J Clin Oncol*, 21:3226-3235
18. Namba H, Rubin SA, Fagin JA. (1990) Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis. *Mol Endocrinol*, 4:1474-1479
19. Tóbias B, Balla B, Kósa PJ, Horányi J, Takács I, Bölöny E, Halászlaki C, Nagy Z, Speer G, Járay B, Székely E, Istók R, Lakatos P. (2011) Szomatikus onkogén mutációk összehasonlító vizsgálata egészséges és tumoros pajzsmirigy-szövetmintákban. *Orv Hetil*, 152:672-677
20. Nikiforov YE, Rowland JM, Bove KE, Monforte-Munoz H, Fagin JA. (1997) Distinct pattern of ret oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children. *Cancer Res*, 57:1690-1694

21. Schlumberger M, Lacroix L, Russo D, Filetti S, Bidart JM. (2007) Defects in iodide metabolism in thyroid cancer and implications for the follow-up and treatment of patients. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 3:260-269
22. Santoro M, Melillo RM, Carlomagno F, Fusco A, Vecchio G. (2002) Molecular mechanisms of RET activation in human cancer. *Ann N Y Acad Sci*, 963:116-121
23. Leeman-Neill RJ, Brenner AV, Little MP, Bogdanova TI, Hatch M, Zurnadzy LY, Mabuchi K, Tronko MD, Nikiforov YE. (2013) RET/PTC and PAX8/PPARgamma chromosomal rearrangements in post-Chernobyl thyroid cancer and their association with iodine-131 radiation dose and other characteristics. *Cancer*, 119:1792-1799
24. Patócs A. Multiplex endokrin neoplasiák és egyéb örökletes endokrin tumor szindrómák. In: Leövey A, Nagy VE, Paragh G, Rác K (szerk.), *Az endokrin és anyagcsere-betegségek gyakorlati kézikönyve*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2011:454-459.
25. Castro P, Rebocho AP, Soares RJ, Magalhaes J, Roque L, Trovisco V, Vieira de Castro I, Cardoso-de-Oliveira M, Fonseca E, Soares P, Sobrinho-Simoes M. (2006) PAX8-PPARgamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 91:213-220
26. Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, Biddinger PW, Nikiforov YE. (2006) Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am J Surg Pathol*, 30:216-222
27. Nikiforova MN, Lynch RA, Biddinger PW, Alexander EK, Dorn GW, 2nd, Tallini G, Kroll TG, Nikiforov YE. (2003) RAS point mutations and PAX8-PPAR gamma rearrangement in thyroid tumors: evidence for distinct molecular pathways in thyroid follicular carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:2318-2326
28. de Groot JW, Links TP, Plukker JT, Lips CJ, Hofstra RM. (2006) RET as a diagnostic and therapeutic target in sporadic and hereditary endocrine tumors. *Endocr Rev*, 27:535-560

29. MazeH H, Mizrahi I, Halle D, Ilyayev N, Stojadinovic A, Trink B, Mitrani-Rosenbaum S, Roistacher M, Ariel I, Eid A, Freund HR, Nissan A. (2011) Development of a microRNA-based molecular assay for the detection of papillary thyroid carcinoma in aspiration biopsy samples. *Thyroid*, 21:111-118
30. Benvenga S. (2008) Update on thyroid cancer. *Horm Metab Res*, 40:323-328
31. Cheng SP, Liu CL, Tzen CY, Yang TL, Jeng KS, Liu TP, Lee JJ. (2008) Characteristics of well-differentiated thyroid cancer associated with multinodular goiter. *Langenbecks Arch Surg*, 393:729-732
32. Santoro M, Papotti M, Chiappetta G, Garcia-Rostan G, Volante M, Johnson C, Camp RL, Pentimalli F, Monaco C, Herrero A, Carcangiu ML, Fusco A, Tallini G. (2002) RET activation and clinicopathologic features in poorly differentiated thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 87:370-379
33. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R, Lloyd RV, LiVolsi VA, Papotti M, Sobrinho-Simoes M, Bussolati G, Rosai J. (2007) Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*, 31:1256-1264
34. Kitamura Y, Shimizu K, Nagahama M, Sugino K, Ozaki O, Mimura T, Ito K, Ito K, Tanaka S. (1999) Immediate causes of death in thyroid carcinoma: clinicopathological analysis of 161 fatal cases. *J Clin Endocrinol Metab*, 84:4043-4049
35. Machens A, Gimm O, Hinze R, Hoppner W, Boehm BO, Dralle H. (2001) Genotype-phenotype correlations in hereditary medullary thyroid carcinoma: oncological features and biochemical properties. *J Clin Endocrinol Metab*, 86:1104-1109
36. Valkusz Zs. Göbös struma. In: Lakatos P, Takács I (szerk.), *Pajzsmirigybetegségek a gyakorlat oldaláról*. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2007:83-94.
37. Leövey A. A pajzsmirigy göbös megbetegedései. In: Leövey A, Nagy V. E, Paragh G, Rácz K (szerk.), *Az endokrin és anyagcsere-betegségek gyakorlati kézikönyve*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2011:162-173.

38. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Pacini F, Schlumberger M, Sherman SI, Steward DL, Tuttle RM. (2009) Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*, 19:1167-1214
39. Sapio MR, Posca D, Raggioli A, Guerra A, Marotta V, Deandrea M, Motta M, Limone PP, Troncone G, Caleo A, Rossi G, Fenzi G, Vitale M. (2007) Detection of RET/PTC, TRK and BRAF mutations in preoperative diagnosis of thyroid nodules with indeterminate cytological findings. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 66:678-683
40. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Klopper JP, Zhu Z, Fagin JA, Falciglia M, Weber K, Nikiforova MN. (2009) Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*, 94:2092-2098
41. Franco C, Martinez V, Allamand JP, Medina F, Glasinovic A, Osorio M, Schachter D. (2009) Molecular markers in thyroid fine-needle aspiration biopsy: a prospective study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 17:211-215
42. Szabolcs I. Normofunkciós gyolyva In: Hatfaludy Z ed *Anyagcsere-Endokrinológia Útmutató 2011 Klinikai Irányelvek Kézikönyve*. Medition Kiadó Kft., Budakeszi, 2011:CD-melléklet.
43. Bakos B, Takacs I, Nagy Z, Kosa JP, Balla B, Tobias B, Halaszlaki C, Szili B, Lakatos P. (2013) Long term efficacy of radioiodine treatment in hyperthyroidism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 121:494-497
44. Bakos B, Takács I, Ternai Z, Nagy Z, Kósa PJ, Balla B, Tóbiás B, Halászlaki C, Szili B, Lakatos P. (2011) A hyperthyreosisok radiojódkezelésének hosszútávú hatékonysága. *Magyar Belorvosi Archívum*, 64:289-293
45. Smallridge RC, Ain KB, Asa SL, Bible KC, Brierley JD, Burman KD, Kebebew E, Lee NY, Nikiforov YE, Rosenthal MS, Shah MH, Shaha AR, Tuttle RM. (2012) American Thyroid Association guidelines for management of patients with anaplastic thyroid cancer. *Thyroid*, 22:1104-1139
46. Wells SA, Jr., Asa SL, Dralle H, Elisei R, Evans DB, Gagel RF, Lee N, Machens A, Moley JF, Pacini F, Raue F, Frank-Raue K, Robinson B, Rosenthal

- MS, Santoro M, Schlumberger M, Shah M, Waguespack SG. (2015) Revised american thyroid association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*, 25:567-610
47. Gharib H, Papini E, Paschke R. (2008) Thyroid nodules: a review of current guidelines, practices, and prospects. *Eur J Endocrinol*, 159:493-505
48. Oláh É. Onkogenetika. In: Papp Z ed *Klinikai genetika*. Golden Book Kiadó Kft., Budapest, 1995:217-239.
49. Balla B, Kosa JP, Tobias B, Halaszlaki C, Takacs I, Horvath H, Speer G, Nagy Z, Horanyi J, Jaray B, Szekely E, Lakatos P. (2011) Marked increase in CYP24A1 gene expression in human papillary thyroid cancer. *Thyroid*, 21:459-460
50. Cantara S, Capezzone M, Marchisotta S, Capuano S, Busonero G, Toti P, Di Santo A, Caruso G, Carli AF, Brillì L, Montanaro A, Pacini F. (2010) Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves the diagnostic accuracy of cytology. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:1365-1369
51. Nikiforov YE, Ohori NP, Hodak SP, Carty SE, LeBeau SO, Ferris RL, Yip L, Seethala RR, Tublin ME, Stang MT, Coyne C, Johnson JT, Stewart AF, Nikiforova MN. (2011) Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. *J Clin Endocrinol Metab*, 96:3390-3397
52. Howell GM, Hodak SP, Yip L. (2013) RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist*, 18:926-932
53. Saez JM. (2013) Treatment directed to signalling molecules in patients with advanced differentiated thyroid cancer. *Anticancer Agents Med Chem*, 13:483-495
54. Liu B, Kuang A. (2012) [Genetic alterations in MAPK and PI3K/Akt signaling pathways and the generation, progression, diagnosis and therapy of thyroid cancer]. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 29:1221-1225

55. Saavedra HI, Knauf JA, Shirokawa JM, Wang J, Ouyang B, Elisei R, Stambrook PJ, Fagin JA. (2000) The RAS oncogene induces genomic instability in thyroid PCCL3 cells via the MAPK pathway. *Oncogene*, 19:3948-3954
56. Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, Zhu Z, Giannini R, Salvatore G, Fusco A, Santoro M, Fagin JA, Nikiforov YE. (2003) BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:5399-5404
57. Pennelli G, Vianello F, Barollo S, Pezzani R, Merante Boschini I, Pelizzo MR, Mantero F, Rugge M, Mian C. (2011) BRAF(K601E) mutation in a patient with a follicular thyroid carcinoma. *Thyroid*, 21:1393-1396
58. Koenig RJ. (2010) Detection of the PAX8-PPARgamma fusion protein in thyroid tumors. *Clin Chem*, 56:331-333
59. Haugen BRM, Alexander EK, Bible KC, Doherty G, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F, Randolph G, Sawka A, Schlumberger M, Schuff KG, Sherman SI, Sosa JA, Steward D, Tuttle RMM, Wartofsky L. (2015) 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*,
60. Kim SW, Lee JI, Kim JW, Ki CS, Oh YL, Choi YL, Shin JH, Kim HK, Jang HW, Chung JH. (2010) BRAFV600E mutation analysis in fine-needle aspiration cytology specimens for evaluation of thyroid nodule: a large series in a BRAFV600E-prevalent population. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:3693-3700
61. Nam SY, Han BK, Ko EY, Kang SS, Hahn SY, Hwang JY, Nam MY, Kim JW, Chung JH, Oh YL, Shin JH. (2010) BRAF V600E mutation analysis of thyroid nodules needle aspirates in relation to their ultrasonographic classification: a potential guide for selection of samples for molecular analysis. *Thyroid*, 20:273-279
62. Troncone G, Cozzolino I, Fedele M, Malapelle U, Palombini L. (2010) Preparation of thyroid FNA material for routine cytology and BRAF testing: a validation study. *Diagn Cytopathol*, 38:172-176
63. Kim SK, Hwang TS, Yoo YB, Han HS, Kim DL, Song KH, Lim SD, Kim WS, Paik NS. (2011) Surgical results of thyroid nodules according to a management



- guideline based on the BRAF(V600E) mutation status. *J Clin Endocrinol Metab*, 96:658-664
64. Pelizzo MR, Boschin IM, Barollo S, Pennelli G, Toniato A, Zambonin L, Vianello F, Piotto A, Ide EC, Pagetta C, Sorgato N, Torresan F, Girelli ME, Nacamulli D, Mantero F, Mian C. (2011) BRAF analysis by fine needle aspiration biopsy of thyroid nodules improves preoperative identification of papillary thyroid carcinoma and represents a prognostic factor. A mono-institutional experience. *Clin Chem Lab Med*, 49:325-329
  65. Di Benedetto G, Fabozzi A, Rinaldi C, Rinaldi CR, Daniels GH. (2013) BRAF test and cytological diagnosis with a single fine needle cytology sample. *Acta Cytol*, 57:337-340
  66. DiLorenzo MM, Miller JL, Tuluc M, Wang ZX, Savarese VW, Pribitkin EA. (2014) False-positive FNA due to highly sensitive BRAF assay. *Endocr Pract*, 20:e8-e10
  67. Cradic KW, Milosevic D, Rosenberg AM, Erickson LA, McIver B, Grebe SK. (2009) Mutant BRAF(T1799A) can be detected in the blood of papillary thyroid carcinoma patients and correlates with disease status. *J Clin Endocrinol Metab*, 94:5001-5009
  68. Coyne C, Afkhami M, Karunamurthy A, Chiosea SI, Nikiforov YE, Seethala R, Nikiforova MN. (2015) Histopathologic and Clinical Characterization of Thyroid Tumors Carrying the BRAF K601E Mutation. *Thyroid*,
  69. Hong AR, Lim JA, Kim TH, Choi HS, Yoo WS, Min HS, Won JK, Lee KE, Jung KC, Park do J, Park YJ. (2014) The Frequency and Clinical Implications of the BRAF(V600E) Mutation in Papillary Thyroid Cancer Patients in Korea Over the Past Two Decades. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 29:505-513
  70. Nikiforova MN, Nikiforov YE. (2009) Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid*, 19:1351-1361
  71. Elisei R. (2014) Molecular profiles of papillary thyroid tumors have been changing in the last decades: how could we explain it? *J Clin Endocrinol Metab*, 99:412-414
  72. Zhu Z, Ciampi R, Nikiforova MN, Gandhi M, Nikiforov YE. (2006) Prevalence of RET/PTC rearrangements in thyroid papillary carcinomas: effects of the

- detection methods and genetic heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab*, 91:3603-3610
73. Stanojevic B, Dzodic R, Saenko V, Milovanovic Z, Pupic G, Zivkovic O, Markovic I, Djuriscic I, Buta M, Dimitrijevic B, Rogounovitch T, Mitsutake N, Mine M, Shibata Y, Nakashima M, Yamashita S. (2011) Mutational and clinicopathological analysis of papillary thyroid carcinoma in Serbia. *Endocr J*, 58:381-393
  74. Kovács GL, Góth M. (2013) [Difficulties in the treatment and follow up of papillary thyroid microcarcinoma]. *Magyar Belorvosi Archívum*, 5:251-255
  75. Xing M. (2007) BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev*, 28:742-762
  76. Cantwell-Dorris ER, O'Leary JJ, Sheils OM. (2011) BRAFV600E: implications for carcinogenesis and molecular therapy. *Mol Cancer Ther*, 10:385-394
  77. Cabanillas ME, Dadu R, Hu MI, Lu C, Gunn GB, Grubbs EG, Lai SY, Williams MD. (2015) Thyroid Gland Malignancies. *Hematol Oncol Clin North Am*, 29:1123-1143
  78. Politti U. (2014) [Tyrosine kinase inhibitors for the treatment of papillary thyroid cancer]. *Clin Ter*, 165:e452-463
  79. Ye X, Zhu Y, Cai J. (2015) Relationship between toxicities and clinical benefits of newly approved tyrosine kinase inhibitors in thyroid cancer: A meta-analysis of literature. *J Cancer Res Ther*, 11 Suppl 2:C185-190
  80. Lee L, How J, Tabah RJ, Mitmaker EJ. (2014) Cost-effectiveness of molecular testing for thyroid nodules with atypia of undetermined significance cytology. *J Clin Endocrinol Metab*, 99:2674-2682
  81. Fnais N, Soobiah C, Al-Qahtani K, Hamid JS, Perrier L, Straus SE, Tricco AC. (2015) Diagnostic value of fine needle aspiration BRAF(V600E) mutation analysis in papillary thyroid cancer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Pathol*, 46:1443-1454
  82. Giordano TJ, Beaudenon-Huibregtse S, Shinde R, Langfield L, Vinco M, Laosinchai-Wolf W, Labourier E. (2014) Molecular testing for oncogenic gene mutations in thyroid lesions: a case-control validation study in 413 postsurgical specimens. *Hum Pathol*, 45:1339-1347

83. Moses W, Weng J, Sansano I, Peng M, Khanafshar E, Ljung BM, Duh QY, Clark OH, Kebebew E. (2010) Molecular testing for somatic mutations improves the accuracy of thyroid fine-needle aspiration biopsy. *World J Surg*, 34:2589-2594
84. Aragon Han P, Olson MT, Fazeli R, Prescott JD, Pai SI, Schneider EB, Tufano RP, Zeiger MA. (2014) The impact of molecular testing on the surgical management of patients with thyroid nodules. *Ann Surg Oncol*, 21:1862-1869
85. Wells SA, Jr., Santoro M. (2014) Update: the status of clinical trials with kinase inhibitors in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 99:1543-1555
86. Beaudenon-Huibregtse S, Alexander EK, Guttler RB, Hershman JM, Babu V, Blevins TC, Moore P, Andruss B, Labourier E. (2014) Centralized molecular testing for oncogenic gene mutations complements the local cytopathologic diagnosis of thyroid nodules. *Thyroid*, 24:1479-1487
87. Musholt TJ, Fottner C, Weber MM, Eichhorn W, Pohlenz J, Musholt PB, Springer E, Schad A. (2010) Detection of papillary thyroid carcinoma by analysis of BRAF and RET/PTC1 mutations in fine-needle aspiration biopsies of thyroid nodules. *World J Surg*, 34:2595-2603
88. Yip L, Wharry LI, Armstrong MJ, Silbermann A, McCoy KL, Stang MT, Ohori NP, LeBeau SO, Coyne C, Nikiforova MN, Bauman JE, Johnson JT, Tublin ME, Hodak SP, Nikiforov YE, Carty SE. (2014) A clinical algorithm for fine-needle aspiration molecular testing effectively guides the appropriate extent of initial thyroidectomy. *Ann Surg*, 260:163-168
89. Liu S, Gao A, Zhang B, Zhang Z, Zhao Y, Chen P, Ji M, Hou P, Shi B. (2014) Assessment of molecular testing in fine-needle aspiration biopsy samples: an experience in a Chinese population. *Exp Mol Pathol*, 97:292-297
90. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, Gooding WE, Hodak SP, LeBeau SO, Ohori NP, Seethala RR, Tublin ME, Yip L, Nikiforova MN. (2014) Highly accurate diagnosis of cancer in thyroid nodules with follicular neoplasm/suspicious for a follicular neoplasm cytology by ThyroSeq v2 next-generation sequencing assay. *Cancer*, 120:3627-3634

## 9 Saját publikációk jegyzéke

### Az értekezéshez kapcsolódó publikációk:

Tobias B\*, **Halaszlaki C\***, Balla B, Kosa JP, Arvai K, Horvath P, Takacs I, Nagy Z, Horvath E, Horanyi J, Jaray B, Szekely E, Szekely T, Gyori G, Putz Z, Dank M, Valkusz Z, Vasas B, Ivanyi B, Lakatos P. (2015) Genetic Alterations in Hungarian Patients with Papillary Thyroid Cancer. Pathol Oncol Res, (2015.aug. 11., epub)

(\*= a szerzők azonos mértékben vettek részt a cikk megszületésében)

Bakos B, Takacs I, Nagy Z, Kosa JP, Balla B, Tobias B, **Halaszlaki C**, Szili B, Lakatos P. (2013) Long term efficacy of radioiodine treatment in hyperthyroidism. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 121:494-497

**Halaszlaki C**, Lakatos P, Kósa PJ, Balla B, Járay B, Takács I. (2012) A pajzsmirigydagaganatok genetikai háttere. Lege Artis Medicinæ, 22:9-16

**Halaszlaki C**, Takacs I, Butz H, Patocs A, Lakatos P. (2012) Novel genetic mutation in the background of Carney complex. Pathol Oncol Res, 18:149-152

**Halaszlaki C**, Takács I, Patócs A, Lakatos P. (2011) Új genetikai mutáció a Carney-komplex-betegség magyarországi esetének hátterében. Orv Hetil, 152:802-804

Tóbiás B, Balla B, Kósa PJ, Horányi J, Takács I, Bölöny E, **Halaszlaki C**, Nagy Z, Speer G, Járay B, Székely E, Istók R, Lakatos P. (2011) Szomatikus onkogén mutációk összehasonlító vizsgálata egészséges és tumoros pajzsmirigy-szövetmintákban. Orv Hetil, 152:672-677

Bakos B, Takács I, Ternai Z, Nagy Z, Kósa PJ, Balla B, Tóbiás B, **Halászlaki C**, Szili B, Lakatos P. (2011) A hyperthyreosisok radiojódkezelésének hosszútávú hatékonysága. Magyar Belorvosi Archívum, 64:289-293

Balla B, Kosa JP, Tobias B, **Halászlaki C**, Takacs I, Horvath H, Speer G, Nagy Z, Horanyi J, Jaray B, Szekely E, Lakatos P. (2011) Marked increase in CYP24A1 gene expression in human papillary thyroid cancer. Thyroid, 21:459-460

**Az értekezéstől független publikációk:**

Lengyel Z, Boer K, **Halászlaki C**, Nemeth Z. (2013) Diabetes daganatos betegségben. Magy Onkol, 57:177-181

**Halászlaki C**, Horvath H, Kiss L, Takacs I, Speer G, Nagy Z, Winternitz T, Dabasi G, Zalatnai A, Patocs A, Lakatos P. (2010) Verner-Morrison szindróma egy esete. Orv Hetil, 151:1111-1114

Lengyel Z, Vörös P, **Halászlaki C**, Mihály M, Németh C, Dolgos S, Hohmann Z. (2009) A szérumlipidszintek és a nephropathia diabetica korai stádiumának összefüggése 1-es típusú diabetes mellitusban. Hypertonia és Nephrológia, 13:287-289

## 10 Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönettel tartozom *Dr. Lakatos Péter* professzor úrnak, aki programvezetőként segített belépni a tudomány világába. Emellett megkülönböztetett tiszteletemet és elismerésemet fejezem ki azért, hogy a Semmelweis Egyetem I. Belgyógyászati Klinika laboratóriumában biztosította a kutatómunkámhoz szükséges feltételeket, és a munkám során határozottan támogatott.

Köszönettel tartozom *Dr. Lengyel Zoltán* főorvos úrnak, aki a munkahelyemen, a Szent Margit Kórház Általános Belgyógyászati osztályán végig támogatott ezen a rögzös úton. Hálás vagyok az összes kollégámnak, hogy türelmesek voltak velem, segítettek, és lehetőségeikhez mérten támogatták e munka megszületését.

Köszönettel tartozom *Dr. Tóbiás Bálint*nak és *Dr. Balla Bernadett*nek, akik mellett megismerhettem a magas szintű kutatómunkát.

Szeretném megköszönni témavezetőmnek, *Dr. Takács István* docens úrnak a segítségét, biztatását a disszertáció megírására és természetesen, hogy felajánlotta a témavezetést és az értekezésem kijavításával is segítette munkámat. Különös hálával tartozom *Dr. Speer Gábornak* és *Dr. Kósa Jánosnak* az együtt végzett munkáért és a szakmai segítségért.

Köszönöm kutatócsoportunk tagjainak, *Dr. Bakos Bencének*, *Dr. Horváth Péternek*, *Dr. Nagy Zsolt*nak, *Dr. Tóth Tamás*nak, *Árvai Kristófnak*, *Máté Edit*nek, *Keresztényi György*inek, *Szabóné Sinkovits Tündének*, *Horváth Beatrix*nak, *Nagyné Török Anikó*nak, *Kövesdi Andreának*, *Árendás Mónikának*, és mindazoknak, akik az elmúlt évek során tanácsaikkal és kritikájukkal támogatták munkámat. Szeretnék köszönetet mondani az I. sz. Sebészeti Klinikáról *Dr. Horányi János*nak, a Radiológiai és Onkoterápiás Klinikáról *Dr. Győri Gabriellának*, hogy részt vállaltak a kutatómunkámban. Köszönetet szeretnék mondani az Egyetem II. sz. Patológiai Intézet munkatársainak, legfőbbképp *Dr. Járay Balázs*nak, *Dr. Székely Eszter*nek, *Dr. Istók Roland*nak, *Dr. Székely Tamás*nak és *Kalocsáné Pjurkó Violetta*nak, akik segítsége és szakmai tudása nélkül nem jöhetett volna létre ez a munka.

Köszönöm szüleimnek, akik nélkül soha nem jutottam volna el idáig.

## Melléklet

### 1. melléklet: Etikai engedély

Egészségügyi Tudományos Tanács  
Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (ETT TUKEB)  
Egészségügyi Tudományos Tanács Titkárság  
Budapest 1051 Arany János u. 6-8.

Ügyiratszám: 1160-0/2010-1018EKU (57/PI/10.)  
Ügyintéző neve: Dr. Temesi Alfréda igazgató  
ETT Titkárság  
Elérhetősége: (06-1)-795-1197  
Mobil készülékről: 06-30-795-1197  
Melléklet: 1 db

**Tárgy:** Dr. Takács István  
(Semmelweis Egyetem Általános  
Orvostudományi Kar I. Számú  
Belgyógyászati Klinika (Budapest  
1085 Üllői út 25.) kérelme,  
szakhatósági állásfoglalás tárgyában

#### SZAKHATÓSÁGI ÁLLÁSFOGLALÁS

Dr. Takács István részére „Genetikai tényezők vizsgálata a pajzsmirigy-rák kialakulásában” című kutatás engedélyezése tárgyában benyújtott kérelmét, mint szakhatóság (2010. február 16-i ülésen) az alábbiak szerint bíráltam el.

A benyújtott kutatási engedély tárgyában a kutatási tervhez küldött kiegészítések áttanulmányozása alapján

**a szakmai-etikai engedélyt megadom.**

A vizsgálat feltételei teljesültek.

Hatóságom hatáskörét és illetékességét az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálatról és a gyógyszerészeti államigazgatási szerv kijelöléséről szóló 362/2006. (XII. 28.) Korm. rendelet 18/A. § (8) bekezdésének b) pontja állapítja meg.

Jelen szakhatósági állásfoglalás ellen a közigazgatási hatósági eljárás és szolgáltatás általános szabályairól szóló 2004. évi CXL. törvény 44. §-ának (9) bekezdése alapján külön fellebbezésnek helye nincs, az ügyfél az ügy érdemében hozott határozat ellen irányuló fellebbezésében gyakorolhatja az ezzel kapcsolatos jogorvoslati jogát.

Dr. Papp Zoltán  
egyetemi tanár

**Alnölk:**  
Dr. Vészi László  
egyetemi tanár

**Tíbiák:**  
Dr. Székely László  
egyetemi docens

**Tíbiák helyettes:**  
Dr. Rigo János  
egyetemi tanár

**Tanok:**  
Dr. Besztyák István  
egyetemi tanár

Dr. Bodó György  
egyetemi magántanár

Dr. Demeter Judit  
egyetemi tanár

Dr. Dobosy Anikó  
egyetemi tanár

Dr. Falus András  
egyetemi tanár

Dr. Fazakas Sándor  
református lelkész

Dr. Fejes Tamás  
egyetemi tanár

Dr. Jákó János  
egyetemi tanár

Dr. Kezdi György  
egyetemi tanár

Dr. Kis János  
egyetemi tanár

Dr. Kovács József  
egyetemi docens

Levegő Anna  
igazgató

Dr. Maróti Ida  
egyetemi docens

Dr. Mayer Árpád  
egyetemi magántanár

Dr. Merényi Béla  
egyetemi tanár

Dr. Molnár Dénes  
egyetemi tanár

Dr. Munkácsy Katalin  
aligazgatói igazgató

Dr. Nagy Zoltán  
egyetemi tanár

Dr. Oberfrank Ferenc  
címzetes egyetemi docens

Dr. Oláh Edit  
egyetemi tanár

Dr. Rajkovich Bernadette  
főorvos

Dr. Sándor Judit  
egyetemi tanár

Dr. Szeiter Lilla  
egyetemi tanár

Székely Miklós  
nézők, főtanácsadó

Dr. Szeveg Balázs  
egyetemi tanár

Dr. Székely Inre  
nádornányos munkatárs

Dr. Törő Klára  
egyetemi docens

Dr. Ungváry György  
egyetemi tanár

Dr. Varró András  
egyetemi tanár

Várók József  
ápolási igazgató

Vérő Tamás  
rabbi

**MELLÉKLET A(Z)**  
**57/PI/10.. 1160-0/2010-1018EKU**  
**SZAMÚ**  
**SZAKHATÓSÁGIÁLLÁSFOGLALÁSHOZ**

## SZAKMAI – ETIKAI VÉLEMÉNY

### „Genetikai tényezők vizsgálata a pajzsmirigyrák kialakulásában” című kutatáshoz

A Bizottság szakmai-etikai szempontból – a kutatási tervhez küldött kiegészítések áttanulmányozása alapján - hozzájárul a kutatás elvégzéséhez.

Budapest, 2010. április 28.



*[Handwritten signature]*  
Dr. Papp Zoltán  
egyetemi tanár,  
az ETT TUKEB elnöke



2. melléklet: Beleegyző nyilatkozat



**SEMMEIWEIS EGYETEM**  
*Általános Orvostudományi Kar*

I. sz. Belgyógyászati Klinika  
Főigazgató: Prof. Dr. Szathmári Miklós  
1083. Budapest, Korányi Sándor u. 2/a.  
Tel.: 459-1500 Fax: 313-0250



**Genetikai tényezők vizsgálata a pajzsmirigyrák kialakulásában**

**TÁJÉKOZTATÓ A VIZSGÁLATBAN RÉSZTVEVŐK RÉSZÉRE**

Tisztelt Résztvevő,

**1. A vizsgálat célja**

A pajzsmirigy göbös megbetegedéseinek csupán töredéke rosszindulatú tumor. Ezen tumorok nagyobbik része jól kezelhető, azonban a kezelés sikerességét alapvetően befolyásolja a diagnózis időpontja. Jelenleg finomtü biopsziával (FNAB) diagnosztizáljuk a tumor fajtáját, de ez a módszer sem képes 100 %-ban pontos diagnózist adni. Vizsgálatunk célja genetikai vizsgálattal növelni a diagnosztikus pontosságot.

**2. A vizsgálat vezetője**

A vizsgálat vezetői Dr. Takács István és Prof. Dr. Lakatos Péter a Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikájának tanárai. A genetikai vizsgálatok és a genetikai minták tárolása az I. sz. Belgyógyászati Klinika Klinikai Kutató és Izotópdiaosztikai Laboratóriumában történnek.

**3. A vizsgálat leírása és az alkalmazott módszerek ismertetése**

Az Ön részvétele esetén egy kérdőív kitöltésére kérjük meg, majd a vizsgálatához egyébként is szükséges mintavétellel nyert anyagmintából egy igen kis részt genetikai vizsgálatra különítünk el.

Ez a mintavétel lehet

1. Az Önnél végzett pajzsmirigy műtét során eltávolított daganat szövetből
2. Vagy nyaki göböl való vékonytü-mintavétel során a vett minta maradék anyagából.

A vizsgálat miatt sem több szúrás, sem nagyobb anyagkivétel nem történhet. A vizsgálatban való részvétel nem jár többlet beavatkozással illetve idővel, vagy bármilyen kellemetlenséggel. Nem okozhat egészségkárosodást Önnek.

Önt, féléves gyakorisággal, 3 évig követjük. Félévente áttekintjük orvosi papírjaikat. Elégtelen információ vagy tumor gyanú esetén felvesszük a kapcsolatot az Ön gondozó orvosával.

A levett mintákat és/vagy a mintákból kivont genetikai hordozó anyagot az I.sz. Belgyógyászati Klinika Kutató Laboratóriumában tároljuk a vizsgálat befejezéséig. A minták csak a fent említett molekuláris biológiai vizsgálatokra használhatók, és személyes adatok nélkül, titkos számkóddal

jelöljük. A titkos számkód csak arra használható, hogy a vizsgálathoz szükséges egyéb adatok a vizsgálat eredményével összevethetőek legyenek, és sosem használhatók arra, hogy a molekuláris analízist végző személy felvegye Önnel a kapcsolatot. A titkos számkódot Dr. Takács István jelöli ki, és a kódszám azonosításának módját csak Ő és egy általa kijelölt helyettesítő személy ismeri. Amennyiben szükségessé válik, a kapcsolatot ők tudják felvenni Önnel.

Az Ön vizsgálati mintáin és a kitöltött kérdőíven is csak a számkód tüntethető fel. A minták azonosítása nem nevek alapján történik, tehát a vizsgálati mintákból az Ön személyes adatai nem azonosíthatók. A genetikai vizsgálat eredményéből nem lehet következtetni az Ön személyére, és a személyazonosságot automatikusan a vizsgálat után sem fedik fel.

#### **4. A vizsgálat során végzendő egyéb eljárások**

A vizsgálat során csak a szokásos kivizsgálás során nyert adatokat használjuk fel, illetve a kezelés, kivizsgálás, műtéti beavatkozás során szokásosan nyert mintákból használunk fel egy kis mennyiséget genetikai meghatározásra. Ez a tudományos vizsgálat sem az Ön kivizsgálását, sem mintáinak értékelhetőségét nem befolyásolja.

#### **5. A vizsgálatból származó előnyök – a vizsgálati eredmények megismerése**

Az Ön számára a vizsgálat valószínűleg nem jár közvetlen előnyökkel. A vizsgált genetikai tényezők diagnosztikus szerepe jelenleg nem bizonyított, ezért azok most az Ön számára semmilyen biztos információt sem jelentenek.

Ön jogosult a vizsgált genetikai adatainak megismerésére. Ezt kérésére mintáinak visszakódolása után megteesszük. Amennyiben eredményeink, vagy a következő években megjelenő tudományos adatok alapján az általunk vizsgált genetikai variációk hatással lehetnek az Ön vagy vérszerinti rokonai egészségi állapotára. Azaz a vizsgált genetikai paraméterek diagnosztikus eszközzé válnak, akkor genetikai vizsgálati eredményéről személyesen tájékoztatjuk. Ekkor az Ön által megadott elérhetőségek valamelyikén személyes megbeszélésre hívjuk be. Amennyiben nem csak személyesen akar tudomást szerezni a genetikai eredményről, akkor teljes bizonyító erejű magánokiratban vagy írásképtelensége esetén két tanú együttes jelenlétében megtett szóbeli nyilatkozatával megnevezheti azt a személyt, aki jogosult genetikai adatait megismerni.

#### **6. Kompenzáció**

Anyagi ellenszolgáltatás a vizsgálatban való részvételért nem adható.

#### **7. Terápiás beavatkozások a vizsgálat során**

A vizsgálat nem foglal magába terápiás beavatkozást.

**8. A vizsgálat megszakítása**

Az Ön részvétele ebben a programban teljesen önkéntes, részvételi szándéka bármikor visszavonható. Amennyiben nem kíván részt venni a vizsgálatban, vagy részvételi szándékát a program során visszavonja, az semmilyen hátránnyal nem jár orvosi ellátásában. Részvétele az Ön beleegyezése nélkül abban az esetben vonható vissza, ha az orvosi vélemény szerint az indokolt.

Amennyiben úgy dönt, hogy részvételét a vizsgálatban megszakítja, kérjük szándékát jelezze szóban vagy írásban a 9. bekezdésben található elérhetőségek valamelyikén. Ekkor a bekódolt genetikai mintát a vizsgálatvezető visszakódolja (tehát az Ön mintáját kiemeljük a minták közül) és a mintát illetve a mintájával kapcsolatos eddigi eredményeket, csakúgy, mint a vizsgálatban rögzített klinikai adatait, ezek papír, elektronikus formáját megsemmisítjük az adatkezelési törvénynek és a biológiai hulladékkezelési szabályoknak megfelelően. A minta és az adatok megsemmisítése az Ön jelzését követő 8 napon belül megtörténik és erről Ön 15 munkanapon belül írásos értesítést kap, amennyiben erről az írásos értesítésről írásban nem mond le.

**9. Az adatok bizalmas kezelése**

Az Ön személyazonossága, személyes adatai és a vizsgálatok eredményei a nemzetközi jogi előírásokat tekintetbe véve és azoknak megfelelően szigorúan bizalmasan kezelendők. Az Ön adatai és a vizsgálatok során nyert eredmények szigorúan bizalmas kezelése szerint bizonyos adatok a vizsgálatot végzők, a szakmai etikai bizottság, illetve a hivatalos kormányzati felügyelők számára kiadható, amennyiben az nem jogellenes.

**10. Felmerülő kérdések**

Bármilyen, a vizsgálattal kapcsolatos egészségügyi probléma vagy megválaszolatlan kérdés esetén kérjük hívja munkaidőben Dr. Takács Istvánt a +36-1-459-1500 telefonszámon, vagy a nap 24 órájában Dr. Halászlaki Csabát a +36-20-2341-269 számon. Amennyiben Ön egy, a vizsgálattól független kutatóval kíván beszélni, kérjük hívja Dr. Nagy Zsoltot a +36-1-459-1500/1493 telefonszámon.

Mivel a vizsgálat érdekében semminemű orvosi beavatkozást sem végzünk, ezért Önt a vizsgálat során egészségkárosodás nem érheti. A beleegyező nyilatkozat aláírásával az Ön jogai nem sérülnek.

**11.** A vizsgálat, a beteg tájékoztató anyag és a beteg beleegyező nyilatkozat mind formailag, mind tartalmilag megfelel a 2008. évi XXI. – a humángenetikai kutatásokról szóló – törvényben és a 235/2009. (X. 20.) Korm. rendeletben rögzítetteknek és a vizsgálatot az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatás-etikai Bizottsága engedélyezte.

Köszönjük, hogy elolvasta tájékoztatónkat!



SEMMEIWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

I. sz. Belgyógyászati Klinika  
Igazgató: Dr. Szathmári Miklós  
1083. Budapest, Korányi Sándor u. 2/a.  
Tel.: 459-1500 Fax: 313-0250



## GENETIKAI TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA A PAJZSMIRIGYRÁK KIALAKULÁSÁBAN

a vizsgálat, a beteg tájékoztató anyag és a beteg beleegyező nyilatkozat mind formailag, mind tartalmilag megfelel a 2008. évi XXI. – a humángenetikai kutatásokról szóló – törvényben rögzítetteknek, illetve 235/2009. (X. 20.) Kormányrendeletnek és a 23/2002 EüM rendeletnek

### BELEEGYEZŐ NYILATKOZAT

A vizsgálatról érthetően tájékoztattak és a vele kapcsolatos összes kérdésemre kielégítő választ kaptam.

Tudomásul veszem, hogy a vizsgálat vezetői Dr. Takács István és Prof. Dr. Lakatos Péter, és a molekuláris biológiai vizsgálatot a Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikán végzik, ahol 10 évig tárolják **kódolt** genetikai mintámat és **kódolt** klinikai adataimat és felhasználják a pajzsmirigy betegségekkel kapcsolatos kutatásokhoz. A betegtájékoztatót a Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinikáján Dr. Horányi János, az Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikáján Dr. Takács István és Dr. Halászlaki Csaba, az Országos Onkológiai Intézet Fej-Nyak Sebészeti Osztályán de. Boér András végzi.

Alulírott,

NÉV: \_\_\_\_\_, szül idő/hely:

\_\_\_\_\_

Anyja neve: \_\_\_\_\_, Lakcíme:

\_\_\_\_\_

TAJ-szám: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

- Önkéntesen és befolyástól mentesen hozzájárulok, hogy a pajzsmirigy betegségek genetikai hátterének felderítését célzó kutatáshoz tőlem genetikai mintát vegyenek és a **kódolt** genetikai mintát illetve az abból származó adatot 10 évre tárolják (biobankban helyezték el).
- Kizárólag orvostudományi célú – ezen belül is a pajzsmirigy betegségekkel összefüggő – kutatáshoz használhatják kódolt genetikai mintámat és klinikai adataimat.

- Tudomásul veszem, hogy beleegyezésemet bármikor visszavonhatom, ennek módjáról szóban és írásban tájékoztattak.
- A kutatásról szóban és írásban tájékoztatást kaptam, azt megértettem és tudomásul vettem.
- A beleegyező nyilatkozatból és a tájékoztatóból egy példányt a rendelkezésemre bocsátottak.

.....

DÁTUM: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

ALÁÍRÁS

.....

Vizsgálatvezető aláírása

3. melléklet: Kérdőív

**KÉRDŐÍV****PAJZSMIRIGY BIOPSZIÁN ÁTESETT BETEGEK RÉSZÉRE**

Név:

Születési dátum:

Nem:  Nő  Férfi

TAJ:

Telefonszám:

Mintavétel ideje:

Diagnózis:

Egyéb megjegyzés:

- 1.) Történt-e érezhető változás vagy romlás az állapotában a szöveti mintavétel(tűbiopszia) óta? (fáradékonyság, koncentrációzavar, súlyváltozás, fogyás, felfokozott állapot stb.)

igen

nem

Ha igen, kérjük, írja le milyen változást tapasztalt?

.....

.....

- 2.) Volt-e pajzsmirigyműtete a biopsziát követően?

igen

nem

Ha igen, akkor kérjük, adja meg melyik intézetben történt a műtéti beavatkozás?

.....

.....

Ha tudja, kérjük, adja meg a műtét során eltávolított tumor szövettani vizsgálatának eredményét!

.....

.....

- 3.) Volt-e ismételt vagy újabb biopszia? (a fenti időpont óta)

igen

nem

Ha igen, miért kellett ismételni vagy új mintát venni?

.....

.....

Mi lett az eredménye az újabb mintavételnek?

.....