

KATARZYNA DZIARKOWSKA, PIOTR WIECZOREK

*Zakład Chemii Ekologicznej, Instytut Chemii  
Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii  
Uniwersytet Opolski  
Oleska 48, 45-052 Opole  
e-mail: Katarzyna.Dziarkowska@pwr.wroc.pl  
Piotr.Wieczorek@uni.opole.pl*

## NOWOTWORY TARCZYCY – KLASYCZNE TECHNIKI DIAGNOSTYCZNE I MARKERY NOWOTWOROWE

### WSTĘP

Nowotwory złośliwe są jedną z najgroźniejszych chorób trapiących ludzkość i jedną z najczęstszych przyczyn zgonów. Wydłużona średnia długość życia człowieka oraz zanieczyszczenie środowiska sprawiają, iż liczba zachorowań wciąż rośnie. W skutecznej walce z tą chorobą bardzo ważne jest jej wczesne rozpoznanie i szybkie rozpoczęcie leczenia. Mimo znacznego postępu medycyny i technik diagnostycznych, nadal wiele przypadków nowotworów wykrywanych jest w zaawansowanym stadium rozwoju choroby, często za późno na efektywne leczenie. Przyczyną takiego stanu rzeczy jest niedoskonałość aparatury oraz metod diagnostycznych lub, co gorsza, ich zbyt duże koszty i mała dostępność. Nie ustają zatem wysiłki w celu wynalezienia skutecznych oraz niedrogich testów, które umożliwiłyby wczesne wykrywanie nowotworów złośliwych oraz poprawne ich rozpoznanie. Starania te dotyczą głównie tych nowotworów, których diagnostyka wykazuje pewne braki i niedoskonałości. Takimi nowotworami są między innymi nowotwory tarczycy. Mogą one występować nawet u 6% populacji ludzkiej. W większości są to nowotwory łagodne, rzadko zdarzają się raki tarczycy, a jeszcze rzadziej inne złośliwe jej nowotwory, takie jak mięsaki i chłoniaki. Pomimo powszechnego występowania guzów tarczycy nadal w wielu przypadkach nie sposób określić przed operacją czy mamy do czynienia z nowotworem

złośliwym czy łagodnym. Powszechnie stosowane techniki diagnostyczne, takie jak ultrasonografia i scyntygrafia, dostarczają jedynie wskazówek, nie są w stanie dostarczyć nam informacji o charakterze nowotworu. Współcześnie przedoperacyjne różnicowanie guza tarczycy opiera się głównie na wynikach biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. Opracowanie tej techniki stanowiło przełom w diagnostyce guzów tarczycy. Jednakże i ona obciążona jest poważnymi ograniczeniami, szczególnie w diagnostyce raka pęcherzykowego tarczycy. Ponadto, jej czułość i specyficzność w bardzo dużym stopniu zależą od doświadczenia cytopatologa przeprowadzającego badanie. Zatem nie ustają wysiłki w poszukiwaniu nowych metod, które uzupełniłyby obecnie stosowany warsztat diagnostyczny. Między innymi intensywnie poszukuje się markerów raka tarczycy. Markery nowotworowe są to substancje, których obecność lub względnie ich brak, związana jest z procesem nowotworzenia i zezłośliwienia. Mogą być one wykorzystywane w badaniach przesiewowych, w celach diagnostycznych i do monitorowania już leczonych pacjentów. Obecnie stosowane markery raków tarczycy mają ograniczone zastosowanie. Wobec tego intensywnie poszukuje się markerów raka tarczycy, które umożliwiłyby poprawną klasyfikację guza jako łagodnego lub złośliwego. Markerów, które miałyby zastosowanie dla wszystkich nowotworów tarczycy, niezależnie od ich typu

histologicznego. Celem niniejszego artykułu jest zapoznanie czytelników z problematyką nowotworów tarczycy i metod ich diagnosty-

ki, ze szczególnym uwzględnieniem roli markerów nowotworowych.

## TARCZYCA I JEJ NOWOTWORY

Tarczyca jest największym wyłącznie wewnątrzwydzielniczym gruczołem układu dokrewnego człowieka. Większa jest jedynie trzustka, która jest gruczołem mieszanym, tj. wydzielania wewnętrznego i zewnętrznego. Gruczoł tarczowy (inna nazwa tarczycy) znajduje się w przedniej części szyi, nieco poniżej krtani. Jego kształt porównywany jest do motyla lub litery H, ponieważ składa się on z dwóch płatów bocznych i łączącego je wąskiego pasma tkanki zwanej cieśnią. Cała tarczyca objęta jest torebką łącznotkankową, która wnika w jej miąższ i dzieli na liczne zraziki. Każdy zrazik zawiera kilkadziesiąt pęcherzyków gruczołowych. Pęcherzyk gruczołowy stanowi podstawową jednostkę czynnościową tarczycy. Jego ścianę buduje nabłonek jednowarstwowy, a komórki go tworzące nazywane są komórkami pęcherzykowymi. Wykazują one dużą aktywność wydzielniczą do wypełnionego koloidem światła pęcherzyka. Pęcherzyki otoczone są niewielką ilością tkanki łącznej luźnej, zawierającej liczne naczynia włosowate, limfatyczne i włókna nerwowe. Pomiędzy pęcherzykami oraz w ścianie pęcherzyków występuje też inny rodzaj nabłonkowych komórek tarczycy – komórki C (GÓROWSKI 1989, ŁACKA 1997, DEL HAYO 2001, ZGLICZYŃSKI 2001).

Tarczyca jest gruczołem posiadającym zasadnicze znaczenie w regulacji procesów przemiany materii. Dzieje się tak za pośrednictwem dwóch hormonów, jodowanych pochodnych aminokwasu tyrozyny, a mianowicie tyroksyny – zawierającej cztery atomy jodu i trójiodotyroniny, która zawiera trzy atomy jodu. W procesie powstawania tych hormonów bardzo ważną rolę odgrywa białko – tyreoglobulina. Jest ono matrycą i substratem dla ich syntezy, gdyż to wchodząca w jego skład reszta tyrozynowa jest jodowana. Tak powstała jodotyreoglobulina, zawierająca jodowane reszty tyrozyny, jest formą magazynową hormonów, wydzielaną i składowaną w koloidzie pęcherzyków. Hormony te przechowywane w postaci związanej z białkiem są nieaktywne i stanowią rezerwuuar, który może wystarczyć człowiekowi nawet na dziesięć miesięcy. W efekcie tarczyca jest

jedynym gruczołem endokrynnym człowieka, który przed wydzieleniem hormonów magazynuje duże ich ilości. Trzecim hormonem produkowanym przez gruczoł tarczowy jest kalcytonina. Różni się on od wymienionych wcześniej hormonów tarczycy – począwszy od jego budowy chemicznej, sposobu i miejsca syntezy, skończywszy na jego funkcji. Jest to peptyd obniżający stężenie jonów wapnia we krwi. Unieczynnia on osteoklasty uwalniające jony wapnia z kości, hamuje wchłanianie wapnia i fosforanów w jelicie oraz zwiększa ich wydalanie z moczem. Synteza kalcytoniny zachodzi w komórkach C tarczycy i jest całkowicie niezależna od produkcji tyroksyny i trójiodotyroniny. Brak chorób i patologii spowodowanych nadmiernym lub zbyt małym stężeniem kalcytoniny we krwi, prowadzi do wniosku, że hormon ten nie bierze znacznego udziału w homeostazie jonów wapnia w organizmie człowieka (HIRSCH i BARUCH 2003). Natomiast zaburzenia w wydzielaniu pozostałych hormonów tarczycy – tyroksyny i trójiodotyroniny skutkują poważnymi zaburzeniami w metabolizmie organizmu, nieraz fatalnymi w skutkach, jak w przypadku kretynizmu, czyli niedorozwoju umysłowego i fizycznego wynikłego z niedoczynności tarczycy w okresie prenatalnym i niemowlęcym (BRAVERMAN i UTIGER 1991, DEL HAYO 2001).

Tarczyca zawiera komórki pęcherzykowe, komórki C, komórki tkanki łącznej i śród-błonka naczyniowego oraz komórki limfatyczne. Wszystkie z nich mogą być podstawą do rozwinięcia się nowotworu. Nowotwory łagodne tarczycy najczęściej wywodzą się z komórek nabłonka gruczołowego tarczycy i są zwane gruczolakami (łac. *adenoma*). Gruczolaki są to wolno rosnące, otorebkowane guzki średnicy od kilku do kilkudziesięciu milimetrów, niewrastające do naczyń i nienaciekające sąsiednich tkanek. W zależności od kształtu i ułożenia komórek nowotworowych w jego obrazie mikroskopowym wyróżnia się gruczolaki proste, pęcherzykowe, beleczkowe, Hürtlego i atypowe. Gruczolaki tarczycy zazwyczaj nie wywołują żadnych dolegliwości. Wyjątkiem są autonomiczne, czyli niepodlegające nadrzędnej kontroli przysadki,

gruczolaki wydzielające znaczne ilości tyroksyny i trójjodotyroniny. W oczywisty sposób prowadzą one do stanu nadczynności tarczycy. Wśród nowotworów złośliwych tarczycy zdecydowanie najczęstsze są raki tarczycy. Stanowią one aż 98% przypadków wszystkich nowotworów złośliwych tarczycy. Rak jest to nowotwór złośliwy pochodzenia nabłonkowego. W przypadku gruczołu tarczowego może on rozwinąć się z komórek pęcherzykowych lub komórek C. Pomimo dużej częstości występowania guzów tarczycy wśród ludzi, raki tarczycy są stosunkowo rzadkie. Liczbę rocznych zachorowań na raka tarczycy szacuje się na 20–50 osób na milion. Kobiety zapadają na tę chorobę trzy razy częściej niż mężczyźni. Ze względu na budowę histologiczną wyróżnia się cztery typy raka tarczycy: brodawkowaty, pęcherzykowy, rdzeniasty i anaplastyczny. Rak brodawkowaty jest najpospolitszą i najmniej groźną postacią raka tarczycy. Jego nazwa pochodzi od obrazu mikroskopowego, w którym obecne są brodawkowate struktury zbudowane z tkanki łącznej pokrytej nabłonkiem. Guz ten często występuje w liczbie mnogiej w obu płatach gruczołu, jest zwykle nieotorebkowany i ma średnicę od kilku do kilkudziesięciu milimetrów. Rak brodawkowaty rozwija się powoli, ale może dawać przerzuty do węzłów chłonnych. Rokowanie w przypadku tego raka jest bardzo dobre, jednak u osób starszych choroba ta może mieć znacznie agresywniejszy przebieg (WOYKE i OLSZEWSKI 1982, ŁACKA 1997).

Drugim pod względem częstości występowania jest rak pęcherzykowy. W tej zmianie nowotworowej komórki ułożone są w pęcherzyki z niewielką ilością koloidu. Rak ten ma postać pojedynczego guza o średnicy od jednego do kilku centymetrów, w początkowym okresie rozwoju dobrze odgraniczonego od reszty tkanek. Rozpoznanie raka pęcherzykowego polega na stwierdzeniu inwazji torebki guza lub naczyń krwionośnych przez komórki nowotworowe. Wyróżnia się dwie postacie raka pęcherzykowego tarczycy: postać angioinwazyjną i masywnie naciekającą. Pierwsza postać jest otorebkowanym

guzem, ze stwierdzoną inwazją naczyń lub torebki. Druga postać to nieotorebkowany nowotwór, który masywnie nacieka naczynia krwionośne i otaczającą go tkankę. Rak pęcherzykowy drogą krwionobiegu daje odległe przerzuty, zwykle do płuc i kości. Rokowanie w przypadku raka pęcherzykowego tarczycy jest dość dobre, ale gorsze niż w przypadku raka brodawkowatego.

Trzecim rodzajem raka wywodzącego się z komórek pęcherzykowych tarczycy jest rak anaplastyczny. Występuje on u osób po pięćdziesiątym roku życia. Większość raków anaplastycznych powstaje na skutek przemiany raków zróżnicowanych (brodawkowatych i pęcherzykowych), tak zwanego odróżnicowania. Rak anaplastyczny odznacza się bardzo szybkim tempem wzrostu, intensywnie nacieka inne tkanki i daje wczesne przerzuty, często zanim jeszcze wystąpią jakiegokolwiek jego zewnętrzne objawy. Rak ten jest bardzo złośliwy i rokowanie jest bardzo złe. Średni okres życia chorego od momentu postawienia diagnozy to zazwyczaj cztery miesiące (GIMM 2001, ZGLICZYŃSKI 2001).

Czwartym rodzajem raka tarczycy, powstającym, w odróżnieniu od pozostałych typów, z komórek C, jest rak rdzeniasty. Jest to twardy, nieotorebkowany guz, wyraźnie odgraniczony od pozostałych tkanek. Występują dwie formy raka rdzeniastego: sporadyczna (około 80% przypadków zachorowań) i dziedziczna. Dziedziczny rak rdzeniasty może występować samodzielnie, tak jak to jest w przypadku choroby o nazwie rodzinny rak rdzeniasty, lub występować łącznie z nowotworami innych narządów (rdzenia nadnerczy i przytarczyc) w typie drugim zespołów wielogruczołowych, np. w tak zwanym zespole MEN 2A. Rak rdzeniasty jest aktywnym biochemicznie nowotworem wydzielającym kalcytoninę. Pod względem złośliwości, rak ten zajmuje miejsce pośrednie pomiędzy rakami zróżnicowanymi a rakiem anaplastycznym. Rokowanie jest różne, zależy w dużej mierze od stopnia rozwoju guza usuniętego w czasie operacji i jest nieco lepsze u osób z formą dziedziczną (CLAYMAN i EL-BARADIE 2003, SHERMAN 2003).

#### DIAGNOSTYKA NOWOTWORÓW TARCZYCY

Podstawowymi badaniami, jakie może wykonać nawet lekarz pierwszego kontaktu są badania podmiotowe i przedmiotowe.

Badanie podmiotowe to właściwie wywiad lekarski, podczas którego lekarz zbiera informacje o aktualnych dolegliwościach wystę-

pujących u pacjenta, chorobach przebytych w przeszłości i schorzeniach występujących u najbliższych członków rodziny, a także informacje o środowisku i stylu życia pacjenta. Badanie przedmiotowe obejmuje oglądanie, badanie palpacyjne i osłuchiwanie stetoskopem. Są to podstawowe badania za pomocą, których lekarz może stwierdzić obecność patologicznych zmian w badanej tarczycy.

Znacznie więcej informacji o morfologii tarczycy są w stanie dostarczyć techniki wizualizacji gruczołu tarczowego. Należą do nich badania scyntygraficzne, ultradźwiękowe, biopsja aspiracyjna cienkoigłowa, techniki radiologiczne, magnetyczny rezonans jądrowy i badania z zastosowaniem techniki fluorescencyjnej. Jednakże z powodu małej dostępności, wysokich kosztów, bądź też niewielkiej wartości diagnostycznej tylko trzy z nich są powszechnie wykorzystywane w diagnostyce guzów tarczycy, a mianowicie ultrasonografia, scyntygrafia i biopsja aspiracyjna cienkoigłowa. Ultrasonografia (USG) to najbardziej rozpowszechniona metoda obrazowania narządów i tkanek organizmu człowieka, wprowadzona do użytku klinicznego w latach 60. ubiegłego wieku. W badaniu tym w celu uzyskania dokładnego obrazu narządu wykorzystuje się fale ultradźwiękowe. Ponieważ tarczyca jest położona zaraz pod skórą szyi, z badań tych można dość łatwo dowiedzieć się, jaki jest rozmiar, kształt, położenie, struktura gruczołu, a także stwierdzić występowanie jakichkolwiek zmian morfologicznych. Zmiany te mogą być uogólnione, czyli dotyczące całego gruczołu (w przypadku wola nadczynnego lub stanach zapalnych) lub ogniskowe (torbiele, krwiaki, guzy nowotworowe, zwłóknienia, zwapnienia). Zaletą badań USG jest możliwość odróżnienia torbieli od litych guzów tarczycy. Niestety, technika ta nie pozwala na rozróżnienie guzów złośliwych od łagodnych.

Drugą techniką będącą naszym orężem w diagnostyce zmian guzowatych tarczycy jest scyntygrafia. Jest to metoda pozyskiwania obrazu narządów i niekiedy oceny ich czynności za pomocą niewielkich dawek izotopu promieniotwórczego. W przypadku badań tarczycy podawanymi izotopem jest głównie jod  $^{131}\text{I}$  i technet  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Tarczyca aktywnie wychwytuje wspomniane pierwiastki, lecz różne obszary tego gruczołu w innym stopniu gromadzą podany izotop. Emitowane przez niego promieniowanie jest rejestrowane i przetwarzane na dwuwymiarową mapę gruczołu – scyntygram. Oprócz takich da-

nych jak wielkość, położenie i kształt, które można uzyskać także za pomocą badań ultrasonograficznych, scyntygrafia dostarcza możliwości pośredniej oceny funkcji tarczycy, poprzez analizę rozkładu radioaktywności. Guzy o większej zdolności do kumulacji jodu lub technetu określane są jako gorące, guzy gromadzące mniej izotopu to guzki chłodne, a guzy nie wychwytyjące go wcale, to guzki zimne. Scyntygrafia nie dostarcza jednak szczegółowych informacji o charakterze guza i na tej podstawie nie można postawić diagnozy różnicującej nowotworu. Obraz guzka zimnego może dać zarówno torbiel, gruczolak jak i rak tarczycy. Jednakże rzadko się zdarza, aby nowotwory złośliwe miały postać guzków gorących, najczęściej rozpoznawane są one w guzkach zimnych. Jeszcze 20 lat temu, gdy scyntygrafia była podstawowym badaniem, na którym opierała się diagnostyka zmian morfologicznych w tarczycy, obecność guzka zimnego była podstawą do jej usunięcia. Liczba niepotrzebnych operacji usuwania tarczycy znacznie zmalała po wprowadzeniu do powszechnej praktyki biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. Podczas tego badania pobiera się za pomocą cienkiej igły materiał komórkowy z danego obszaru tarczycy, zwykle pod kontrolą USG. Z uzyskanego materiału robi się preparaty mikroskopowe analizowane przez cytopatologa. Jest to badanie, na którym opiera się przedoperacyjna diagnoza różnicowa nowotworów tarczycy (WOYKE i OLSZEWSKI 1982, LIN 1999, MATESA i współaut. 2002). Na podstawie jego wyników kwalifikuje się pacjentów do zabiegu operacyjnego. Różnicująca diagnoza pomiędzy nowotworem złośliwym i łagodnym jest bardzo ważna, ponieważ w przypadku obecności nowotworu złośliwego pacjent jest zwykle poddawany drastycznemu leczeniu m.in. całkowitemu usunięciu gruczołu tarczowego i podawaniu promieniotwórczego izotopu jodu. Skazuje to go na konieczność codziennego, dożywotniego zażywania leków hormonalnych. Dzięki biopsji cytopatolog może rozpoznać wiele przypadków raków i innych nowotworów złośliwych tarczycy. Najłatwiejszym do rozpoznania rakiem jest rak anaplastyczny, największe problemy są z diagnozą raka pęcherzykowego. Nowotwór pęcherzykowy nie może być przedoperacyjnie zdiagnozowany jako łagodny lub złośliwy, ponieważ za pomocą biopsji nie sposób stwierdzić naciekania naczyń i torebki guza, które stanowi kryterium złośliwości nowotworu pęcherzykowego. Cytopatolog określa więc zmianę jako nowotwór

pęcherzykowy (łac. *neoplasma folliculare*). Rozpoznanie to jest wskazaniem do leczenia operacyjnego i przeprowadzenia pooperacyjnych badań histologicznych, w celu ostatecznego ustalenia diagnozy. Ostatecznie grupa nowotworów pęcherzykowych tylko w około 7% okazuje się być rakami. Wartość diagnostyczna biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej zależy w dużej mierze od postaci choroby i doświadczenia cytopatologa. Wyniki błędnie ujemne wynoszą od 4 do 25%, co oznacza iż w tylu procentach badanych przypadków nie został wykryty nowotwór złośliwy. Natomiast

wyniki błędnie dodatnie, czyli błędne rozpoznanie nowotworu za złośliwy występuje w 3% przypadków (ZGLICZYŃSKI 2001). Liczby te, a zwłaszcza procent wyników błędnie ujemnych oraz brak możliwości przedoperacyjnej diagnostyki nowotworów pęcherzykowych zmusza naukowców do poszukiwania nowych technik diagnostycznych, które dostarczyłyby więcej wiedzy na temat guza, a tym samym umożliwiły postawienie dokładniejszej diagnozy. Jedną z dróg, którymi podążają badania, jest poszukiwanie cząsteczkowych markerów nowotworowych.

### MARKERY NOWOTWOROWE

Transformacja nowotworowa tkanki niesie ze sobą nie tylko zmianę jej właściwości morfologicznych, które mogą być rozpoznane przez cyto- i histopatologów. Zmiany następują także na poziomie molekularnym i mogą zostać zauważone przez biochemików i analityków medycznych. W przypadku wielu nowotworów zachodzi anormalna produkcja pewnych substancji, tzw. markerów nowotworowych. Terminem „marker nowotworowy” zwykle określa się substancję chemiczną, której obecność, podwyższone stężenie lub obniżone stężenie w organizmie związane jest z procesem nowotworzenia i złośliwienia. Aby taka substancja mogła zostać wykorzystana w diagnostyce klinicznej konieczne jest spełnienie przez marker pewnych warunków. Idealny marker powinien być: (1) syntetyzowany tylko w organizmach pacjentów z nowotworem złośliwym już we wczesnym stadium choroby, (2) mierzalny w łatwo osiągalnej tkance lub w płynie ustrojowym pacjenta oraz (3) jego stężenie powinno korelować ze stadium choroby oraz postępem leczenia. Oczywiście w praktyce nie wykryto jeszcze żadnego markera nowotworowego, który spełniałby wszystkie powyższe założenia. Te, które są w powszechnym użyciu musiały przejść etap ewaluacji, podczas którego sprawdza się ich rzeczywistą użyteczność w procesie diagnostycznym. Dwoma bardzo ważnymi parametrami markera ocenianymi w procesie ewaluacji jest czułość i specyficzność (parametry te w zasadzie odnoszą się do konkretnej metody oznaczania markera). Czułość jest to zdolność testu markerowe-

go do wykrycia tych osobników populacji, którzy mają raka. Jest to iloraz prawdziwych pozytywnych wyników testu i sumy wyników prawdziwych pozytywnych i fałszywych negatywnych, czyli wszystkich przypadków raka. Specyficzność markera jest to jego zdolność do wyznaczenia w badanej populacji osób wolnych od raka. Jest to stosunek wyników prawdziwych negatywnych do sumy prawdziwych negatywnych i fałszywych pozytywnych. Wartość diagnostyczna markera nowotworowego zależy od jego czułości i specyficzności, im te dwie wartości są wyższe, tym lepszy jest marker. Współcześnie stosowane markery są dalekie od ideału, dlatego zwykle konieczne jest ich stosowanie w połączeniu z innymi metodami diagnostycznymi. Jednakże pomimo swoich słabości w pewnych przypadkach dostarczają one wielu użytecznych informacji i są wykorzystywane w celu:

- wykrywania i diagnozowania raka (zarówno do badań przesiewowych i jako pomoc w diagnozie różnicowej wykrytego nowotworu);
- monitorowania i przewidywania skuteczności terapii;
- wykrywania nawrotów choroby i przerzutów.

Większość markerów jest stosowana w monitorowaniu stanu pacjentów z już wcześniej wykrytym nowotworem złośliwym, ponieważ nie spełniają one surowych kryteriów użyteczności w procesie diagnostycznym (mała czułość i specyficzność we wczesnym stadium rozwoju nowotworu) (LINDBLOM i LILJEGREN 2000, STURGEON 2002).

## POWSZECHNIE STOSOWANE MARKERY RAKÓW TARCZYCY

W diagnostyce i prowadzeniu leczenia pacjentów z guzami tarczycy powszechnie stosowane są dwa markery: tyreoglobulina i kalcytonina. Tyreoglobulina (Tg) to białko, którego rola już została wspomniana przy opisie syntezy tyroksyny i trójiodotyroniny. Jest to glikoproteina o masie cząsteczkowej 660 kD, produkowana przez komórki pęcherzykowe tarczycy. Jest to najobficiej występujące białko w tarczycy, zarówno wewnątrz komórek, jak i w koloidzie pęcherzykowym. Niewielkie ilości tyreoglobuliny (do 30 ng/ml) obecne są w krążeniu ustrojowym. Podwyższenie tego stężenia może nastąpić na skutek zadziałania czynników fizjologicznych i patologicznych. W warunkach fizjologicznych podwyższone stężenia Tg w surowicy krwi spotyka się u kobiet w drugiej połowie cyklu miesięczkowego, w ciąży oraz u noworodków. W warunkach patologicznych anormalnie wysokie stężenia tyreoglobuliny mogą wystąpić wskutek uszkodzenia pęcherzyków gruczołowych (uraz, zabieg operacyjny, obecność procesów zapalnych i nowotworowych) oraz w przypadku nadczynności tarczycy. Występowanie podwyższonych stężeń tyreoglobuliny w tak wielu różnych przypadkach uniemożliwia wykorzystanie jej jako markera raka tarczycy stosowanego w celu wykrycia i diagnozy raka. Jest natomiast z powodzeniem stosowana jako marker służący do monitorowania skuteczności terapii, wykrywania przerzutów i nawrotów raków zróżnicowanych tarczycy. Jest to możliwe, gdyż białko to produkowane jest wyłącznie przez komórki pęcherzykowe tarczycy. Po usunięciu gruczołu i zniszczeniu resztek tkanek tarczycy lub ewentualnych przerzutów za pomocą radioizotopu jodu, krew nie powinna zawierać wykrywalnych ilości tyreoglobuliny. W praktyce utrzymywanie się w surowicy, w warunkach stymulacji TSH, poziomu tyreoglobuliny poniżej 10 ng/ml świadczy o skuteczności terapii, natomiast stężenia powyżej tej wartości sugerują nieskuteczne leczenie i/lub nawrót choroby. Stężenie tyreoglobuliny u osób po usunięciu tarczycy dobrze koreluje ze stopniem rozwoju nowotworu i w przypadkach obecności odległych przerzutów może dochodzić do kilku tysięcy nanogramów na jeden mililitr surowicy (SCHLUMBERGER i BAUDIN 1998, ZGLICZYŃSKI 2001).

Drugim powszechnie stosowanym markerem nowotworowym tarczycy jest kalcytonina. O kalcytoninie też już była wcześniej

mowa w tym artykule, gdyż jest to jeden z hormonów tarczycy syntetyzowany przez komórki C. Z tych komórek wywodzi się rak rdzeniasty, który intensywnie wydziela kalcytoninę. Dzięki temu hormon ten może być stosowany jako marker raka rdzeniastego tarczycy i być wykorzystywany do jego diagnostyki i monitorowania chorych na niego osób. Podwyższone stężenia kalcytoniny mogą także występować u chorych z niewydolnością nerek, z niedokrwistością Addisona-Biermera oraz sporadycznie w przypadku obecności innych nowotworów. Pomimo tego kalcytonina jest bardzo czułym i specyficznym markerem raka rdzeniastego tarczycy, gdyż tylko w przypadkach raka rdzeniastego jej stężenie wzrasta w testach stymulacyjnych. Testy te polegają na dożylnym podaniu pengastryny i/lub glukonianu wapnia, po czym oznacza się kalcytoninę, najczęściej w czasie zero, dwóch, trzech, pięciu i dziesięciu minut po wykonaniu iniekcji. Takie testy mogą ujawnić anormalny wzrost stężenia kalcytoniny w przypadkach, gdy jej stężenie przed stymulacją jest w normie. Wartości stężenia kalcytoniny, wyższe od 10 pg/ml w warunkach podstawowych i powyżej 30 pg/ml po stymulacji, uważa się za nieprawidłowe i pacjenta poddaje obserwacji. Natomiast prawie pewnym rozpoznaniem raka rdzeniastego jest występowanie stężenia kalcytoniny powyżej 100 pg/ml w teście stymulacyjnym. Pomiar stężenia tego markera jest wskazany u osób z wykrytym guzem tarczycy w celu wykluczenia albo potwierdzenia obecności raka rdzeniastego, bowiem czułość biopsji w rozpoznawaniu tego nowotworu, gdy cytopatolog nie jest ukierunkowany na jego rozpoznanie, pozostawia wiele do życzenia i może wynosić zaledwie 30% (ZGLICZYŃSKI 2001). Rutynowo pomiar stężenia kalcytoniny we krwi wykonuje się u członków rodziny pacjenta chorego na raka rdzeniastego tarczycy, jako członków grupy wysokiego ryzyka. Można też metodami analizy genetycznej sprawdzić obecność specyficznych mutacji w protoonkogenie *RET* kodującym receptora kinazę tyrozynową. W zależności od tego, w którym kodonie następuje mutacja, może ona wywołać chorobę MEN 2A, MEN 2B lub rodzinny rak rdzeniastego. Zaletą badań genetycznych jest możliwość stwierdzenia dużego zagrożenia wystąpienia raka, jeszcze zanim choroba ta nastąpi (LIPS i współaut. 2001). Zatem możliwe jest rozpoczęcie pre-

wencyjnego leczenia, co w praktyce oznacza całkowite usunięcie gruczołu. Ten zabieg chirurgiczny zaleca się wszystkim osobom, u których stwierdzono niebezpieczne mutacje, nawet dzieciom (CLAYMAN i EL-BARADIE 2003). Testy genetyczne mają tę przewagę, że umożliwiają profilaktykę raka rdzeniastego tarczycy, jednak nie mogą zastąpić klasycznych testów kalcytoninowych. Testy te

się uzupełniają i stosowane razem stanowią nieocenione narzędzia w profilaktyce, diagnostyce i prowadzeniu chorych na raka rdzeniastego. To właściwie jedyny rodzaj raka tarczycy, w którym markery, czy cząsteczkowe czy też genetyczne, mogą być wykorzystane w diagnostyce. W pozostałych przypadkach możemy polegać tylko na wynikach biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej.

## POTENCJALNE MARKERY NOWOTWORÓW TARCZYCY

Najważniejszym zadaniem diagnostyki guzów tarczycy jest ich zróżnicowanie na łagodne lub złośliwe. Obecnie badanych jest wiele substancji chemicznych, w nadziei, że pomogą one w rozstrzygnięciu tego problemu. Substancje te zwykle nie są specyficzne tylko dla raka tarczycy, ale dla raków w ogólności. Jednakże, gdy bada się materiał, o którym wiemy, że pochodzi z tarczycy (materiał biopsyjny lub operacyjny), to fakt ten nie ma większego znaczenia. Do grupy markerów specyficznych dla wszystkich raków, a badanych w celu ich zastosowania w diagnostyce raka tarczycy należą między innymi telomeraza, galektyna 3, HBME-1, VEGF i zmodyfikowane nukleozydy.

Telomeraza jest enzymem umożliwiającym replikację końców liniowej cząsteczki DNA. Tym samym chroni ona końce chromosomów przed ustawicznym skracaniem w trakcie kolejnych podziałów komórkowych. W większości komórek somatycznych organizmu ekspresja telomerazy jest zahamowana, aktywność tego enzymu można jedynie stwierdzić w limfocytach i komórkach linii zarodkowej, a także w 85% przypadków wszystkich nowotworów złośliwych. Dlatego wykazanie aktywności telomerazy w tkance guza tarczycy może świadczyć o jego złośliwości. Przeprowadzone badania pomiaru aktywności telomerazy w nowotworach tarczycy wykazały, iż guzy złośliwe charakteryzowały się większą aktywnością telomerazy niż łagodne. Jednakże ograniczona czułość i specyficzność sprawia, iż kwestia możliwości wykorzystania telomerazy jako markera różnicującego jest nadal dyskusyjna (RINGEL 2000, CHATZANTONIOU 2001, SUZUKI i współaut. 2002, TRULSSON i współaut. 2003, MORA i LERMA 2004). Wynika to z faktu, iż wyniki fałszywie dodatnie mogą zostać spowodowane przez obecność w próbkach limfocytów, które naciekły tkankę guza, a w których syn-

tetyzowane i aktywne jest białko telomerazy (MATTHEWS i współaut. 2001).

Kolejną substancją badaną jako marker raka tarczycy jest galektyna 3. Białko to należy do lektyn, czyli grupy białek charakteryzujących się zdolnością wiązania węglowodanów. Interakcje między lektynami i przynależnymi im resztami cukrowymi biorą udział w wielu procesach, takich jak adhezja, wzrost i różnicowanie komórek. Galektyna 3 rozpoznaje ugrupowanie N-acetylolaktozaminowe w różnych koniugatach cukrowych. Zmiany w ekspresji tego białka zauważono w różnych nowotworach złośliwych, w tym w rakach tarczycy. Rola tej lektyny w patogenezie raka tarczycy jest wciąż nieznana. Wiadomo, że stężenie tego białka w tkance koreluje ze stopniem rozwoju nowotworu i nabraniem przez niego zdolności do metastazy. Niestety, podobnie jak w przypadku telomerazy, czułość i specyficzność tego markera (różna w badaniach różnych autorów) nie jest wystarczająca na uzyskanie rozstrzygającej diagnozy różnicowej. Z drugiej strony, duża zawartość tego białka przemawia jednak za obecnością u pacjenta zaawansowanego stadium choroby (AKAHANI i współaut. 1997, RINGEL 2000, CVEJIC i współaut. 2003).

Kolejną badaną w tym celu substancją jest HBME-1 – przeciwciało wiążące nieznaną epitetę występującą na komórkach pochodzenia mezodermalnego. Wykazano, że często jest ono obecne w raku pęcherzykowym i brodawkowatym, podczas gdy guzy łagodne dużo rzadziej charakteryzuje jego obecność (CHEUNG i współaut. 2001, MOKHTARI i współaut. 2005).

Innym potencjalnym markerem raka tarczycy jest enzym – DPP IV (aminopeptydaza dipeptydylowa IV). Jest to egzopeptydaza membranowa, która odcina dipeptydy od N-końca peptydowych substratów (chemikiny, neuropeptydy, hormony). Jest ona syntety-

zowana w wielu ludzkich tkankach, ale nie w zdrowych komórkach pęcherzykowych tarczycy. Obecność tego enzymu stwierdzono jednak w wielu przypadkach zróżnicowanych raków tarczycy (KHOLOVA i współaut. 2003a).

Jako markery raków tarczycy badane są także różne czynniki wzrostu, które pobudzają komórki do odróżnicowania i podziałów. Taką substancją jest między innymi VEGF, czyli naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu. Jest to glikoproteina będąca stymulatorem wzrostu komórek śródbłonka naczyniowego. Powoduje ona angiogenezę, czyli rozwój sieci naczyń krwionośnych. Proces ten ma zasadnicze znaczenie podczas rozwoju embrionalnego, a także w procesie wzrostu nowotworów. Obecność sieci naczyń krwionośnych w guzie umożliwia mu dostęp do większej ilości pożywienia i tlenu, które nie mogą być dostarczone do tkanki guza na drodze dyfuzji. Zwiększona ekspresja tego białka występuje w wielu nowotworach, również w rakach tarczycy (SOH i współaut. 1997, KILICARSLAN i współaut. 2003) Sam naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu nie może być wykorzystany w diagnostyce różnicowej, gdyż jego obecność stwierdza się nie tylko w nowotworach złośliwych, ale też w niektórych zmianach łagodnych i nienowotworowych. Niemniej jednak zauważono, że ilość występującego w guzie naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu koreluje z jego złośliwością (KLEIN i współaut. 2001, TUTTLE i współaut. 2002).

Nietypowymi, bo niskocząsteczkowymi związkami chemicznymi, badanymi jako potencjalne markery raka tarczycy, są zmodyfikowane nukleozydy. Na skutek posttranskrypcyjnych modyfikacji cząsteczki t-RNA, obok normalnych rybonukleozydów: adenozyny, guanozyny, cytydyny i urydyny, zawierają także sporo nukleozydów zmodyfikowanych. Większość z nich jest metylowana w części zasadowej lub cukrowej. W czasie hydrolizy, dokonywanej przez rybonukleazy i fosfatazy, t-RNA rozpada się między innymi na wolne nukleozydy. W przeciwieństwie do normalnych nukleozydów, zmodyfikowane nukleozydy nie mogą być użyte do ponownej syntezy RNA. Krążą one w krwiobieg człowieka, po czym są wydalane z moczem. Stężenie zmodyfikowanych nukleozydów w moczu odzwierciedla stopień nasilenia degradacji RNA w organizmie człowieka, zatem jakiegokolwiek zaburzenia w gospodarce RNA będą miały w nim swe odbicie. Zmodyfiko-

wane nukleozydy są obecnie badane jako potencjalne markery nowotworów złośliwych, gdyż w wielu przypadkach nowotworów złośliwych zauważono ich anormalnie wysokie stężenia (LIEBICH i współaut. 2005). Badano także chorych na raka tarczycy i stwierdzono, że mocz chorych zawierał podwyższone stężenia zmodyfikowanych nukleozydów, z których najobficiej występowała pseudourydyna, dihydrourydyna, N<sup>2</sup>-metyloguanozyna i ksantozyna (LA i współaut. 2003). Uzyskane wyniki sugerują możliwość wykorzystania zmodyfikowanych nukleozydów do monitorowania skuteczności terapii i stopnia rozwoju choroby u ludzi chorych na nowotwory złośliwe.

Jako markery raków tarczycy badane są także substancje chemiczne specyficzne dla zdrowej i normalnie funkcjonującej tkanki tarczycowej, a nie dla samego procesu nowotworzenia. Takim markerem jest powszechnie stosowana i już wcześniej opisana tyreoglobulina, a także peroksydaza tarczycy oraz symporter sodowo-jodowy (NIS). Peroksydaza tarczycy (TPO) jest to specyficzny dla tarczycy, zakotwiczony w błonie komórkowej enzym przeprowadzający proces jodowania tyreoglobuliny. Bierze on bezpośredni udział w syntezie tyroksyny i trójjodotyroniny, a więc jest niezbędny w każdej prawidłowo funkcjonującej tarczycy. W stanach chorobowych aktywność tego enzymu ulega zmianom, zwiększa się u ludzi chorych na nadczynność tarczycy, zmniejsza – u pacjentów z rakiem tarczycy (KHOLOVA i współaut. 2003b). Czułość i specyficzność TPO oczywiście nie pozwalają na jego wykorzystanie jako głównego kryterium złośliwości guza, enzym ten może jednak pełnić rolę markera wspomagającego.

Symporter sodowo-jodowy NIS to białko błonowe uczestniczące w aktywnym transporcie jonów jodkowych do wnętrza komórek pęcherzykowych tarczycy. Podobnie jak TPO, enzym ten jest jednym z enzymów kluczowych dla procesu syntezy hormonów tarczycy, gdyż zaopatruje on komórki w substrat – jony jodkowe. Zdolność tarczycy do aktywnego wychwytywania jodu przez komórki pęcherzykowate może być monitorowana dzięki badaniu scyntygraficznemu. W badaniu tym często raki tarczycy objawiają się jako guzki zimne lub chłodne, czyli pochłaniające mniej jodków od zdrowych tkanek tarczycy. Zmniejszony pobór jodków spowodowany jest przez zmniejszoną lub wręcz zahamowaną ekspresję białka NIS w tkankach raka. Wobec tego NIS, podobnie

jak tyreoglobulina i TPO, jest markerem zróżnicowania komórek tkanek tarczycy. Nowotwory charakteryzujące się dużym stopniem odróżnicowania tkanek są bardziej agresywne. Ponadto guzy, w których jest mało białka NIS będą odporne na leczenie ablacyjne. Jest to terapia, której celem jest zniszczenie pozostałych po operacji resztek tkanek tarczycy i ewentualnych przerzutów za pomocą radiojodu. Zatem brak obecności NIS w tkankach guza tarczycy jest złym znakiem dla pacjenta, gdyż przemawia za jego agresywnością, a ponadto sugeruje niepomyślny efekt terapii (PATEL i współaut. 2002).

Opisane powyżej substancje różnią się od siebie budową chemiczną oraz funkcją, jaką pełnią w organizmie. To sprawia, iż różne markery mogą zostać wykorzystane na innych etapach procesu rozpoznania i leczenia choroby: jako wsparcie w diagnozie, do określenia stopnia rozwoju raka, bądź jako pomoc w wykrywaniu nawrotów choroby. Najprawdopodobniej żadna z opisanych wyżej substancji, ze względu na niezbyt wyso-

ką czułość i specyficzność, nie będzie mogła być stosowana w diagnostyce guzów tarczycy w skali porównywalnej do kalcytoniny. Ich niesatysfakcjonujące parametry naukowcy starają się doskonalić stosując jednocześnie kombinacje dwóch lub więcej markerów. Jednoczesne oznaczenie dwóch markerów, np. TPO i DPP IV, znacznie zwiększa precyzję diagnozy (KHOLOVA i współaut. 2003). Zatem możliwe są dwie drogi rozwoju badań dotyczących markerów złośliwości guzów tarczycy. Pierwsza ścieżka polega na poszukiwaniu optymalnej kombinacji już znanych markerów, druga – to dalsze próby poszukiwania nowych, nieznanych lub niezbadanych jeszcze substancji w nadziei, że okażą się one wystarczająco czułymi i specyficznymi markerami raka tarczycy. Oczekuje się, iż takie markery mogłyby ograniczyć do minimum ilość niepotrzebnie przeprowadzanych operacji usunięcia tarczycy i stanowić kolejny, po odkryciu biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, kamień milowy w diagnostyce guzów tarczycy.

## THYROID NEOPLASMS – CLASSICAL DIAGNOSTIC TECHNIQUES AND TUMOR MARKERS

### Summary

Thyroid tumors are a very common disorder and can occur in six percent of human population. Despite this fact, there are still no effective and reliable techniques that would allow to pose a reliable differential diagnosis between malignant and benign thyroid tumor. The prevailing diagnostic techniques are: ultrasonography, scintigraphy and fine needle aspiration cytology. In many cases they can not distinguish carcinomas from benign neoplasms. Such diagnosis is essential, because the patient with malignancy undergoes a very rigorous treatment that is unnecessary and inadvisable for patient with benign lesions. Therefore, the thyroid tumor markers are searched for. Generally tumor markers are substances, which presence or absence is related to ma-

lignancy. They can be used for population screening and for detection, diagnosis, staging, prognosis or follow up of malignant diseases. The thyroid tumor markers currently used have very restricted applications. The first one – calcitonine is produced only by one kind of cancer (medullary carcinoma) and the second – thyroglobulin is useful only in detection of recurrent follicular and papillary thyroid carcinoma. Therefore, there is a need to search for new tumor marker that could enable to differentiate benign lesions in thyroid from malignancies. This review article presents some information about thyroid neoplasms and methods of their diagnosis, highlighting current and possible usage of tumor markers.

### LITERATURA

- AKAHANI S., INOHARA H., NANGIA-MAKKER P., RAZ A., 1997. *Galectin-3 in tumor metastasis*. Trends Glycosc. Glycotech. 9, 69-75.
- BRAVERMAN L. E., UTIGER R. D., 1991. *Werner and Ingbar's The Thyroid: a fundamental and clinical text*. J. B. Lippincott Company, Philadelphia.
- CHATZIANTONIOU V. D., 2001. *Telomerase: biological function and potential role in cancer management*. Pathol. Oncol. Res. 7, 161-170.
- CHEUNG C. C., EZZAT S., FREEMAN J. L., ROSEN I. B., ASA S. L., 2001. *Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma*. Mod. Pathol. 14, 338-342.
- CLAYMAN G. L., EL-BARADIE T. S., 2003. *Medullary thyroid cancer*. Otolaryngol. Clin. North Am. 36, 91-105.
- CVEJIĆ D., SAVIN S., PETROVIĆ I., PAUNOVIĆ I., TATIĆ S., HAVELKA M., 2003. *Galectin-3 expression in medullary thyroid carcinoma in relation to tumor progression*. Arch. Oncol. 11, 71-74.
- DEL HAYO J. (red.), 2001. *Wielki leksykon zdrowia i medycyny*. Grupa Wydawnicza Bertelsmann Media Świat Książki, Warszawa.
- GIMM O., 2001. *Thyroid cancer*. Cancer Lett. 163, 143-156.
- GÓROWSKI T., 1989. *Choroby tarczycy*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa.

- HIRSCH P. F., BARUCH H., 2003. *Is calcitonin an important physiological substance?* *Endocrine* 21, 201-208.
- KHOLOVA I., LUDVIKOVA M., RYSKA A., TOPOLCAN O., PIKNER R., PECEN L., CAP J., HOLUBEC J. R., 2003. *Diagnostic role of markers dipeptidyl peptidase IV and thyroid peroxidase in thyroid tumors.* *Anticancer Res.* 23, 871-876.
- KHOLOVA I., RYSKA A., LUDVIKOVA M., CAP J., PECEN L., 2003. *Dipeptidyl peptidase IV expression in thyroid cytology: retrospective histologically confirmed study.* *Cytopathology* 14, 27-31.
- KILICARSLAN A. B., OGUS M., ARICI C., PESTERELI H. E., CAKIR M., KARPUZOGLU G., 2003. *Clinical importance of vascular endothelial growth factor (VEGF) for papillary thyroid carcinoma.* *APMIS* 111, 439-443.
- KLEIN M., VIGNAUD J. M., HENNEQUIN V., TOUSSAINT, BRESLER L., PLENAT F., LECLERE J., DUPREZ A. WERYHA G., 2001. *Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 656-658.
- LA S., CHO J., KIM J. H., KIM K. R., 2003. *Capillary electrophoretic profiling and pattern recognition analysis of urinary nucleosides from thyroid cancer patients.* *Anal. Chim. Acta* 486, 171-182.
- LIEBICH H. M., MULLER-HAGEDORN S. M., KLAUS F., MEZIANE K., KIM K. R., FRICKENSCHMIDT A., KAMMERER B., 2005. *Chromatographic, capillary electrophoretic and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry analysis of urinary modified nucleosides as tumor markers.* *J. Chromatogr. A* 1071, 271-275.
- LIN J. D., 1999. *Diagnosis of papillary and follicular thyroid cancers.* *Chang Gung Med. J.* 22, 348-361.
- LINDBLOM A., LILJEGREN A., 2000. *Tumor markers in malignancies.* *BMJ* 320, 424-427.
- LIPS C. J. M., HOPPENER J. W. H., THIJSSSEN J. H. H., 2001. *Medullary thyroid carcinoma: role of genetic testing and calcitonin measurement.* *Ann. Clin. Biochem.* 38, 168-179.
- ŁACKA K., 1997. *Choroby tarczycy.* Springer PWN, Warszawa.
- MATESA N., DABELIĆ N., TABAIN I., KUSIĆ Z., 2002. *Fine needle aspiration of the thyroid.* *Acta Clin. Croat.* 41, 123-131.
- MATTHEWS P., JONES C. J., SKINNER J., HAUGHTON M., DE MICCO C., WYNFORD-THOMAS D., 2001. *Telomerase activity and telomere length in thyroid neoplasia: biological and clinical implications.* *J. Pathol.* 194, 183-193.
- MOKHTARI M., SADEGHI M., TALEBI A., 2005. *Monoclonal antibody HBME-1 usefulness in differentiation of benign neoplasm and differentiated thyroid carcinoma.* *Acta Med. Iran.* 43, 85-88.
- MORA J., LERMA E., 2004. *Telomerase activity in thyroid fine needle aspirates.* *Acta Cytol.* 48, 818-824.
- PATEL A., JHIANG S., DOGRA S., TERRELL R., POWERS P. A., FENTON C., DINAUER C. A., TUTTLE R. M., FRANCIS G. L., 2002. *Differentiated thyroid carcinoma that express sodium-iodide symporter have a lower risk of recurrence for children and adolescents.* *Pediatr. Res.* 52, 737-744.
- RINGEL M., 2000. *Molecular diagnostic tests in the diagnosis and management of thyroid carcinoma.* *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 1, 173-181.
- SCHLUMBERGER M., BAUDIN E., 1998. *Serum thyroglobulin determination in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma.* *Eur. J. Endocrinol.* 138, 249-252.
- SHERMAN S. I., 2003. *Thyroid carcinoma.* *Lancet* 361, 501-511.
- SOH E. Y., DUH Q. Y., SOBHI S. A., YOUNG D. M., EPSTEIN H. D., WONG M. G., GARCIA K., MIN Y. D., GROSSMAN R. F., SIPERSTEIN A. E., CLARK O. H., 1997. *Vascular endothelial growth factor expression is higher in differentiated thyroid cancer than in normal or benign thyroid.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 3741-3745.
- STURGEON C., 2002. *Practice guidelines for tumor marker use in the clinic.* *Clin. Chem.* 48, 1151-1159.
- SUZUKI S., FUKUSHIMA T., AMI H., ONOGI H., NAKAMURA I., TAKENOSHITA S., 2002. *New attempt of preoperative differential diagnosis of thyroid neoplasms by telomerase activity measurement.* *Oncol. Rep.* 9, 539-544.
- TRULSSON L. M., VELIN A. K., HERDER A., SODERKVIST P., RUTER A., SMEDS S., 2003. *Telomerase activity in surgical specimens and fine-needle aspiration biopsies from hyperplastic and neoplastic human thyroid tissues.* *Am. J. Surg.* 186, 83-88.
- TUTTLE R. M., FLEISHER M., FRANCIS G. L., ROBBINS R. J., 2002. *Serum vascular endothelial growth factor levels are elevated in metastatic differentiated thyroid cancer but not increased by short-term TSH stimulation.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1737-1742.
- WOYKE S., OLSZEWSKI W., 1982. *Cytodiagnostyka aspiracyjna nowotworów.* Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
- ZGLICZYŃSKI S., 2001. *Choroby tarczycy.* Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław.