

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

DIN CRAIOVA

ȘCOALA DOCTORALA U.M.F. CRAIOVA

REZUMAT

TEZA DE DOCTORAT

***ROLUL TRANZIȚIEI EPITELIO-MEZENCHIMALE
ÎN CARCINOGENEZA TIROIDIANĂ***

Doctorand: Mitroi Cristina Mariana (Calangiu)

Conducător Științific :

PROF.UNIV.DR. SIMIONESCU CRISTIANA EUGENIA

CRAIOVA 2016

INTRODUCERE

Carcinomul tiroidian reprezintă 1% din totalul afecțiunilor maligne, cu o creștere continuă a incidenței în ultimii 30 de ani.

Nodulii tiroidieni sunt o patologie foarte frecventă, maligni fiind aproximativ 5% din totalul lor. Importanța diagnosticului preoperator este foarte mare pentru a evita un număr semnificativ de intervenții chirurgicale inutile. Anamneza examenului clinic, analizele de laborator și metodele imagistice (în special ecografia) nu pot aduce decât informații parțiale. Foarte multe speranțe se pun la ora actuală pe metodele imunohistochemice de analiză a țesutului recoltat, prin puncția biopsie aspirativă cu ac fin, pentru obținerea unui diagnostic preoperator.

Această lucrare își propune evidențierea rolului tranziției epitelio-mezenchimale în carcinogeneza tiroidei și a rolului unor markeri specifici în identificarea carcinoamelor cu risc de progresie și metastazare.

Date actuale privind carcinogeneza

În ultimii ani au fost înregistrate progrese incitante în înțelegerea patogeniei moleculare a cancerului tiroidian și în elucidarea rolului mai multor căi majore de semnalizare și a deranjamentelor moleculare aferente ducând la identificarea de noi markeri moleculari utili în diagnosticul și prognosticul cancerului tiroidian.

Cele mai importante căi de semnalizare implicate în cancerul tiroidian sunt:

➤ Calea RAS/ RAF/ MEK/ ERK= calea MAPK (mitogen-proteinkinaza activată)

➤ Calea PI3K/ AKT/ mTOR – calea lipide kinaza- fosfoinositide 3- kinaza semnale celulare care influențează expresia genelor, care reglează procesele celulare. Genele de codificare ale proteinelor din cascada de semnalizare (RET, RAS, BRAF, PI3K, PTEN, AKT) sunt mutante sau aberant exprimate în cancerul tiroidian derivat din celule foliculare tiroidiene.

Un alt mecanism important în tumorigeneza tiroidiană este inactivarea genelor tumorale supresoare suprimate epigenetic prin hipermetilare (Rb, p16).

Factorii de prognostic folosiți în majoritatea sistemelor de scorificare ale prognosticului (AGES, MACIS, AMES, EORTC, GAMES, IGR, SAG, MTCTCS, UAB și MDA, pTNM) sunt vârsta, sexul, istoricul familial, dimensiunile tumorilor , localizarea și infiltrarea dincolo de capsula tumorală, subtipul tumoral, invazia vasculară și metastazele ganglionare. Sistemul cel mai folosit pentru stadializare este TNM.

Factorii moleculari implicați în tumorigeneza tiroidiană

- Studiul modificărilor oncogene ca posibil mecanism al tumorigenezei tiroidiene a dus la rezultate încă neclare în ceea ce privește posibilitatea folosirii acestora ca markeri.
- Activarea oncogenei RAS ca eveniment precoce în carcinogeneza tiroidiană, mutațiile BRAF ca marker al subtipurilor agresive de cancer tiroidian papilar, mutațiile genei p53 ca evenimente tardive legate de prognosticul nefavorabil, evaluarea genelor NM 23, CD 44V6, EGFR ca markeri ai metastazării sunt câteva dintre mecanismele asupra cărora stadiul studiilor actuale lasă să se întrevadă posibilitatea folosirii lor ca markeri de evoluție a carcinogenezei.

De asemenea galectina 3, oncogenul c-Met, familia de proteine MMP, telomeraza, expresia hTERT, fac obiectul mai multor studii recente.

Scopul și motivația studiului

Prezentul studiu își propune extinderea cunoștințelor asupra carcinogenezei tiroidiene punându-se accent pe studiul mecanismelor prin care acționează diferiți factori implicați în tranziția epitelio- mezenchimală, rolul acestora în progresia tumorală cu scopul identificării celor mai specifici markeri ai prognosticului tumorilor tiroidiene diferențiate invazive și metastazante.

Pentru realizarea acestui scop am urmărit:

- Identificarea și definirea parametrilor clinico-epidemiologici și ecografici caracteristici cancerelor tiroidiene diferențiate.
- Identificarea și definirea parametrilor histopatologici și imunohisto patologici, caracteristici carcinoamelor tiroidiene diferențiate.

Metodele utilizate:

- Analiza parametrilor clinico-epidemiologici
- Analiza histopatologică – aprecierea tipului și subtipului tumoral
- Analiza imunohistochimică – analiza unor markeri în încercarea de a stabili corelații semnificative cu diagnosticul precoce, progresia și prognosticul cancerului tiroidian.

Material și metode

- Materialul studiat – S-au analizat 49 carcinoame tiroidiene diferențiate, selectate într-un interval de 8 ani (2007- 2014) dintre pacienții internați și operați în secțiile de chirurgie ale SCJU- Craiova, și diagnosticate histologic în laborator de Anatomie patologică al SCJU- Craiova.
- Pentru studiul clinico- epidemiologic s-au investigat foile de observație retrospectiv și cele actuale. Pentru studiul imagistic s-au efectuat ecografiile 2B, Doppler. Studiul morfologic a urmărit identificarea parametrilor macro și microscopici ai tumorilor.
- Pentru analiza imunohistochimică au fost selectate 43 de cazuri. Anticorpii utilizați în acest studiu au fost pentru identificarea: CK 19, Vimentina, E- caderină, N- caderină, Twist.

Rezultate

Studiul efectuat a inclus 49 de carcinoame tiroidiene diferențiate, 44 de cazuri carcinoame papilare și 5 cazuri de carcinoame foliculare.

Studiul clinico- epidemiologic a arătat o creștere a incidenței carcinoamelor tiroidiene în ultimii 4 ani luați în studiu . Vârsta pacienților a fost cuprinsă între 22 și 82 de ani cu o incidență maximă în jurul vârstei de 60 de ani. Predominanța netă a sexului feminin la pacienții cu carcinoame tiroidiene a arătat un raport F/M de 8, 8/1.

Factorii de risc analizați au fost:

- expunerea la radiații – iradierea în scop diagnostic a fost identificată la toți pacienții, pe când iradierea în scop terapeutic doar la 7 pacienți. Perioada de timp scursă de la iradiere până la identificarea tumorii a variat între 11-15 ani.
- Antecedente personale sau heredocolaterale de boală tiroidiană au indicat prezența acestora în 30,6% dintre cazuri (15).

TABEL 1. PARAMETRII CLINICO-EPIDEMIOLOGICI ÎN FUNCȚIE DE TIPUL CARCINOAMELOR

PARAMETRI		CARCINOAME PAPILARE		CC. FOLICULARE	
		Nr. cazuri	Procente%	Nr. cazuri	Procente%
vârsta	< 45	16	32,7	1	2
	≥ 45	28	57,1	4	8,2
sexul	feminin	39	79,6	5	10,2
	masculin	5	10,2	0	0
iradierea terapeutică		7	14,3	0	0
adenom tiroidian	personal	3	6,2	0	0
	familial	1	2	0	0
cancer tiroidian familial		1	2	0	0
gușă endemică		3	6,2	0	0

Studiul imagistic al carcinoamelor tiroidiene diferențiate . Tumorile tiroidiene au fost hipoecogene 89,8% , solide în 71,5% dintre cazuri, 2% chistice, 26,5% cu structură mixtă. Calcificări fine au fost prezente în 65,3% din tumori. Vascularizația mixtă a fost prezentă în 31 de cazuri, centrală în 10 și doar periferică în 8 cazuri. 59,2% au avut 2,1-4 cm diametru maxim în momentul descoperirii. Adenopatia metastatică a fost prezentă în 20,4% din cazuri (10).

Studiul morfologic – studiul macroscopic a confirmat rezultatele ecografiei.

Studiul patenurilor histologice ale carcinoamelor tiroidiene diferențiate a dus la identificarea a 44 carcinoame papilare (89,8%) și doar 5 carcinoame foliculare.

TABEL 2. DISTRIBUȚIA CARCINOAMELOR PAPILARE ÎN FUNCȚIE DE SUBTIPUL TUMORAL

TIP HISTOPATOLOGIC	NR CAZURI	PROCENTE%
convențional	23	52,3
folicular	13	29,5
microcarcinom papilar	4	9,1
cu celule înalte	3	6,8
oxifilic	1	2,3

TABEL 3. VARIANTE HISTOLOGICE ALE CARCINOAMELOR FOLICULARE

VARIANTA	CONVENȚIONALĂ	ONCOCITICĂ	CU CELULE CLARE
nr cazuri	3	1	1
procente%	60	20	20

Studiul parametrilor histopatologici de agresivitate al carcinoamelor foliculare

TABEL 4. VARIETĂȚI DE CARCINOAME FOLICULARE ÎN FUNCȚIE DE ASPECTUL INVAZIEI CAPSULARE

SUBTIP TUMORAL	CF CU INVAZIE CAPSULARĂ MICROSCOPICĂ	CF CU INVAZIE CAPSULARĂ MACROSCOPICĂ	CF CU ANGIOINVAZIE
nr. cazuri	2	1	4
procente%	40	20	80

Stadializarea TNM a carcinoamelor tiroidiene

TABEL 5. STADIALIZAREA TNM A CARCINOAMELOR TIROIDIENE DIFERENȚIATE

STADIU	TNM	NR. CAZURI	PROCENTE%
sub 45 de ani			
I	orice T orice N	16	32,6
peste 45 de ani			
I	T1 N0 M0	4	8,2
II	T2 N0 M0	18	36,7
III	T3 N0 M0	2	4,1
	T1 N1a M0	2	4,1
	T2 N1a M0	2	4,1
	T3 N1a M0	2	4,1
IVA	T4a N1 M0	3	6,1

Studiul imunohistochimic al carcinoamelor tiroidiene diferențiate

S-au analizat un număr de 43 de carcinoame tiroidiene. Pentru toate cazurile luate în studiu am urmărit expresia comparativă a unor markeri: CK 19, Vimentină, E-caderină, N-caderină și Twist, precum și corelațiile cu factorii clinico-patologici studiați.

Pentru **CK19**, în cazul carcinoamelor papilare reacția a fost intensă cu un procent marcat de 79,8%, în comparație cu carcinoamele foliculare care au prezentat o reacție cu intensitate moderată și un număr de celule marcate de 10%, aceste diferențe fiind semnificative statistic. Pentru **vimentină**, analiza expresiei acesteia din punct de vedere procentual și al intensității marcajului pentru cele două tipuri, a dat rezultate semnificativ diferite pentru cele două mari clase de carcinoame tiroidiene: în carcinoamele papilare primitive și metastatice a fost identificată în 48,8% subnuclear bazal, iar în cele foliculare a fost identificată citoplasmic difuz în 75% din cazuri. Variații semnificative ale pozitivității vimentinei s-au înregistrat și în subgrupurile din cadrul celor două mari paternuri ale carcinomului tiroidian. Imunoexpresia **E-caderinei** a fost identificată la nivel membranal și citoplasmic în 84,6% din carcinoamele papilare și numai cu localizare membranală în toate carcinoamele foliculare analizate.

De asemenea valorile imunoexpresiei E-caderinei au variat semnificativ în funcție de gradul tumorii, fiind semnificativ mai mari în stadiile T1-T2 decât în T3-T4.

Imunoexpresia **N-caderinei** a fost identificată atât la nivel membranar cât și citoplasmatic în 76,9% din carcinoamele papilare și numai cu localizare membranară în toate cazurile de carcinoame foliculare analizate.

Metastazele au avut aceeași reacție ca și tumora primitivă. S-au identificat diferențe semnificative ale imunocolorării N-caderinei în funcție de dimensiunea și extensia tumorii (categoria T), înregistrându-se valori mai mari în stadiile avansate și cu metastaze ganglionare.

Imunoexpresia **TWIST** (factor de transcripție nuclear) a fost evidențiată în 79,5% din carcinoamele papilare și în toate carcinoamele foliculare analizate, fără diferențe semnificative de marcaj. Metastazele corespunzătoare tumorilor investigate au fost pozitive la acest marker. S-au constatat diferențe statistic semnificative ale marcajului Twist în funcție de dimensiunea și extensia tumorii.

Discuții

Creșterea incidenței cancerului tiroidian este de obicei interpretată ca o creștere reală a bolii, dar de asemenea, poate reflecta modificarea criteriilor de diagnostic histopatologic sau ca fiind rezultatul investigațiilor diagnostice în creștere (60;61). Pe măsură ce tehnicile de diagnostic pentru carcinomul tiroidian au devenit tot mai sensibile, respectiv ecografia și puncția aspirativă cu ac fin, a fost posibilă și detectarea leziunilor subclinice.

În studiul nostru carcinoamele tiroidiene diferențiate au fost diagnosticate în 49 cazuri, adică 92,4% din totalul tumorilor maligne tiroidiene, într-un interval de 8 ani (2007-2014).

Numarul a crescut de la 4-5 pe an în primii 4 ani, la 8-9 cazuri noi/an în ultimii 4 ani.

Tumorile au afectat în 89,8% din cazuri femei, această rată de 8,8/1 fiind mai mare decât în studiile făcute în America și Europa, dar mai mică decât cifrele publicate pentru Japonia 13:1 (147).

Analiza distribuției pe grupe de vârstă a celor 49 de cazuri studiate a arătat un trend crescător începând din decada a 3-a de viață cu un maxim la 60 de ani; date asemănătoare cu cele din literatură.

Iradierea în scop diagnostic în antecedente, studiată ca factor de risc, a fost prezentă în toate cazurile în studiul nostru, confirmând datele din literatură conform cărora (324,291,315) iradierea externă a gâtului în perioada copilăriei crește riscul de carcinom papilar tiroidian. Cel mai adesea primul semn al cancerului tiroidian este un nodul (139). În cazul studiului nostru majoritatea pacienților au fost asimptomatici, motivul prezentării fiind o masă tiroidiană sau un nodul palpabil sau resimțit în zona gâtului.

Ecografia reprezintă metoda imagistică ideală pentru detectarea și evaluarea unui nodul tiroidian, permițând: detectarea, caracterizarea nodulului și eventualelor metastaze și urmărirea evoluției după tratament chirurgical. Este folosită ca ghidaj pentru puncția biopsie cu ac fin. Criteriile pentru malignitate sunt: hipoecogenicitatea, raportul înălțime/lărgime >1, structura neomogenă, prezența calcificărilor, contur imprecis/neregulat. În modul Doppler hipervascularizația mixtă (centrală și periferică) constituie un criteriu de malignitate.

În studiul nostru 89,8% dintre carcinoamele tiroidiene au fost hipoecogene, 59,18% au fost cu diametrul între 2,1-4cm și 18% cu diametrul maxim > 4cm, 94,75% au fost solide, 26,5% cu structură mixtă, 34 din cazuri (69,4%) au reprezentat calcificări, din care 32 punctiforme (65,3%) – datele încadrându-se în valorile statistice din literatură (383).

În studiul nostru toate tumorile au avut contururi imprecise.

În ceea ce privește vascularizația în 63,2% (31 de cazuri) a fost mixtă (centrală și periferică).

În mai multe studii s-a tras concluzia că prezența vascularizației centrale sprijină diagnosticul

de malignitate (11;39) Bakhshae și colaboratorii (14) găsesc că 90% din nodulii cu vascularizație mixtă sunt maligni.

În studiul nostru adenopatia metastatică a fost prezentă în 10 cazuri (20,4%), care au prezentat microcalcificări în 8 cazuri și aspecte chistice asociate sau nu cu microcalcificări în 3 cazuri. Există autori (192) care considera ca toate adenopatiile cu microcalcificari sau cu un aspect chistic ar trebui sa fie considerate ca fiind maligne. Vascularizatia periferica a acestor ganglioni asociata sau nu cu vascularizatia hilara constituie de asemenea un criteriu de malignitate. În studiul histopatologic efectuat au fost analizate 49 carcinoame tiroidiene diferențiate, dintre care 44 (89,8%) au fost carcinoame papilare și doar 5 (10,2%) carcinoame foliculare. În literatura carcinomul papilar tiroidian reprezintă tipul cel mai comun de cancer tiroidian (70-80% din toate cazurile de cancer tiroidian) (184). Studii similare au raportat 88% cancer papilar, 9% cancer folicular și 3% carcinoame slab diferențiate.

Subtipul de carcinom papilar variantă convențională a reprezentat 56,8% din toate cancerile papilare analizate, în literatură fiind raportat la aproximativ 46% din cancerile papilare tiroidiene.

Caracteristicile microscopice ale carcinoamelor papilare sunt: nuclei mai mari decât ai celulelor noneoplazice ($30-40 \mu\text{m}^2$ la $97-110 \mu\text{m}^2$) (173), neregularități ale conturilor nucleare, prezența incizurilor nucleare și în 50% din cazuri (2) prezența incluziunilor nucleare.

Corpii psamomatosi sunt calcificări distinctive care se găsesc în 40-50% din carcinoamele papilare (109,40). În studiul nostru au fost prezenți în 14 din carcinoamele papilare convenționale analizate. Ei pot fi însă întâlniți și în afecțiuni benigne (83). Alte modificări ca: necroza celulară la vârful papilelor, fibroza de tip sclerotic sau mai rar desmoplazică, metaplazia scuamoasă, un anumit grad de transformare chistică se găsesc cu o frecvență variabilă în cancerul papilar.

În afara formelor convenționale, carcinoamele papilare pot prezenta o mare varietate de paternuri histologice. În studiul efectuat am găsit varianta foliculară în 13 cazuri (29,5%), microcarcinoame papilare în 3 cazuri (6,8%) și cea oxifilă într-un singur caz (2,3%).

Caracteristicile microscopice ale variantei foliculare sunt particularitățile nucleare caracteristice și prezente în întreaga tumoră și/sau dacă există invazie capsulară și/sau a vaselor capsulare (203).

Varianta cu celule înalte se caracterizează prin celule înalte, dispuse „în picioare” ($H/L > 2$) cu citoplasmă intens eozinofilă și patern cu papile bine dezvoltate, alungite (389, 64, 92).

Carcinomul folicular reprezintă 10-17% din tumorile maligne tiroidiene (329; 94). În studiul efectuat am identificat 5 cazuri (10,2%). Paternul de creștere variază de la foliculi mici sau mijlocii ce conțin coloid la cel trabecular sau solid. Diagnosticul cancerului folicular este condiționat de identificarea invaziei capsulare și/sau vasculare (329). Unii autori consideră că invazia capsulară fără invazie vasculară nu justifică diagnosticul de carcinom folicular (144).

Stadializare

Cel mai popular sistem de stadializare a carcinoamelor tiroidiene este UICC/TNM care se bazează în principal pe gradul tumorii și vârsta pacienților.

În studiul celor 49 de carcinoame analizate, 20 de cazuri (40,8%) au corespuns stadiului I, 18 cazuri (36,7%) stadiului II, 8 cazuri (16,4%) stadiului III și 3 cazuri (6,1%) stadiului IV.

Recent în conformitate cu acest sistem a fost definit un consens european care stabilește trei categorii de risc (262):

- Risc scăzut: T1, unifocal (<1cm), N0 M0 fără extensie dincolo de capsula tiroidiană și cu histologie favorabilă (variantele clasice de carcinom papilar sau de carcinom folicular)
- Risc moderat: T1 (>1cm) sau T2N0M0 – sau multifocal T1N0M0
- Risc ridicat: orice T3 și T4 sau orice T cu N1 sau M1.

La pacienții cu carcinom tiroidian diferențiat, prognosticul este în mod clar legat de stadiul bolii. La pacienții cu carcinom în stadiul I, mortalitatea de cauză specifică este de aproximativ 1% la 20 de ani, dar crește la 25-45% la 10 ani pentru pacienții în stadiul III-IV de boală.

Studiul imunohistochimic al carcinoamelor tiroidiene diferențiate

Tranziția epitelio-mezenchimală (EMT) este un proces de dediferențiere care transformă celulele epiteliale într-un fenotip mezenchimal și este implicată în progresia cancerului (343). Este un mecanism prin care celulele epiteliale dobândesc proprietăți mezenchimale mult mai migratoare, jucând un rol important în metastazarea și în recurențele tumorale (158, 380). EMT acționează și prin introducerea unei rezistențe crescute la factorii apoptotici. (212, 357) Fiind considerat un proces fundamental pentru diseminarea tumorii se caută explorarea acestui mecanism în scopul de a găsi metode pentru a inhiba sau chiar de a inversa acest proces și prin urmare de a inhiba metastazele tumorale (343).

În acest sens am urmărit evaluarea expresiei unui panel de markeri care a cuprins cytokeratina 19, vimentina, E- și N- caderina și TWIST.

Cytokeratina 19 (CK 19) – cytokeratină cu moleculă mare, reglarea expresiei ei fiind codificată de alte gene decât cele ce codifică pentru restul cytokeratinelor (336). Este un marker sensibil, dar nespecific al carcinomului papilar tiroidian (318).

În studiul nostru CK19 a indicat pozitivitate în 79% din carcinoamele tiroidiene diferențiate, 84,6% pentru carcinoamele papilare și doar 25% pentru carcinoamele foliculare - date foarte apropiate cu cele publicate în studii similare (318, 186, 48).

Vimentina – am constatat pozitivitatea acesteia în 48,8% din carcinoamele papilare și în 75% din carcinoamele foliculare. Unele studii din literatură raportează expresia constantă a vimentinei în carcinoamele tiroidiene (231). Buley ID și colab. confirmă datele altor studii privind coexpresia cytokeratinelor și vimentinei în cancerurile tiroidiene (37), dar acest comportament este prezent și în structuri normale. Alte studii raportează că distribuția CK19 și a vimentinei în celulele neoplazice pare să fie invers proporțională cu gradul de diferențiere al celulelor tiroidiene neoplazice (122).

Asocierea în acest studiu a unor scoruri superioare ale vimentinei pentru carcinoamele aflate în stadii incipiente, fără extensie tiroidiană și fără metastaze, îl desemnează ca un factor de protecție din punct de vedere al prezenței TEM.

Caderinele sunt molecule de adeziune celulară dependente de Ca (171). S-a stabilit că E-caderina joacă un rol important în progresia tumorală și metastazare, deoarece s-a constatat că pierderea expresiei E-caderinei se corelează cu fenotipul invaziv și nediferențiat (371). Ea pare a avea un rol protector în cancer (26). În acest studiu pozitivitatea pentru E-caderină a fost prezentă în 86% din cazurile analizate, în 84% din carcinoamele papilare și în toate carcinoamele foliculare. Studii similare raportează cifre asemănătoare (294, 326, 240, 28, 159).

De asemenea, în studiul prezent, pierderea completă a expresiei E-caderinei a fost corelată cu prezența tumorii metastatice, așa cum raportează și Brabant (28).

În studiul nostru a existat o relație liniară pozitivă între expresiile vimentinei, E-caderinei și CK-19, ceea ce indică faptul că expresia crescută a acestor 3 markeri se asociază carcinoamelor cu prognostic favorabil, în stadii incipiente, fără extensie extratiroidiană și fără metastaze.

N-caderina este tot un membru al familiei caderinelor, molecule de adeziune celulară Ca-dependente, asociată cu TEM, crucială în progresia cancerului în ceea ce privește atât metastazele cât și rezistența la chimioterapie (375). În studiul nostru N-caderina a fost identificată în 76,9% din carcinoamele papilare și în toate cazurile de carcinoame foliculare. De asemenea, scorurile N-caderinei au fost net superioare în cazul carcinoamelor cu celule înalte, ceea ce desemnează leziuni cu risc pentru TEM.

Procesul de pierdere al expresiei E-caderinei și de creștere a expresiei N-caderinei poartă numele de „comutarea caderinelor” semn distinctiv și important al TEM (347; 160; 246). În studiul efectuat expresia înaltă a N-caderinei a fost asociată carcinoamelor invazive, de dimensiuni mari sau cu extensie extratiroidiană și cu metastaze ganglionare.

TWIST –este un membru al clasei factorilor de transcripție, una din moleculele implicate în reglarea TEM, prin reglarea proteinelor cheie care mențin caracteristicile epiteliale ale celulelor care conferă fenotipul mezenchimal (361).

Se consideră că are potențial oncogen prin promovarea proliferării și inhibarea apoptozei (361).

În studiul nostru am analizat expresia Twist în 35 de carcinoame tiroidiene. Atât pentru variantele papilare cât și foliculare de carcinom tiroidian am constatat imunoreacții variabile, existând cazuri cu expresie TWIST scăzută sau înaltă, fără a exista diferențe semnificative statistic în raport cu subtipul tumoral. Scorurile pentru varianta cu celule înalte de carcinom papilar au fost superioare celor pentru variantele papilare sau conventionale și papilare foliculare. Expresia TWIST scăzută a fost prezentă în 33,3% din carcinoamele papilare, moderată în 30,8%, iar înaltă în 8% din aceste leziuni. În carcinomul folicular, în 50% din cazuri expresia a fost scăzută și în 50% expresia a fost moderată.

În studiul nostru am constatat de asemenea, diferențe ale marcajului TWIST în raport cu stadiul tumoral (stadiul I/ II versus III/ IV) și prezența metastazelor, imunoexpresia proteinei fiind semnificativ superioară în cazul tumorilor invazive în stucturile adiacente și în cazul tumorilor care au prezentat metastaze.

Tandemul TWIST/ N-caderină a prezentat o relație liniară pozitivă în acest studiu fiind specifice carcinoamelor invazive și metastazante.

În acest sens, datele din literatură indică TWIST ca marker de agresivitate tumorală, fiind asociat formelor invazive și metastazante de carcinom, inclusiv la nivelul tiroidei (279, 214, 36)

Concluzii

Studiul efectuat asupra a 49 de carcinoame tiroidiene diferențiate în perioada 2007-2014 a permis următoarele observații:

- Carcinoamele tiroidiene diferențiate au reprezentat 92,4% dintre tumorile maligne cu această localizare.
- Aspectele imagistice cele mai întâlnite la pacienții cu carcinoame tiroidiene diferențiate au fost reprezentate de dimensiuni între 2,1-4 cm (59,2%), hipoecogene (89,8%), cu structură solidă (71,5%), cu prezență de calcificări(63,3%), absența haloului și limite neregulate în toate cazurile studiate, vascularizație mixtă (63,3%) și adenopatie metastatică (20,4%).
- Examenul macroscopic al tumorilor a confirmat aspectele imagistice, leziunile fiind în majoritatea cazurilor unice (96%).
- Analiza histopatologică a identificat carcinomul papilar în 89,8% din cazuri, respectiv carcinomul folicular în 10,2% din cazuri.
- Analiza parametrilor histopatologici de agresivitate, respectiv necroza, atipiile nucleare și mitozelor au fost prezente în toate cazurile de carcinom papilar cu celule înalte dar și în 21,7% , respectiv 8,7% și 13% dintre carcinoamele papilare convenționale.
- Invazia vasculară a fost observată în 17,4% din carcinoamele papilare convenționale, precum și în variantele oxifilă și cu celule înalte.
- Invazia capsulară a fost prezentă în 26,1% din carcinoamele papilare convenționale, 38,4% din carcinoamele papilare foliculare, precum și în variantele oxifilă și cu celule înalte.

- Extensia extratiroidiană a fost observată în 13% din carcinoamele papilare convenționale, 23,1% din cele papilare foliculare, precum și în variantele oxifilă și cu celule înalte.
- Metastazele ganglionare au fost prezente în 20,4% din carcinoamele papilare analizate, cazurile aparținând variantelor convenționale, foliculare și cu celule înalte.
- Carcinoamele foliculare au fost încapsulate, cu invazie capsulară microscopică în 40% din cazuri, invazie capsulară macroscopică în 20% din cazuri, angioinvazia fiind identificată în 80% din cazuri.
- Stadializarea pTNM a indicat predominanța carcinoamelor aflate în stadiul I și II, respectiv 40,8% și 36,7% din cazuri, comparativ cu leziunile aflate în stadiile III și IV, respectiv 16,4% și 6,1% din cazuri.
- Analiza imunohistochimică a indicat pozitivitatea CK19 în 79% din cazurile analizate, scorurile înalte fiind asociate statistic cu carcinoamele papilare respectiv cu variantele convenționale și foliculare ale acestora.
- Imunoreacția Vimentinei a fost observată în 55,8% din cazurile investigate, scorurile medii ale marcajelor fiind semnificativ superioare în carcinoamele foliculare, comparativ cu cele papilare, precum și în variantele convenționale și foliculare ale carcinomului papilar, comparativ cu varianta cu celule înalte.
- Marcajele Vimentinei au fost superioare în cazul tumorilor cu dimensiuni mici sau localizate tiroidian (T1/T2). Cu toate că reacția a fost superioară în cazul carcinoamelor aflate în stadii incipiente și fără metastaze ganglionare, aspectul a fost ne semnificativ statistic.
- E-caderina a fost identificată în 86% din cazuri, fără diferențe semnificative ale scorurilor medii pentru carcinoamele papilare și foliculare.
- Marcajele E-caderinei au fost superioare în cazul tumorilor cu dimensiuni mici sau localizate tiroidian (T1/T2) comparativ cu cele mari și cu extensie extratiroidiană (T3/T4), iar la nivelul metastazelor ganglionare analizate reacția a fost negativă.
- În acest studiu a existat o relație liniară pozitivă între expresia vimentinei și E-caderinei, precum și între E-caderina și CK19, ceea ce indică faptul că diminuarea marcajului celor trei proteine se asociază carcinoamele aflate în stadii avansate și cu extensie extratiroidiană (T3/T4) și metastaze ganglionare, aspecte specifice pentru fenomenul de tranziție epitelio-mezenchimală.
- Marcajele imunohistochimice ale N-caderinei au fost identificate în 79% din cazuri și au fost semnificativ superioare în carcinoamele foliculare, în variantele cu celule înalte ale carcinoamelor papilare, în leziunile cu dimensiuni crescute sau extensie avansată, respectiv în carcinoamele aflate în stadii avansate și cu metastaze ganglionare.
- „switch-ul” caderinic specific tranziției epitelio-mezenchimale a fost evidențiat prin corelația liniară negativă existentă între E-caderină și N-caderină.
- Imunoexpresia TWIST a fost observată în 81,4% din carcinoame, marcajele fiind semnificativ superioare în tumorile crescute și extensie avansată, respectiv în carcinoamele aflate în stadii avansate și cu metastaze ganglionare. Valorile TWIST au prezentat o relație liniară pozitivă în raport cu cele ale N-caderinei, ceea ce pledează pentru utilizarea acestor markeri în vederea identificării carcinoamelor tiroidiene bine diferențiate cu potențial de progresie.
- În acest studiu, investigarea tranziției epitelio-mezenchimale în carcinoamele tiroidiene diferențiate susține utilizarea markerilor protectivi (CK19, Vimentina, E-caderină) și a celor de agresivitate (N-caderină și TWIST) pentru stratificarea riscului și poate furniza ținte terapeutice pentru viitoarele cercetări în domeniu.