

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
КРАГУЈЕВАЦ**

**Др Зорка Инић**

**ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО ПРОУЧАВАЊЕ НЕОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И  
ПРОЛИФЕРАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ТУМОРА ПАРАТИРОИДНЕ ЖЛЕЗДЕ**

**Докторска дисертација**

**Ментор**

**Проф. др Иван Пауновић**

**Београд, 2015.**

## Садржај:

|   |    |
|---|----|
| 1. УВОД .....   | 4  |
| 1.а. Клиничка презентација .....                                  | 4  |
| 1.1 Откриће паратироидних жлезда .....                            | 9  |
| 1.2 Ембриологија и анатомија паратироидних жлезда .....           | 13 |
| 1.2.а.Ембриологија паратироидних жлезда .....                     | 13 |
| 1.2.б. Анатомија.....   | 13 |
| 1.2.в. Прекобројне паратироидне жлезде.....                       | 16 |
| 1.2.г. Разлози за неуспех: хронични или рекурентни НРТН .....     | 16 |
| 1.3. Примарни хиперпаратироидизам.....                            | 19 |
| 1.3.а. Диференцијална дијагноза хиперкалцемије.....               | 19 |
| 1.3.б.Дијагностичка евалуација .....                              | 21 |
| 1.3.в. Недостаци процене код пацијената с повишеним РТН.....      | 24 |
| 1.3.г. Снимање паратироиде.....                                   | 24 |
| 1.3.д. Третман пацијената који нису предвиђени за операцију ..... | 27 |
| 1.4. Карцином паратироидне жлезде .....                           | 29 |
| 1.4.а.Увод .....  | 29 |
| 1.4.б. Распрострањеност.....                                      | 29 |
| 1.4.в.Етиологија и молекуларна патогенеза .....                   | 30 |
| 1.4.г. Клиничка презентација .....                                | 32 |
| 1.4.д. Преоперативна испитивања .....                             | 33 |
| 1.4.ђ. Хируршки третман .....                                     | 35 |
| 1.4.е. Помоћна терапија .....                                     | 36 |
| 1.4.ж. Патологија .....   | 37 |
| 1.4.з. Макроскопске и микроскопске карактеристике .....           | 37 |
| 1.4.и. Електронска микроскопија.....                              | 38 |
| 1.4.ј. Проточно цитометријска DNK анализа.....                    | 38 |
| 1.4.к. Имунохистохемија.....                                      | 39 |
| 1.4.л. Историја и прогноза .....                                  | 40 |
| 1.4.љ. Палијативне терапије.....                                  | 40 |
| 1.5. Ангиогенеза .....  | 49 |
| 2. ЦИЉЕВИ РАДА .....  | 56 |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ..... | 57 |
| 4. РЕЗУЛТАТИ.....          | 64 |
| 5. ДИСКУСИЈА.....          | 88 |
| 6. ЗАКЉУЧЦИ.....           | 97 |
| 7. ПРИЛОЗИ .....           | 98 |

## 1. УВОД

Примарни хиперпаратироидизам најраспрострањенији је облик хиперпаратироидизма (НРТН) и најчешће објашњење за хиперкалцемију код пацијената ван медицинске установе (1). Процене откривају да је укупна појава приближно 25 на 100.000 људи, при чему се сваке године региструје 50.000 нових случајева. Најчешће се јавља у петој и шестој деценији живота, где је однос између жена и мушкараца 3:1. Неке студије процењују да је укупна распрострањеност НРТН код старијих особа 2–3%, са отприлике 200 случајева на 100.000 становника (2).

Паратироидектомија с билатералном експлорацијом врата је већ деценијама најчешћи избор третмана у случају примарног НРТН. С појавом нових преоперативних и интраоперативних модалитета локализације паратироиде, прихваћен је концепт „фокусиране“ или минимално инвазивне паратироидектомије. И поред тога, разумевање традиционалног хируршког третмана и даље је од виталног значаја за успешно лечење примарног НРТН. Ова операција коју врши искусни ендокрини хирург и даље је златни стандард с којим се пореде све остале процедуре.

### 1.а. Клиничка презентација

Примарни НРТН обично је код 80–85% пацијената проузрокован бенигим и солитарним паратироидним аденомом (Слика 1); код 5% пацијената постоје два потпуно различита адемона („двоструки аденом“), док 15–10% пацијената има мултиглан-дурларну паратироидну хиперплазију (Слика 2). Код млађих пацијената примарни НРТН много је чешће повезан са фамилијалним синдромима, као што је мултипла ендокрина неоплазија (MEN) типа 1 и 2А. Код пацијената са MEN1 обично су све паратироидне жлезде увећане и имају повећану функцију, док пацијенти са MEN2А могу да имају и асиметрично увећање паратироидне жлезде (3). Редак хиперпаратироидизам синдром тумора вилице такође је аутозомно доминантно наследно обољење које се подудара с раним примарним НРТН и фиброосеалном цистичном неоплазмом вилице (4).

Паратироидни карцином је ретко узрок примарног НРТН и то мање од 1% свих случајева. За разлику од бенигног НРТН, он се јавља подједнако често код жена и код мушкараца. Пацијенти најчешће добијају паратироидни карцином у петој и шестој деценији живота. Хронични нелечени примарни НРТН ретко ће прерасти у паратироидни карцином (5). Уопштено говорећи, паратироидни канцер најчешће је индолентан, па хируршки захват може да буде успешан у раном стадијуму болести. Уобичајено је локално враћање болести, па су често неопходне вишеструке ресекције. Пацијенти с рекурентном и метастатском болешћу обично пате од јаке и исцрпљујуће хиперкалцемије, коју је некад тешко контролисати чак и помоћу палијативне хируршке ресекције и лекова, укључујући бифосфонате и калцимитетике који снижавају ниво серума калцијума (6).



**Слика 1** – Паратироидни аденом

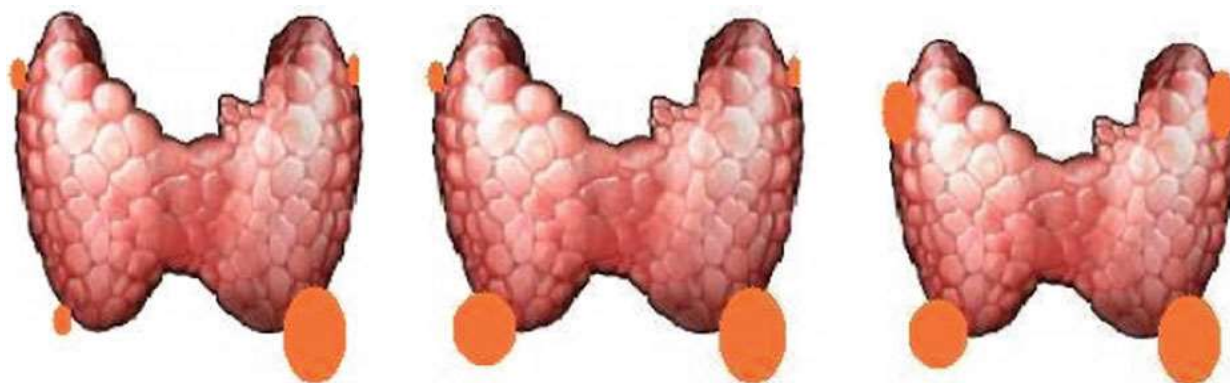
Већина пацијената у развијеним индустријским земљама код којих је дијагностикован примарни НРТН често има минималну симптоматичну или „асимптоматичну“ хиперкалцемију. Они некад показују благе симптоме и физиолошке поремећаје. У најраспрострањеније знаке спадају нефролитијаза, нефрокалциноза, остеопенија и остеопороза (7) (Слика 3).

Хипертензија се често јавља код пацијената с примарним НРТН и овај однос објашњава се на основу читавог низа разних механизма. Изгледа да је у најчвршћој вези са степеном реналног оштећења код пацијената с хиперкалцемијом. Међутим, једна студија открила је да је паратироидектомија довела до значајног пада како у систолном, тако и у дијастолном притиску код 54% пацијената с хипертензијом који наизглед није био повезан с побољшањем реналне функције (8). Ипак, већина ендокринолога не верује да је излечење примарног НРТН путем операције повезано са значајним побољшањем хипертензије.

(а) 80–85%,

(б) 5%,

(в) 10–15%



**Слика 2** – Увећање паратиroidне жлезде код примарног хиперпаратироидизма  
(а) појединачни аденом, (б) двоструки аденом, (в) мултигландуларна хиперплазија.  
(а) 80–85%, (б) 5%, (в) 10–15%

Блаже абнормалности повезане с примарним НРТН обухватају смањену когнитивну функцију, депресију, летаргију, мијалгију, артралгију, констипацију, као и повећану жеђ и учестало мокрење (9). *Petersen* је обавио психијатријске прегледе 54 пацијента с примарним НРТН и утврдио менталне поремећаје код више од 50% пацијената (10, 11). У истраживању с великим бројем испитаника (преко 4.000) *Schram* и сарадници открили су да је ниво калцијума у горњој граници нормале или знатно увећан био повезан с бржим опадањем когнитивне функције, нарочито код пацијената старијих од 75 година (12). Пацијенти с овим симптомима сматрани су „минимално симптоматичнима“ или „асимптоматичнима“.

Примарни хиперпаратироидизам (РНРТН) често се дијагностикује случајно као асимптоматична болест када се на основу лабораторијског теста утврди хипер-калцемија и повишен ниво РТН. Међутим, ако се узме пацијентова детаљнија историја, често се могу приметити неспецифични симптоми као што су премор и раздраженост. Код већине пацијената који имају НРТН смањена је густина кортикалне кости, нарочито ако се мери у дисталном радијусу.

Примарни хиперпаратироидизам (РНРТН) једно је од најчешћих метаболичких стања која захтевају хируршку интервенцију. Данас се хируршка терапија препоручује код свих симптоматичних пацијената са НРТН. Осим тога, мора се нагласити да резултати неколико студија указују на то да операција накнадно побољшава густину кортикалне кости и квалитет живота код пацијената чак и код оних с благим НРТН (1). Што се тиче операције, минимална инвазивна паратиреидектомија представља терапију за коју се опредељује већина пацијената.



**Слика 3** –Болесница оболела од РНРТН. Упоредни снимак шака: на приказаним костима виде се дегенеративне промене израженије лево, које би могле бити последица НРТН

Хируршка *en bloc* ресекција и даље је одабрани третман који једини гарантује излечење. Увођење терапије зрачења екстерним зрацима може да обезбеди бољу локорегионалну контролу код појединих пацијената. Најновија открића побољшала су наше познавање молекуларне патогенезе ове болести. Изгледа да ген *HRPT2* има важну улогу у развоју карцинома и обезбеђује генетски маркер код пацијената који су изложени ризику. За разлику од других малигнитета, карцином паратириоиде ретко изазива смрт услед ширења тумора. Уместо тога, смрт обично наступа као резултат компликација услед прекомерног лучења РТН. Стога су палијативне терапије усмерене на смањење хиперкалцемије, а лучење РТН доказано користи пацијентима који болују од ове болести.

Због ретке појаве болести, дијагноза и лечење карцинома паратириоиде захтева мултидисциплинарни приступ у специјализованим здравственим установама.

## Литература:

1. Rodgers SE, Lew JI, Solorzano CC (2008) *Primary hyperparathyroidism. Curr Opin Oncol* 20:52–58.
2. Adami S, Marcocci C, Gatti D (2002) *Epidemiology of primary hyperparathyroidism in Europe. J Bone Miner Res* 17 (Suppl 2):N18–N23.
3. Hindie E, Ugar O, Fuster D, et al (2009) 2009 *EANM parathyroid guidelines. Eur J Nucl Med Mol Imaging* 36:1201–1216.
4. Chen JD, Morrison C, Zhang C, et al (2003) *Hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome. J Intern Med* 253:634–642.
5. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR (1999) *Two hundred eighty-six cases of parathyroid carcinoma treated in the U.S. between 1985–1995: a National Cancer Data Base Report. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. Cancer* 86:538–544.
6. Rodgers SE, Perrier ND (2006) *Parathyroid carcinoma. Curr Opin Oncol* 18:16–22.
7. Hruska KA, Teitelbaum SL (1995) *Renal osteodystrophy. N Engl J Med* 333:166–174.
8. Diamond TW, Botha JR, Wing J, Meyers AM, Kalk WJ (1986) *Parathyroid hypertension: a reversible disorder. Arch Intern Med* 146:1709–1712.
9. Silverberg SJ, Lewiecki EM, Mosekilde L, Peacock M, Rubin MR (2009) *Presentation of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the third international workshop. J Clin Endocrinol Metab* 94:351–365.
10. Patten BM, Bilezikian JP, Mallette LE, et al (1974) *Neuromuscular disease and primary hyperparathyroidism. Ann Intern Med* 80:182–193.
11. Petersen P (1968) *Psychiatric disorders in primary hyperparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab* 28:1491–1495.
12. Schram MT, Trompet S, Kamper AM, et al (2007) *Serum calcium and cognitive function in old age. J Am Geriatr Soc* 55:1786–1792.



## 1.1 Откриће паратиroidних жлезда

Мале ствари често пролазе непримећено. Стога се не треба чудити што то важи и за паратиroidне жлезде које је чак и у данашње време понекад тешко иденти-фиковати. Иако је *Thomas Wharton* 1656. детаљно описао штитасту жлезду, парати-roidне жлезде није ни поменуо.

Први поуздан опис паратиroidних жлезда (Слика 4) дао је 1850. лондонски анатом и кустос Природњачког музеја сер *Richard Owen* (1804–1892). Он их је открио сецирајући носорога који је угинуо у лондонском зоолошком врту. Тај рад касније је објављен у часопису *Zoological Proceedings of London* (1). За опсервацију му није одато признање услед недостатка хистолошких доказа. Такво стање ствари потрајало је до 1880, када је студент медицине *Ivar Sandstrom* (Слика 5) описао сићушне жлездане елементе у 50 сецираних људских тела. Он је до детаља описао њихов изглед, положај, величину и доток крви. Његов рад садржи разна питања од далекосежног значаја, као што је откриће да доток крви потиче из доње тироидне артерије и да може бити вишеструк. Немачки издавачки одбили су његов рад „О новој жлезди код човека и неколико животиња“, који је напослетку објављен на шведском језику у „Медицинском журналу Упсале“ (2). Ово је може бити допринело недостатку признања за овог врсног младог човека који је касније извршио самоубиство.



Слика 4 – *Sir Richard Owen* (1804–1892) био је први британски компаративни анатом који је смислио термин *dinosauria*



Слика 5 – *Ivar Sandstrom* (1852–1889)

1891. француски физиолог *Eugene Gley* разјаснио је однос између функције паратироидне жлезде и тетануса (3).

1892. прву аутотрансплантацију паратироиде извео је *Anton von Eiselsberg* (1860–1939), у Бечу. Он је трансплантирао паратироидно ткиво у преперитонеални простор код мачке, што је резултирало у лечењу тетануса и показао нове судове око транспланта. Насупрот томе, до тетануса је дошло након њиховог уклањања (4).

1907. *William Halsted* и *Johns Hopkins* користили су екстракт паратироидног ткива и калцијум-хлорид у лечењу постоперативног тетануса (5). Он је известио о лечењу хипопаратироидизма трансплантацијом паратироидеа. Међутим, проблем са екстрактом паратироидног ткива односе се на продукцију, стабилизацију и различиту биолошку активност (6).

1909. *MacCallum* и *Voeghin* (1879–1960) предложили су да је главни ефекат паратироидног хормона ниво калцијума у плазми, јер је уклањање ових жлезда довело до губитка секреције калцијума, доводећи даље до пада нивоа калцијума у крви и до развоја тетануса (7).

Детаљну анатомију и васкуларизацију паратироидеа описали су *William Halsted* и *Herbert Evans* 1907. године (8).

На Универзитету у Алберту и Едмонтону, у Канади, 1925. *James B. Collip* открио је да веома активни екстракт паратириоидеа враћа ниво калцијума у крви на нормалне вредности код паса којима је урађена паратиридектомија (9).

1925. *Felix Mandl* је лечио пацијента са генерализованом остеоитис фиброзом са екстрактом паратириодног ткива и покушајем трансплантације паратириодне жлезде. Пошто се стање пацијента није поправило, урађена је експлорација врата, и аденоматозна увећана једна паратириоидеа је пронађена и уклоњена. Стање пацијента се стабилно побољшало (10).

То је значајан помак у историји хирургије, јер представља почетак лечења хиперпаратироидизма.

1933. *Langmead* и *Orr* су публиковали рад о удружености реналне инсуфицијенције, промена на костима и хиперплазије паратириодних жлезда (11).

1977. идентификована је DNK секвенца гена од паратириодног хормона (12) и одговарајућа комплементарна DNK је клонирана 1981. (13). Данас, рекомбиновани људски паратириодни хормон доступан је у лечењу хипопаратириодизма.

Хирургија паратириоидеа код примарног хиперпаратироидизма данас има стопу успеха близу 99%, са ризиком од компликација испод 1%, а од смртности практично нема (6).

## Литература:

1. Owen R (1862) *On the anatomy of the indian rhinoceros (Rh. unicornis , L)*. Trans Zool Soc London 4:31–58.
2. Sandström I (1880) *On a new gland in man and several mammals* (in Swedish). Ups Laekarefoeren Foerh 15:441–471.
3. Gley ME (1891) *Sur les fonctions du corps thyroïde*. Cr Soc Biol 43:841–843.
4. Von Eiselberg A (1892) *Über erfolgreiche Einheilung der Katzenschildrüse in die Bauchdecke und Auftreten von Tetanie nach deren Extirpation*. Wien Klin Wochenschr 5; 81–85.
5. Halsted WS. *Hypoparathyreosis, status parathyreoprivus, and the transplantation of the parathyroid glands*. Am J Med Sci. 1907;134:1–12.
6. Daniel Oertli, Robert Udelsman. *Surgery of the Thyroid and Parathyroid Glands*. 2012 second edition, ppg 9–10.
7. MacCallum G, Voeghin C, 1909 *On the relation of tetany to the parathyroid glands and to the calcium metabolism*. J Exp Med 11: 118–151.
8. William Halsted, Herbert Evans. *The Parathyroid Glandules. Their Blood Supply, and Their Preservation in Operation Upon the Thyroid Gland*. *Annals of Surgery*: October 1907 – Volume 46 – Issue 4 – ppg 489–506.
9. Collip J.B.: *Extractio of a parathyroid hormone wick will prevent or control parathyroid tetany and wick regulates the level of blood calcium*, J. Biol. Chem. 1925, 63:395–438.
10. Ralph F. Reinfrank. *Primary Hyperparathyroidism with Depression*. *Arch Intern Med*.1961;108(4):606–610.
11. F. S. Langmead and J. W. Orr. *Renal rickets associated with parathyroid hyperplasia*. *Arch Dis Child*. 1933 August; 8(46): 265–278.
12. Baxter JD, Seeburg Ph, Shine J, Martial JA, Goodmann HM. *DNA sequence of a human coding for a polypeptide hormone*. *Clic Res* 1977, 25: 514a.
13. Hendy GN, Kronenberg HM, Potts JT, Jr, Rich A. *Nucleotide sequence of cloned cDNAs encoding human preproparathyroid hormone*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981 Dec; 78(12): 7365–7369.

## 1.2 Ембриологија и анатомија паратироидних жлезда

### 1.2.а.Ембриологија паратироидних жлезда

Успешна операција паратириоидна блиско је повезана с детаљним познавањем ембриолошких односа између паратироидних жлезда, тироиде и тимуса, као и променљиве glandуларне анатомије коју ти односи изазивају (1). Горње паратироидне жлезде (р IV) развијају се из четвртог шкржног шпага с латералним режњевима тироиде, имају кратку линију ембриолошког спуштања и обично мање мењају место код одраслих људи, те се налазе у задњем делу тироидног режња. Доње паратироидне жлезде (р III) иду из трећег шкржног шпага заједно с тимусом, имају дугачку стазу кретања, због чега им локација варира код одраслих људи, од изнад тироиде до уобичајене локације око доњег пола тироиде, у тиреотимичном лигаменту, и још ниже у цервикалном тимусу, или још дубље у медијастинуму. Доње жлезде налазе се испред рекурентног нерва и спуштају се према предњем медијастинуму. Горње жлезде обично се налазе иза рекурентног нерва и померају се према задњем медијастинуму.

### 1.2.б. Анатомија

Ретко која друга болест која се лечи оперативним путем има тако променљиву анатомију и различите хистопатолошке карактеристике као НРТН, па је познавање нормалне анатомије и уобичајене локације ектопичних жлезда неопходно за преоперативну хируршку интервенцију на паратириоидеама (1–6).

#### Горње паратироидне жлезде

Горње паратироидне жлезде обично се налазе на постеролатералној ивици горњег режња тироиде, отприлике 1 cm изнад или око пресека рекурентног нерва и доње тироиде артерије, у нивоу крикоидне хрскавице (Слика 6) (1–7). Ту се жлезда може препознати по својој карактеристичној смеђој боји, између слојева претрахеалне фасције, како окружује тироиду. Пресецање спољашњег слоја фасције обично ће довести до тога да жлезда „искочи“, прићврћена за масно ткиво у овој области. Жлезде исто тако могу да буду сакривене унутар тироидне капсуле на вентралатералној површини тироиде, а повремено и медијално, иза тироиде. Горње паратироидне жлезде некада се крију у расцепима нодуларног тироидног ткива, а само неколико жлезда је у потпуности унутар тироиде, и то као резултат фрагментације приликом ембриолошког спуштања, при чему се паратироидне ћелије групишу у тироиди, где могу да се развију у веће лезије под утицајем генетског фактора, као код пацијената са MEN1. Горње жлезде такође могу да буду и више каудалне, дуж задњих или латералних површина тироиде, често се кријући иза бифуркације аорте или грана доње тироидне артерије, или чак у Беријевом лигаменту. Ектопичне горње жлезде обично се налазе латеро-постериорно у врату, у пара- или ретроезофагеалној регији; веома мали број жлезда налази се каудално у односу на доњу тироидну артерију у трахеоезофагеалном усеку.

Веома мало жлезда лоцирано је изнад тога, дуж горњег тироидног пола, а често су сакривене или компримоване унутар тироидне капсуле. Повремено је неопходно поделити горњу тироидну артерију да би се добро видели задњи аспекти горњег режња тироиде и сама жлезда. Повремено се горње жлезде не спусте (< 1%) и налазе се још горе, изнад горњег тироидног пола, медијално у односу на каротидни канал, прекри-вене

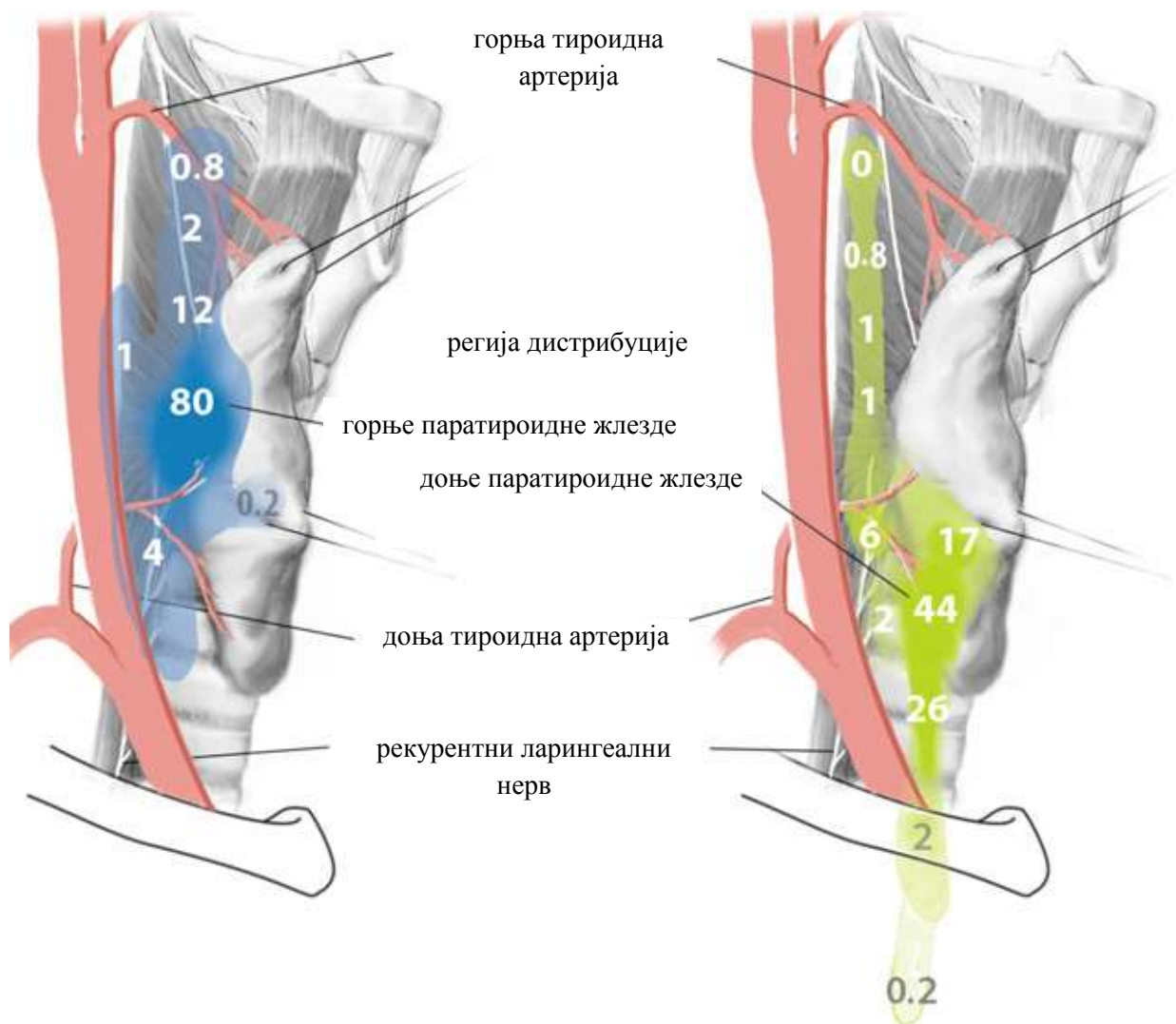
фарингеалним мишићима (1–6). Поједине жлезде су равне и тешко их је видети на фарингеалном или езофагеалном зиду. Постоји свега неколико описаних случајева када су жлезде биле у пириформном синусу или на дну усне дупље.

Чак 30–40% аденома горњих паратироидних жлезда померено је у ектопични паразофагеални, ретрофарингеални или ретроезофагеални положај, за разлику од свега 1–4% нормалних горњих жлезда на том месту (1–7). Горњи аденом паратироидне жлезде може са увећањем бити гурнут приликом гутања и померити се у раван између претрахеалног канала и превертебралне фасције, или се спустити каудално у трахеоезофагеални усек, према горњем задњем медијастинуму (4–6, 8). Жлезде се налазе обично постериорно у односу на рекурентни ларингеални нерв, а што је дуже спуштање то ће бити израженији постериорни положај (4–6, 8). Ове жлезде могу се опипати након инцизије претрахеалне фасције и увлачењем прста у аваскуларну раван иза езофагуса, на самој вертебралној фасцији и испод претрахеалне фасције, испод рекурентног ларингеалног нерва и доње тироидне артерије (1, 4–6). Жлезда се може извући с тог места тракцијом у издуженој васкуларној петелци у којој је артерија која доводи крв. Повремено се жлезде могу наћи и на средњој линији, прекривене густом фасцијом, па их је тада тешко одстранити. Приликом преоперативне локализације такве жлезде могу се веома лако помешати са доњим жлездама, али се оне налазе у задњем медија-стинуму, за разлику од доњих, које се налазе у предњем медијастинуму (видети доле).

### **Доње паратироидне жлезде**

Због дугачке линије ембрионалног спуштања, доње паратироидне жлезде врло често се могу наћи на потпуно различитим местима (1–7). Већина доњих паратироидних жлезда, око 85%, не налазе се на јасно уочљивим местима, око инсертације тиреотимусног лигамента или у њој, или на вентралној, каудалној или постеролатералној површини доњег тироидног пола, или у цервикалном тимусу (1–7). Жлезде на површини тироиде често су пљоснате и опкољене слојевима тироидне капсуле. Повремено су доње паратироидне жлезде потпуно унутар тироиде и налазе се углавном до средине режња тироиде. Уколико су увећане, те жлезде могу се открити палпацијом или још лакше ултразвуком преоперативно или интраоперативно. Ако се налазе дубоко у тироидеи, ове жлезде је најбоље одстранити ресекцијом доњег пола тироиде а не дисекцијом, јер би у том случају могло да дође до руптуре капсуле и имплантације ткива. Доње жлезде некада се налазе и кранијално, на постерлатералној површини тироиде све до пресека нерва односно артерије. Доње жлезде могу да се налазе и према трахеоезофагеалном усеку и тада су углавном испред рекурентног нерва. Да би се идентификовале тимусне паратироидне жлезде, слободном дисекцијом требало би ослободити цервикални тимус латерално, али га не дирати све док се не открије жлезда и малом инцизијом пренесе у тимусну капсулу.

Аденоми на доњим паратироидним жлездама због утицаја гравитације имају сличну тенденцију померања с увећањем у предњи медијастинум (4–7, 9). Као и нормалне доње жлезде, и оне увећане обично се налазе око доњег пола тироиде, у тиреотимичном лигаменту или унутар тимуса. Међутим, готово 20% насталих аденома налазе се у цервикалном тимусу (Слика 7), на којем понекад није урађена дисекција током прве операције, 2% аденома јавља се нешто ниже, дубоко у медијастиналном тимусу. Медијастиналне жлезде могу се наћи и ван тимуса око великих крвних судова који воде из лука аорте (3%), у аортопулмоналном прозору (~1%), а ретко дубље у средњем медијастинуму (4–10).



**Слика 6** – Уобичајено место горњих (а) и доњих (б) паратиroidних жлезда. Бројеви представљају проценат жлезда на различитим локацијама (што је приказано и тамнијом сенком)

Доње жлезде које се нису спустиле ретке су приликом прве операције (> 1%), али су нешто чешће приликом реоперативног низа (до 4%) (5, 7, 10, 11). Оне се јављају и изнад саме тироиде, медијално у односу на бифуркацију каротидне артерије, често заједно са неспуштеним тимичним ткивом, и у том случају тимуса обично нема испод тироиде (1, 6). Доње жлезде такође се некада аберантно спуштају и налазе у васкуларном каналу, често заједно са тимусним ткивом, а трака фиброзног тимуса може указати на тумор у васкуларном каналу („пут од жуте цигле“), који латерално иде из тиреотимусног лигамента (4–6). Тумори васкуларног канала могу се појавити од кључне кости до бифуркације каротиде, а повремено се и горње и доње жлезде могу наћи у каротидном каналу. Доње жлезде ретко се налазе дубоко у езофагеалном зиду или у латералном троуглу врата (5, 12). Повремено се бележе и случајеви жлезда у перикардијуму или у нерву вагусу (5).

## 1.2.в. Прекобројне паратироидне жлезде

Прекобројне паратироидне жлезде откривене су код скоро 15% здравих особа и врло је вероватно да имају значај код пацијената с наследном болешћу, нарочито са MEN1 синдромом (3,7). Прекобројне жлезде обично се јављају као пета жлезда, која се најчешће налази у тимусу, повремено у близини тироиде, између друге две жлезде. Сићушни комади паратироидног ткива или распршене гомиле паратироидних ћелија уобичајена су појава, најчешће у тимусу, а понекад у лобулама масти око нормалне паратироиде (3,7). Такве жлезде могу да се увећају услед хиперплазије и да изазову синхроно или асинхроно појављивање прекобројних жлезда, што говори у прилог рутинској цервикалној тимектомији и одстрањивању масноће око тироиде и визуализованих паратироида код пацијената са MEN1 (као и код секундарног НРТН) (3,7). Приликом аутопсије забележено је чак 12 жлезда које, када су увећане, могу да личе на „низ бисера“ дуж линије ембриолошког спуштања (3,7). Операција паратироиде може да изазове руптуру капсуле и имплантацију паратироидног ткива по целом врату, а то ткиво може да израсте у мале смеђо-жуте чворове и да изазове рекурентни НРТН, стање познато као паратироматоза (7,13). Микроскопске гомиле паратироидних ћелија често се могу наћи у тимусу, чак и без претходне интервенције (јављају се код 20% новорођенчади, али и код одраслих особа) (7).

## 1.2.г. Разлози за неуспех: хронични или рекурентни НРТН

Хронична болест подразумева да се серумски калцијум никада није нормализовао или је достигао абнормалне вредности већ у року од 6 месеци после операције. Код рекурентне болести хиперкалцемија се јавила након више од 6 месеци после операције која је наводно довела до излечења. Хронична болест одговорна је за 80–90% поновних операција, најчешће због неоперисаних аденома, а повремено због мултигландуларне болести која није откривена или адекватно оперисана приликом прве интервенције (видети Разлози неуспешних примарних операција код НРТН) (7, 11, 14, 15). Већина неоткривених жлезда касније се ваде с уобичајених локација, нешто мањи број их је ектопичан, а поновне операције често откривају да су регије где би требало тражити нормалне или ектопичне жлезде биле неадекватно експлорисане углавном због неискуства хирурга.

Непотпуна ексцизија мултилобуларне абнормалне жлезде такође може да изазове хроничну болест. Рекурентна болест најчешће се повезује с мулти-гландуларним обољењем, обично због недовољне визуализације четири жлезде приликом интервенције, услед чега је изостала идентификација и правилна ресекција хиперплазије (7, 11, 14, 15). Рекуренција потиче и од самих жлезда које су биле нормалне приликом прве операције или услед развоја абнормалности код прекобројних жлезда. Рекурентна хиперкалцемија најчешћа је код пацијената са MEN1 синдромом, било у раном стадијуму или много година после примарне операције, а рекурентна болест ће се повећавати сразмерно са повећањем ако је присутан и MEN1 синдром (7, 11). Рекуренција се све више среће и код продуженог праћења фамилијалних случајева, а може да буде изазвана преосталом хипертрофијом код пацијената изложених субтоталној ресекцији или растом и хиперфункцијом аутотрансплантираног паратироидног ткива (7).

Рекуренција је присутна и код пацијената који су претходно оперисани због само једног аденома, упоредо са развојем болести код претходно наизглед нормалних жлезда,



а утврђено је да је то случај неоткривене фамилијалне генетске болести (7, 11). Рекуренција је ретко последица повређивања капсуле тумора током примарне операције, кад долази до расипања и имплантације паратиroidних ћелија (7, 11, 13, 16).



Слика 7 – Аденом доње леве паратиroidне жлезде у горњем рогу тимуса

## Разлози неуспешних примарних операција код НРТН

### 1. Хронични НРТН

- Неоткривени аденоми
- Изостанак идентификације или неадекватна ресекција мултигландуларне болести
- Неоткривена прекобројна жлезда
- Непотпуна ексцизија мултилобуларне жлезде

### 2. Рекурентни НРТН

- Недовољна визуализација четири жлезде, неоткривена хиперплазија или њена неадекватна ресекција
- Раст претходно нормалних жлезда
- Развој абнормалности прекобројних жлезда
- Преостала хипертрофија код пацијената подвргнутих субтоталној ресекцији
- Графт хипертрофије код пацијената подвргнутих тоталној паратиroidектомији и ауто трансплантацији

## Литература:

1. Åkerström G (1994) *Anatomy and strategy of parathyroid operation*. In: Åkerström G (ed) *Current controversy in parathyroid operation and reoperation*. RG Landes Co, Austen, pp 43–59.
2. Wang C (1976) *The anatomic bases of parathyroid surgery*. *Ann Surg* 183:271.
3. Åkerström G, Malmaeus J (1984) *Surgical anatomy of human parathyroid glands*. *Surgery* 95:14–21.
4. Thompson NW (1986) *Surgical anatomy of hyperparathyroidism*. In: Farthmann EH (ed) *Progress in surgery*, vol 18. Karger, Basel.
5. Thompson NW, Gauger PG (2001) *Ectopic location of parathyroid glands*. In: Bilezikian JP, Marcus R, Levine MA (eds) *The parathyroids*, 2nd edn. Academic Press, San Diego.
6. Åkerström G, Stålberg P (2011) *Multiglandular parathyroid disease*. In: Randolph G (ed) *Surgery of the thyroid and parathyroid glands*. Saunders Elsevier, New York, pp 529–548.
7. Åkerström G, Juhlin C (1994) *Reoperation in primary hyperparathyroidism*. In: Åkerström G (ed) *Current controversy in parathyroid operation and reoperation*. RG LandesCo, Austin, pp 131–165.
8. Randolph GW, Urken ML (2011) *Surgical management of primary hyperparathyroidism*. In: Randolph G (ed) *Surgery of the thyroid and parathyroid glands*. Saunders Elsevier, New York, pp 507–528.
9. Callender GC, Grubbs EG, Vu T, et al (2009) *The fallen one: the inferior parathyroid gland that descends into the mediastinum*. *J Am Coll Surg* 208:887–895.
10. Wang CA (1977) *Parathyroid reexploration. A clinical and pathological study of 112 cases*. *Ann Surg* 186:140–145.
11. Hessman O, Stålberg P, Sundin A, et al (2008) *High success rate of parathyroid reoperation may be achieved with improved localization diagnosis*. *World J Surg* 32:774–781; discussion 782–783.
12. Udekwu AO, Kaplan EL, Wu T, et al (1987) *Ectopic adenoma of the lateral triangle of the neck: report of two cases*. *Surgery* 101:114–118.
13. Åkerström G, Rudberg C, Grimelius L, et al (1988) *Recurrent hyperparathyroidism due to preoperative seeding of neoplastic or hyperplastic parathyroid tissue*. *Acta Chir Scand* 154:549–552.
14. Jaskowiak N, Norton IA, Alexander HR, et al (1996) *A prospective trial evaluating a standard approach to reoperation for missed parathyroid adenoma*. *Ann Surg* 224:308–320; discussion 321.
15. Udelsman R, Donovan PI (2006) *Remedial parathyroid surgery, changing trends in 130 consecutive cases*. *Ann Surg* 244:471–479.
16. Callender GC, Grubbs EG, Vu T, et al (2009) *The fallen one: the inferior parathyroid gland that descends into the mediastinum*. *J Am Coll Surg* 208:887–895.

## 1.3. Примарни хиперпаратироидизам

Примарни хиперпаратироидизам (РНРТН) једно је од најчешћих метаболичких стања која захтевају хируршку интервенцију. Најтипичнија презентација РНРТН јесте асимптоматична хиперкалцемија. Појединци код којих је утврђен повишен ниво серумског калцијума можда имају једно од неколико стања, међутим, и други потенцијални узроци морају се пажљиво искључити пре него што се постави дијагноза РНРТН и узме у разматрање оперативни захват. Када је дијагноза РНРТН потврђена, мора се донети одлука у погледу потребе паратироидектомије. Медицинска нега пацијената који чека операцију паратироиде мора узети у обзир њихов метаболизам калцијума у преоперативном периоду, као и превенцију постоперативних компликација. Особе с РНРТН које не морају да буду подвргнуте операцији треба да буду под медицинским надзором и да се прате како би избегле компликације РНРТН.

### 1.3.а. Диференцијална дијагноза хиперкалцемије

Дијагноза развоја хиперкалцемије често је релативно директна. Лекар обично може брзо да препозна њен узрок после добре клиничке процене и увида у неколико одабраних лабораторијских тестова. Мерење концентрације серума паратироидног хормона (РТН) од пресудног је значаја у овој процени, при чему се узроци хиперкалцемије деле на оне који су „изазвани паратироидом“ (када је ниво РТН повећан или непримерено нормалан) (Слика 8, Слика 9) и на оне који „нису изазвани паратироидом“ (када је ниво РТН секундарно потиснут) (видети Диференцијална дијагноза хиперкалцемије). Важно је истаћи да ће паратироидне ћелије које нормално функционишу нагло прекинути ослобађање хормона чим се повећа концентрација калцијума у ванћелијској течности. Стога је у свим случајевима у којима хиперкалцемија потиче од стања које није повезано с абнормалном функцијом паратироидне жлезде, нивои РТН биће потиснути, то јест достићи ће доњу границу обичних вредности у већини тестова или пасти испод те границе. Морају се узети у обзир и остали узроци хиперкалцемије с повећаним РТН, укључујући фамилијалну хипокалциуричну хиперкалцемију (ФНН) и терцијарни хиперпаратироидизам.



**Слика 8** – Аденом параштитасте жлезде



**Слика 9** – Хиперплазија све четири параштитасте жлезде код којих је урађена тотална паратиroidектомија

### 1.3.6. Дијагностичка евалуација

#### Историја и лекарски преглед

Историја код пацијената код којих треба да се утврди примарни НРТ треба да се усредсреди на симптоме хиперкалцемија, као што су премор, слабост, когнитивно погоршање и полиурију, као и оне који би могли да буду специфично повезани са хиперпаратироидизмом (НРТН), на пример бол у костима или губитак коштане масе или камен у уринарном тракту (бол у абдомену, у леђима или боковима, хематурија). Уколико је медицинска историја доступна, такође је од виталног значаја проценти хроничност хиперкалцемије јер се РНРТН обично манифестује као благо, стално и у већини случајева прогресивно повећање серумског калцијума током година. Ако пацијент има повећан ниво серумског калцијума, али још није дијагностикован РНРТН, онда треба потражити доказе других стања повезаних с хиперкалцемијом, укључујући малигнитет и грануломатозне и остале ендокрине болести. Медицинске налазе треба испитати да би се видело постоје ли било који потенцијални агенси, укључујући тиазиде, литијум, суплементе калцијума и витамин D. Такође је важно истражити породичну историју да би се открили поремећаји у метаболизму калцијума као и повезане ендокринопатије, на пример неоплазме хипофизе, надбубрежне жлезде, панкреаса и тироиде, што се може видети код рођака са МЕН синдромима. Историја вишеструког броја чланова породице који имају благу хиперкалцемију, поготово ако не реагују на паратиroidектомију, требало би да укаже на могућу фамилијалну хипокалциуричну хиперкалцемију (ФНН).

#### Диференцијална дијагноза хиперкалцемије:

##### I. Изазвана паратиroidом

- (1) примарни хиперпаратироидизам
  - (а) паратиroidни аденоми
  - (б) паратиroidна хиперплазија
  - (в) паратиroidни карциноми
- (2) терцијарни хиперпаратироидизам
- (3) фамилијална хипокалциурична хиперкалцемија (ФНН)
- (4) терапија литијумом

##### II. Која није изазвана паратиroidом

- (1) хиперкалцемија повезана с малигнитетом
  - (а) хуморална хиперкалцемија малигнитета (РТНгР калцитриол)
  - (б) локална остеолитичка хиперкалцемија
- (2) грануломатозне болести (нпр. саркоидоза, туберкулоза)
- (3) ендокринопатије (нпр. хипертиroidизам, адrenalна инсуфицијенција)
- (4) лекови (тиазиди, суплементе калцијума и витамин D)
- (5) имобилизација
- (6) остало

Лекарски преглед пацијената са РНРТН обично није специфичан. Пажљиво когнитивно тестирање може да открије скривене абнормалности – али то може да буде тешко препознатљиво код већине пацијената. Повремено се код пацијената с веома активном ресорпцијом и стварањем (*turnover*) костију може уочити блага мекоћа изнад

истакнутих коштаних делова, као што је предња страна цеванице. Код пацијената с умереном до јаком хиперкалцемијом могу да се утврде препознатљиви неуролошки налази, као што је мишићна слабост или губитак меморије. Вратна маса је ретко опипљива осим ако није присутан паратироидни карцином. Код пацијената са MEN1 синдромом треба потражити и остале повезане особине, као што је доказ о смањеном видном пољу или клинички доказаном хипопитуитаризмом. Код MEN1 пацијената код којих је тумор хипофизе пролактином, може се утврдити галактореа. Нешто ређе се јављају симптоми Кушинговог синдрома или акромегалије уколико тумор хипофизе лучи АСТН односно хормон раста. Код пацијената са MEN2A синдромом РНРТН може бити праћен медуларним карциномом тироиде и феохромоцитомом. Услед тога, тироидна маса може да се опипа, а пароксизмална или перзистентна хипертензија може да употпуни клиничку слику.

### Лабораторијски тестови

Код пацијената с тек утврђеном хиперкалцемијом најважније је прво искључити лажну хиперкалцемију због повишене концентрације протеина плазме, што се може видети код пацијената с мултиплим мијеломом. Педесет до шездесет одсто укупног циркулишућег калцијума везан је за протеине плазме, углавном албумине. У ситуацијама када су протеини плазме повишени, мора се направити исправка и смањити серумски калцијум за 0,8 mg/dL на сваких 1,0 mg албумина или укупних протеина изнад нормалне границе. У супротном, може се мерити ниво јонизованог калцијума. Затим се мери концентрација РТН серума (утврђена истовремено са серумским калцијумом). На располагању је неколико РТН тестова, укључујући и С-терминални радиоимунотест (RIA) и много популарнији имунохемилуминометријски тест (ICMA) или „биоинтактни“ РТН (1). Док С-терминални тест мери не само РТН него и друге фрагменте молекула који циркулишу у повећаним концентрацијама приликом престанка рада бубрега, РТН ICMA тест има ту предност што мери само нетакнути молекули РТН. Због тога је то погоднији тест код пацијената са серумом креатинина > 2,0 mg/dL. Такође сматрамо да је за лекаре важно да се упознају с квалитетом локално доступних тестова како би се могао направити одговарајући избор.

Ако је ниво РТН висок или неадекватно нормалан, пацијент има примарни хиперпаратироидизам осим ако се не докаже другачије. У том тренутку треба такође измерити серум фосфора, електролите, BUN, креатинин и 24-часовну излучевину калцијума у урину. Тест урина је важан да би се искључила ФНН. Као што је већ поменуто, пацијенти са РНРТН обично имају нормалну или повишену производњу калцијума у мокраћи, док пацијенти са ФНН по правилу имају ниску концентрацију калцијума у урину. Однос између реналног калцијума и клиренса креатинина<sup>1</sup> < 0,01 указује на ову дијагнозу. Такође треба скренути пажњу на то да низак калцијум у мокраћи, па самим тим и низак однос реналног калцијума и клиренса креатинина треба да се провери код појединаца који узимају тиазиде, литијум или инхибиторе протонске пумпе. Осим тога, услови који изазивају лошу апсорпцију калцијума као што је недостатак витамина D или гастроинтестинално обољење такође могу да доведу до хипокалциурије и ниским односом поменутих параметара. Потврда мутације у кодираном гену за рецептор који региструје калцијум може се добити и у специјалним

---

<sup>1</sup>Однос између реналног калцијума (Ca) и клиренса креатинина (Cr) израчунава се из узорка урина узетог на лицу места и узорка серума узетог у исто време помоћу следеће формуле:

$$[\text{Ca у урину} \times \text{серумски Cr}] / [\text{Cr у урину} \times \text{серумски Ca}]$$

истраживачким лабораторијама. Ако се чини да је могућа дијагноза ФНН, није индикована ресекција паратириоиде.

Када се примарни НРТН потврди, симптоматичне пацијенте требало би упутити на локализацију, најбоље путем технецијум 99 m сестамиби скенирањем. Сви симптоматични пацијенти треба да буду поверени искусном хирургу. Код асимптоматичних пацијената треба применити упутства Радионице Националних здравствених института о асимптоматичном примарном хиперпаратироидизмом из 2008 (видети Хируршке индикације код пацијената с примарним хиперпаратироидизмом) (2).

Пацијенте који испуњавају те критеријуме треба упутити и на операцију паратириоиде.

### **Хируршке индикације код пацијената с примарним хиперпаратироидизмом**

1. Значајни коштани, ренални, гастроинтестинални или неуромускуларни симптоми типични за примарни хиперпаратироидизам

*Код иначе асимптоматичних пацијената:*

1. Повишен серумски калцијум за 1 mg/dL или више изнад нормалног нивоа
2. Клиренс креатинина < 0,01 mL/min
3. Значајно смањење испод максималне коштане масе на било ком месту мерења (бок, лумбална кичма, 33% радијус), тј. „Т скор“ – 2,5 или горе од тога на било ком од ових места
4. Старосна граница испод 50 година

Преузето из упутстава Треће међународне радионице о третману асимптоматичног примарног хиперпаратироидизма из 2008, Референца (2)

Зато асимптоматични пацијенти треба да буду подвргнути мерењу густине костију помоћу DEXA и уколико није претходно обављен, 24-часовном калцијуму у урину и процени бубрежне функције. Пацијенти с благом хиперкалцемијом који су потпуно асимптоматични и немају хируршке индикације могу се пратити клинички, при чему интервенције треба вршити само уколико им се стање погорша (нпр. прогресивно повећање серума калцијума, смањење густине костију, погоршана ренална функција итд.). Међутим, већина пацијената обично остаје асимптоматична и могуће је да им неће бити потребна интервенција (3).

Осим тога, треба обратити пажњу и на могућност једног од MEN синдрома, поготово код младих пацијената (до 30 година старости) или оних који имају породичну историју повезане ендокринопатије. Уколико се очекује дијагноза MEN синдрома, у зависности од типа, индиковано је мерење пролактина (или других маркера функције хипофизе на основу клиничке процене), калцитонина и плазме и/или уринарних метаболита катехоламина. Сада је на располагању и DNK дијагностично тестирање за генетске мутације повезане са MEN1 и MEN2A (4). Те информације корисне су после операције јер пацијент са MEN често имају паратиرويدну хиперплазију све четири жлезде, па је неопходна субтотална паратиرويدектомија или тотална цервикална паратиرويدектомија са хетеротопском трансплантацијом парати-роиде. У сваком

случају, уколико се у обзир не узме феохромоцитом (код MEN2A), то би био озбиљан пропуст у преоперативној процени таквог пацијента.

Ако је ниво PTH низак или потпуно немерљив, пацијент по дефиницији има хиперкалцемију која није изазвана PTH (видети Диференцијална дијагноза хиперкалцемије), па ће бити неопходна даља процена ендокринолога.

### **1.3.в. Недостаци процене код пацијената с повишеним PTH**

Изазов на који наилази ендокрини хирург јесте пацијент који је упућен због повишеног PTH и повезаних проблема са циљним органима који нема примарни хиперпаратироидизам и којем неће користити паратироидектомија. Такав пацијент је особа с остеопорозом, кога је лекар опште праксе упутио на утврђивање секундарних узрока обољења костију и код кога је утврђен повишен PTH, иако је серумски калцијум био нормалан. Иако би овај образац повишеног PTH и нормалног серумског калцијума требало да побуди сумњу у секундарни хиперпаратироидизам, присуство остеопорозе може да доведе до закључка да је присутна болест паратироиде. Код пацијената остеопорозом, мерење нивоа 25-хидроксивитамина D могло би да идентификује недостатак витамина D као узрок секундарног хиперпаратироидизма. Отклањање недостатка витамина D довешће до нормализације PTH. Инхибитори протонске пумпе који изазивају лошу апсорпцију калцијума и хипокалцемију (5) још један су чест узрок секундарног хиперпаратироидизма који би могао да се јави овде. Други тип пацијената које срећемо јесте онај с нефролитијазом, за кога се зна да има хиперкалциурију. У оквиру процене утврђује се повишен ниво PTH, али је серумски калцијум нормалан. И овај образац је у складу са секундарним хиперпаратироидизмом, али историја камења у бубрегу може навести лекара опште праксе на закључак да је овде реч о болести паратироиде и да је неопходна операција. Пацијенти с овим обрасцем абнормалности обично имају губитак или тзв. цурење реналног калцијума и компензаторно повећање PTH (6). Корекција губитка реналног калцијума помоћу тиазидног диуректика требало би да доведе до нормализације PTH и смањеног ризика од стварања камена у бубрегу (6).

Описана је и појава нормокалцемичног примарног хиперпаратироидизма. Постоје појединци који имају повишен PTH и нормалан серумски калцијум приликом почетне процене, али је код њих искључен секундарни хиперпаратироидизам. Упркос нормалним вредностима серумског калцијума код ових пацијената, ово није увек бенигна појава, а често се испостави да пацијенти имају и обољење костију и камење у бубрегу. Неки од њих ће касније добити хиперкалцемију (7). Упркос вези која постоји између нормокалцемијског хиперпаратироидизма и компликација циљних органа, стручњаци се тренутно слажу да не постоје адекватни подаци који би говорили у прилог хируршке интервенције код ових пацијената (2).

### **1.3.г. Снимање паратироиде**

Напредак минимално инвазивне паратироидектомије створило је потребу за прецизном преоперативном локализацијом код пацијената са РНРТН. Ово унапређено снимање од виталног је значаја за хирурга који треба директно да допре до оболеле жлезде, па у већини случајева данас није неопходно испитивање врата под општом анестезијом. Треба напоменути да ниједна од ових студија снимања нема за циљ дијагностиковање хиперпаратироидизма. Уместо тога, ова скупа испитивања требало би



отпочети тек када је код пацијента потврђен хиперпаратироидизам и када се он сматра кандидатом за операцију.

Пре почетне операције хиперпаратироидизма, могу се урадити ултразвук врата и паратиroidни сестамиби.

*Паратиroidни сестамиби* користи високу метаболичку активност неопластичног паратиroidног ткива. Пацијенту се убризгава Tc-99 m сестамиби, па се слике добијају одмах и накнадно (Слика 10). Бележи се сензитивност од > 80% иако је сензитивност знатно мања код оних код којих је захваћено више жлезда (8). Због појединачних тироидних нодуса могу да се појаве и лажно позитивни налази.



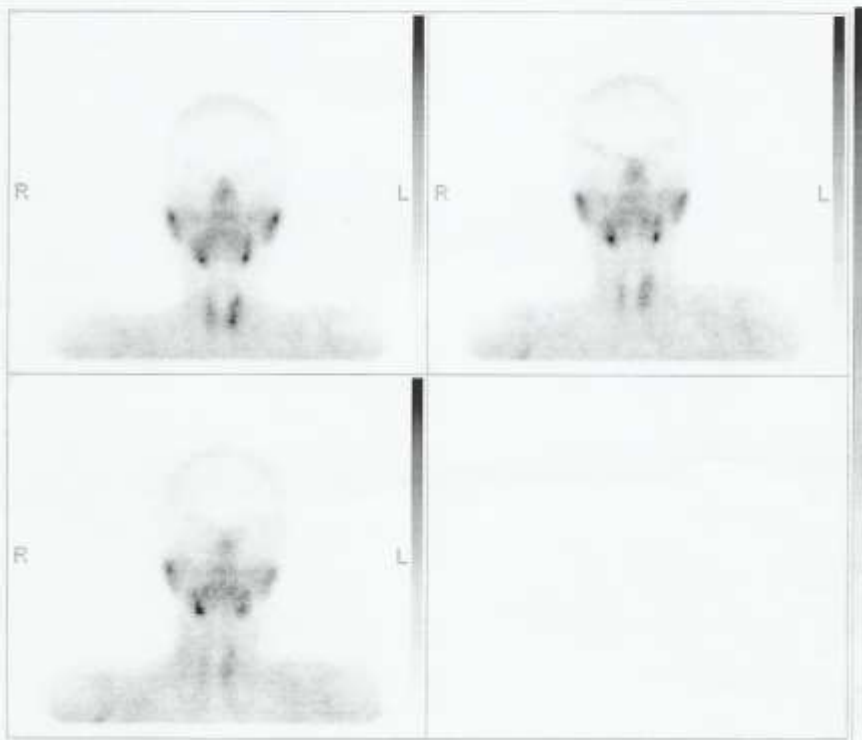
KLINIČKI CENTAR SRBIJE  
INSTITUT ZA NUKLEARNU MEDICINU  
Višegradska 26; 11000 Beograd  
fax: 011 2646988; tel: 011 3617777

PETKOVIC JELENA BP10907070

22100856

PTH290

9/13/2010 9:47:44 AM



#### SCINTIGRAFIJA PARAŠTITASTIH ŽLEZDA

Scintigrafija paraštitastih žlezda je učinjena 20, 60 i 120 minuta posle i.v. aplikacije Tc 99m MIBIa.

Scintigrami su učinjeni u AP projekciji glave i vrata.

Na dobijenim scintigramima se na poznom scintigramu u loži levog režnja tireoidee uočavaju dva nejasno konturisana polja difuzno nehomogene i intenzivnije akumulacije MIBIa.

ZAKLJUČAK: dva polja intenzivnijeg nakupljanja radiofarmaka u loži levog režnja štitaste žlezde.

Kranijalno polje može odgovarati hiperaktivnoj paraštitastoj žlezdi.

**Слика 10** – Сцитиграфија параштитастих жлезда код пацијенткиње оболеле од РНРТ

Ултразвук у рукама искусног радиолога корисна је помоћ паратиroidном сестамибију у локализовању паратиroidних жлезда пре операције. Код пацијената с негативним сестамибијем ултразвук може да идентификује оболелу жлезду (9). Осим тога, може послужити и да се тачно утврди да позитивна област на сестамибију није проузрокована тироидним нодусом. Повремено ће се код пацијента с хиперпаратиroidизмом открити и тироидна неоплазија која такође изискује хируршки захват, па оба стања могу да се реше једном операцијом.

У случају када претходна операција паратиroidе није довела до излечења, локализација оболеле жлезде може представљати већи изазов, а сама операција биће

много тежа због ткива на којима су ожиљци. Код ових пацијената изузетно је важна правилна локализација пре операције. Иницијална локализација укључује паратиroidни сестамиби и ултразвук врата, као што је већ описано. Међутим, у ризичним случајевима може се прибећи и осталим техникама, у које спадају MRI, 4D-CT и селективна венозна локализација с мерењем реалног времена PTH.

Током последње деценије уложен је знатан труд да се унапреди снимање паратиroidне. На располагању стоји неколико приступа, укључујући  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI скинтиграфију у комбинацији са једнофотонском емисионом компјутерском томографијом (SPECT) и/или интегрисаном SPECT/компјутерском томографијом (CT), SPECT/CT, ултразвуком, CT и магнетном резонантном томографијом (MRI). Међутим, пре снимања треба у обзир узети и следеће предуслове:

- снимање паратиroidне примењује се код пацијената код којих постоје биохемијски докази за примарни HPTH и који су кандидати за операцију;
- због варијација у локацији и броју паратиroidних жлезда, област снимања треба да прекрије читаво поље врата и груди. Ово подразумева не само обичну ектопичне локације него и ектопичне позиције (РА).

### **1.3.д. Третман пацијената који нису предвиђени за операцију**

Распрострањена употреба минимално инвазивне паратиroidдектомије учинила је паратиroidну операцију привлачнијом пацијентима, па данас постоји веома мали број особа са HPTH који се одмах не подвргавају хируршком захвату. Упркос томе, после свеобухватне процене, постојаће и одређен број пацијената који неће бити подвргнути паратиroidдектомији. Неки од њих су асимптоматични и немају индикацију за паратиroidдектомију засновану на важећим упутствима (2). Други одбијају операцију или имају неке здравствене проблеме због којих је операција ризична. Код тих пацијената су неопходни дугорочан медицински третман и повремене провере да би се спречиле компликације HPTH и да би се утврдило код којих може да се планира операција у будућности. Студија која већ 15 година прати пацијенте који нису били подвргнути паратиroidдектомији показује да је код једне трећине забележена прогресија болести, а да је већина њих доживела додатни губитак коштане масе (10).

## Литература:

1. Yamashita H, Gao P, Cantor T, et al (2004) *Comparison of parathyroid hormone levels from the intact and whole parathyroid hormone assays after parathyroidectomy for primary and secondary hyperparathyroidism*. *Surgery* 135:149–156.
2. Bilezikian JP, Khan AA, Potts JT Jr, *Third International Workshop on the Management of Asymptomatic Primary Hyperthyroidism* (2009) *Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the third international workshop*. *J Clin Endocrinol Metab* 94:335.
3. Silverberg SJ, Shane E, Jacobs TP, et al (1999) *A 10-year prospective study of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery*. *N Engl J Med* 341:1249.
4. Marx SJ, Simonds WF, Agarwal SK, et al (2002) *Hyperparathyroidism in hereditary syndromes: special 17 (Suppl 2):N37–N43*.
5. Liamis G, Milionis HJ, Elisaf M (2009) *A review of drug induced hypocalcemia*. *J Bone Miner Metab* 27:635.
6. Eisner BH, Ahn J, Stoller ML (2009) *Differentiating primary from secondary hyperparathyroidism in stone patients: the “thiazide challenge”*. *J Endourol* 23:191.
7. Lowe H, McMahon DJ, Rubin MR, et al (2007) *Normocalcemic primary hyperparathyroidism: further characterization of a new clinical phenotype*. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3001.
8. McHenry CR, Lee K, Saadey J, et al (1996) *Parathyroid localization with technetium-99m-sestamibi: a prospective evaluation*. *J Am Coll Surg* 183:25.
9. Elaraj DM, Sippel RS, Lindsay S, et al (2010) *Are additional localization studies and referral indicated for patients with primary hyperparathyroidism who have negative sestamibi scan results?* *Arch Surg* 145:578.
10. Rubin MR, Bilezikian JP, McMahon DJ, et al (2008) *The natural history of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery after 15 years*. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3462.

## 1.4. Карцином паратироидне жлезде

### 1.4.a. Увод

Карцином паратироиде је ретка малигна неоплазма која настаје у паренхималним ћелијама паратироидне жлезде. *De Quevain* је први описао овај малигни тумор 1904 (1). Први описани тумор био је у ствари нефункционални тумор, а с данашње тачке гледишта он чини само један мали проценат карцинома паратироиде. Тек су 1933. године *Sainton* и *Millot* описали случај метастатског карцинома паратироиде који се манифестовао као Реклингхаусова болест, данас позната као хиперпаратироидизам (НРТН) (2). Карцином паратироидне жлезде редак је узрок хиперкалцемије зависне од РТН и чини само 1–2% укупног броја случајева примарног НРТН (3–11). Од *De Quevain*-овог првог чланка у литератури је забележено више од 800 случајева (3–5, 7–9, 12–33). Из тих текстова очигледно је да се карцином паратироиде јавља с много упадљивијим манифестацијама НРТН него паратироидни аденоми и бенигна хиперплазија. Нажалост, хистолошка дијагноза није стопостотна осим ако не постоји доказ о инвазивности тумора. Патолог се приликом дијагнозе сусреће с проблемима због тешког разликовања хиперплазије, аденома и рекурентне болести која следи после неадекватне операције карцинома (15, 33, 34). Најновија открића о молекуларној патогенези карцинома паратироиде помогли су дијагностиковање ове болести. Доказано је да су и фамилијалне и спорадичне форме карцинома паратироиде повезане с мутацијама тумор супресорског гена HRPT2 (35–38). Ова открића указују на то да мутација HRPT2 може бити рани показатељ у патогенези карцинома паратироиде. Боље познавање овог ретког тумора имаће драгоцен утицај на дијагнозу и лечење пацијената у будућности.

### 1.4.б. Распрострањеност

Карцином паратироиде је редак узрок примарног НРТН. Године 1999. Национална база података о канцеру (NCDB) забележила је 286 случајева карцинома паратироиде, што је највећи појединачни низ објављен у периоду од десет година (39). Утврђено је да карцином паратироиде чини 0,005% укупног броја оболелих од канцера у овој бази података. *Beus* и *Stack* дали су преглед свих карцинома паратироиде у литератури од 1904. и утврдили да је било укупно 711 случајева (12). Многи од тих случајева највероватније су пријављени више пута, што додатно говори колико је заиста редак овај јединствени тумор. На основу информација из SEER базе података, процењује се да у САД постоји 4,73 случајева овог тумора на 10 милиона становника, при чему је тај број порастао за 60% у периоду од 1988. до 2003 (31). У највећем броју случајева карцином паратироиде износи мање од 1% пацијената који болују од примарног НРТН (3, 4, 6, 15). Занимљиво је да се овај тумор много чешће јавља код становника италијанског и јапанског порекла, и то у проценту од 5% (5, 40, 41). Овај раскорак највероватније настаје због дијагностичких потешкоћа на које патолог наилази у одсуству инвазивности тумора и метастазе или због апсолутног повећања броја оболелих услед генетских фактора и утицаја животне средине.

#### 1.4.v. Етиологија и молекуларна патогенеза

Етиологија карцинома паратириоиде и даље није у потпуности разјашњена. До недавно су једини знаци били клиничко повезивање са предиспонирајућим факторима као што су зрачење главе и врата, хроничка стимулација услед престанка рада бубрега и фамилијални синдроми. Најновија открића у области молекуларне генетике, међутим, унапредила су наше схватање патогенезе ове болести. Забележено је неколико клиничких слика које могу да предиспонирају развој карцинома паратириоиде. Карцином паратириоиде забележен је код неколико пацијената који су претходно били подвргнути зрачењу главе и врата (5, 20, 42–45). Међутим, три таква пацијента добили су карцином паратириоиде 25, 49 и 53 године након зрачења, а један пацијент имао је и хронично обољење бубрега, што је такође могло да подстакне развој болести. Стога етиолошки значај зрачења главе и врата није сасвим јасан.

Карцином паратириоиде такође је утврђен и код неколико пацијената с хроничним обољењем бубрега (CRF) који су били на хемодијализи. У прегледу литературе *Miki* је открио 12 пацијената са CRF код којих се развио карцином паратириоиде (16). Наводи се тешкоћа у прављењу разлике између клиничког карцинома паратириоиде и прогресивног секундарног НРТН код пацијената са CRF. Ни у једном од пријављених случајева дијагноза карцинома није постављена преоперативно због биохемијских и клиничких сличности између ова два стања. Како се број пацијената на хемодијализи повећава широм света, занимљиво је што је распрострањеност карцинома паратириоиде остала готово на истом нивоу (33, 39). Овоме могуће доприноси и патолошка потешкоћа у разликовању хиперплазије од карцинома. Стога однос између CRF и карцинома паратириоиде тек треба да се дефинише.

Сада се зна да је фамилијални НРТН, који је први пут забележен 1936, потпуно одвојен ентитет од синдрома мултипле ендокрине неоплазије типа 1 (MEN1) (46). Фамилијални НРТН има аутозомно доминантан начин наслеђивања. За овај синдром карактеристични су хиперкалцемија, повишен ниво РТН и изоловани паратиرويدни тумори, али нема доказа о хиперфункцији било ког ендокриног ткива. Иако је мултигландуларна хиперплазија најраспрострањенија, усамљени аденоми забележени су код 25% пацијената (47, 48). Карцином паратириоиде забележен је у пет оболелих породица, на основу чега су аутори закључили да су ти пацијенти изложени већем ризику од овог ретког малигнитета (17, 49). Изгледало је да је тај клинички синдром изолованог фамилијалног НРТН потпуно другачији од другог наследног НРТН синдрома познатог као хиперпаратироидизам синдром тумора вилице (НРТН-ЈТ) (17, 49, 50). Синдром НРТН-ЈТ је редак аутозомно доминантно обољење повезано са окошталим фибромима мандибуле и максиле, бубрежном цистом, бубрежним хамартомима и Вилмсовим туморима (51–55). Учесталост карцинома паратириоиде постоји код отприлике 10% пацијената са синдромом НРТН-ЈТ у поређењу са 1% случајева спорадичног НРТН (17, 35, 49, 50, 56).

У протеклој деценији добијени су докази о улози како тумор супресорског гена тако и онкогена у патогенези паратиرويدних тумора. Ген *HRPT2* који је одговоран за синдром НРТН-ЈТ, повезан је са регијом 1q25-q32 (40). *Carpten* је са сарадницима идентификовао 13 различитих мутација *HRPT2* гена код 14 породица са синдромом НРТН-ЈТ. Њихова истраживања поткрепила су раније уверење да је ово тумор супресорски ген који кодира протеин парафибромин. Улога парафибромина није утврђена. Деактивирајуће герминалне мутације овог гена откривене су код већине

рођака са синдромом HPTH-JT који су имали и карцином паратириоиде. *Shattuck* је истраживао да ли су мутације HRPT2 гена можда одговорне за развој спорадичног карцинома паратириоиде. Десет од 15 случајева канцера паратириоиде показивали су мутације HRPT2 гена, а код свих њих је енкодирани парафибромин протеин био деактивиран (37). Мутација HRPT2 гена која је довела до деактивације парафибромина стога највероватније у великој мери доприноси патогенези карцинома паратириоиде. У прилог овој претпоставци, *Howell* је такође демонстрирао соматске мутације HRPT2 гена код четири карцинома паратириоиде, а герминалне мутације код пет тумора HPTH-JT и још два тумора код рођака са фамилијалним HPTH (36). Ови подаци додатно су доказали улогу HRPT2 мутација у развоју HPTH-JT и подгрупу фамилијалног HPTH. Обе студије подржавају претпоставку да је HRPT2 мутација рани знак који би могао да доведе до развоја карцинома паратириоиде.

Код три пацијента у *Shattuck*-овој студији спорадичног карцинома паратириоиде неочекивано су откривене герминалне мутације (37). То откриће указује да неки спорадични карциноми могу да буду фенотипска варијанта HPTH-JT синдрома. Значајне су клиничке импликације овог открића. Пацијенти, нарочито они млађи, требало би да оду на DNK тестирање како би се утврдило имају ли герминалне мутације HRPT2 гена. У случају да те мутације буду откривене, чланови породице требало би да се тестирају и ако су резултати позитивни, треба да буду под одговарајућим надзором (37, 57).

Додатни докази који потврђују значај улоге коју HRPT2 ген има у патогенези карцинома паратириоиде јесте откриће повећаног губитка хетерозиготности (LOH) у хромозому 1q код спорадичних карцинома. У *Haven*-овој студији која је обухватила 22 случаја карцинома паратириоиде, од којих је 12 (55%) показивало LOH хромозома 1q, док је LOH нађен само код 8% паратириодних аденома (56, 58). Међутим, ово није све јер је код ове групе утврђено и да 50% карцинома паратириоиде праћено губитком хетерозиготности хромозома 11q13, односно локације MENIN гена. Овај ген је одговоран за синдром мултипле ендокрине неоплазије типа 1 (MEN1), аутозомног доминантног поремећаја који се одликује вишеструким паратириодним аденомима, као и туморима хипофизе, неуроендокриним туморима панкреаса, карциноидним и надбубрежним кортикалним туморима. Претходно је забележено да 30% случајева паратириодних аденома показују LOH у хромозому 11q13 (59, 60), па стога указују да MENIN ген можда има улогу у туморигенези. Занимљиво је да је 36% карцинома паратириоиде у *Haven*-овој студији утврђен и LOH у хромозомима 1q и 11q13. Ово откриће указује да деактивација HRPT2 гена можда функционише независно и у комбинацији са деактивацијом MENIN гена у настанку паратириодне карциногенезе (56).

У развоју паратириодних тумора улогу има и PRAD1/cyclinD1 (61–64). PRAD1/cyclinD1 је онкоген који се налази у хромозому 11q13; сматра се да његов протеински производ има значајну улогу у транзицији ћелија из фазе G1 ћелијског циклуса у фазу S (61). PRAD1/cyclinD1 онкопротеин показује претерану експресију код 18–40% паратириодних аденома (56, 61, 63, 64). Претерана експресија овог протеина утврђена је код знатно већег броја карцинома паратириоиде (57–91%) (56, 63). Иако ови подаци истичу значајну улогу тог протеина код карцинома паратириоиде, генетски ефекат активације PRAD1/cyclinD1 у контексту развоја карцинома паратириоиде тек треба да се утврди.

Један могући механизам онкогенске активације PRAD1/cyclinD1 јесте путем активације дејстава инхибиције раста протеинског производа ретинобластома (RB) гена (63). RB је тумор супресорски ген који се повезује са карциномом паратироиде. Неколико научника доказало је LOH на хромозому 13q, у регији за коју се зна да обухвата оба гена, и RB и BRCA2 (66–68). Међутим, *Shattuck* није успео да покаже соматске мутације специфичне за тумор ни код RB ни код BRCA2 код шест карцинома паратироиде код којих је утврђен LOH на хромозому 13q (65). Док се смањена експресија ових гена може приписати патогенези карцинома паратироиде, њихову улогу у туморигенези треба додатно испитати.

#### 1.4.г. Клиничка презентација

Некада је тешко направити разлику између бенигног и малигног НРТН. Често се дијагноза поставља тек годинама касније, када се поново појави хиперкалцемија (15). Испоставило се да сумња на карцином код диференцијалне дијагнозе хиперкалцемије која је узрокована РТН има оптималне резултате, а потпуна ресекција пружа најбоље шансе за опоравак (3, 5, 31, 33, 57, 67, 69, 70). Клинички и лабораторијски налази могу да укажу на карцином паратироиде, међутим, ти налази нису специфични (Табела 1). Ипак, неколико клиничких налаза требало би да скрену пажњу хирурга на могућност ове дијагнозе и да га наведу да правилно планира *en bloc* ресекцију. За разлику од бенигног НРТН који је доминантан код жена у односу на мушкарце (4:1), карцином паратироиде подједнако погађа мушкарце и жене (3, 71). С биохемијског становишта, степен хиперкалцемије израженији је код пацијената с карциномом него код бенигног НРТН. Ниво РТН такође је знатно виши, и то за пет до десет пута у односу на нормалну вредност (3–5, 15). Иако су тако високи нивои РТН забележени код прогресивног секундарног и терцијарног НРТН, примарни НРТН се ретко повезује с таквим упадљивим повећањем.

За разлику од бенигног НРТН, где је већина пацијената „асимптоматична“ и не показује значајне манифестације реналног или коштаног обољења (71, 73), пацијенти са карциномом паратироиде обично показују клиничке манифестације обољења циљних органа (3–5, 71) (Табела 1). Присуство реналних компликација, укључујући нефролитијазу и поремећену гломеруларну филтрацију (GRF) мање је од 20% код бенигног НРТН (73, 74). Насупрот томе, нефролитијаза је откривена код 56%, а ренална инсуфицијенција код 84% пацијената са карциномом паратироиде (4). Изражене радиографске манифестације НРТН, као што је *osteitis fibrosa cystica*, смеђи (мрки) тумори костију, дифузна остеопенија и субпериостална коштана ресорпција, присутне су код 45–91% пацијената с карциномом у односу на 5% пацијената с бенигним НРТН (3, 4, 71, 73, 74) (Слика 11). Додатни клинички показатељ дијагнозе карцинома паратироиде јесте присуство реналног и коштаног обољења код чак 50% пацијената. Данас се код бенигног НРТН ретко срећу пратећи почетак реналног обољења и скелетне манифестације (3, 71). Забележени су ретки случајеви нефункционалног карцинома паратироиде (1, 28, 75, 76). Услед недостатка ендокринопатије, ови тумори обично се јављају касно, заједно са дифузном метастатском болешћу. У *Klink*-овом прегледу, свега 14 (2% свих забележених карцинома паратироиде) били су нефункционални тумори.



|                                     | <b>Бенигни НРТН</b> | <b>Карцином паратириоиде</b> |
|-------------------------------------|---------------------|------------------------------|
| Жене у односу на мушкарце           | 4 према 1           | 1 према 1                    |
| Просечан калцијум(mmol/L)           | 2,7–2,9             | 3,75–4,0                     |
| Просечан РТН ng/ L                  | < 2 x од нормалног  | > 3–10 x од нормалног        |
| Просечна старост                    | шеста деценија      | пета деценија                |
| Опипљива маса (%)                   | < 2                 | 30–76                        |
| <i>Osteitis fibrosa cystica</i> (%) | 5                   | 40–75                        |
| Нефролитијаза (%)                   | 10–15               | 40                           |
| Ренално и коштаном обољење (%)      | ретко               | 40–50                        |
| Асимптоматично (%)                  | 80                  | 2                            |

**Табела 1** – Клиничке и биохемијске особине карцинома паратириоиде у поређењу с бенигним примарним хиперпаратироидизмом

На клиничком прегледу, пацијенти са карциномом паратириоиде можда ће показати конституционалне знакове малигнитета, на пример губитак тежине, упадљив премор, анорексију и атрофију мишића. Изражене су необичне и неспецифичне манифестације НРТН, а за разлику од бенигног НРТН брзо се развијају. Опипљива маса врата постоји код 30–76% са карциномом, док се она код пацијената с бенигним НРТН јавља у мање од 5% случајева (71). Парализа рекурентног ларингеалног нерва (RLN) код пацијента са НРТН код кога претходно није оперисан врат требало би да подстакну сумњу у инвазивну болест. Инвазија у RLN јавља се код 7–13% пацијената с потврђеним канцером паратириоиде. Инвазија у околна ткива забележена је код 34–75% пацијената у време операције. Тироидна жлезда која се налази у близини, изнад инфрахиоидних мишића, као и суседна мека ткива, најчешће су захваћене структуре. Код 11% пацијената захваћена је трахеја, а езофагус и каротидни канал код 2% пацијената (32).

Регионалне нодалне метастазе код карцинома паратириоиде су ретке, а клиничка испитивања бележе их само код 3–8% случајева (31–33). Удаљене метастазе забележене су код 4,5% случајева у SEER бази података и јављале су се у 4–11% мањих група испитаника (31, 32). Двадесет два одсто пацијената у једном низу развило је удаљене метастазе током дугог периода праћења. Плућа, кости и јетра најчешће су погођени органи.

#### **1.4.д. Преоперативна испитивања**

Током последње деценије дошло је до промене у хируршком третману НРТН. Захваљујући бољим модалитетима снимања и развоју интраоперативног праћења РТН, минимално инвазивна операција уз праћење слике постала је стандардна пракса код одабраних пацијената у односу на експлорацију четири жлезде (77). Због тога је важно да хирург и даље користи одговарајућу селекцију пацијената јер би преоперативна сумња у карцином захтевала неминимално инвазиван приступ. Резултат тога је то што када се посумња у карцином приликом клиничке презентације, преоперативно испитивање помоћи ће не само у постављању дијагнозе него и у хируршком планирању.



**Слика 11** – Радиографија фемура који показују литичну лезију кости раније су се сматрале конзистентним са метастатском болешћу. Даље испитивање показало је да пацијент болује од карцинома паратириоиде, а испоставило се да су ове лезије Браунови тумори конзистентни са *osteitis fibrosa cystica*

Ултразвук (U/S) врата може да подстакне сумњу у инвазивну болест. Малигнитет би требало узети у обзир и када ултразвук покаже знакове велике инвазије, упадљиву неправилност тумора или доказе о метастатској нодалној болести (5, 78, 79). У остале неинвазивне технике снимања спадају компјутерска томографија (СТ) и магнетна резонанца (MRI). Оба модалитета могу да покажу докле досеже тумор, колико су захваћене околне структуре и да докаже регионалне и удаљене метастазе. Недавно је позитронска емисиона томографија (PET) примењена у откривању малигнитета паратириоиде (29).

Tc-99m пертехнетат/Tc-99 m сестамиби (MIBI) постао је стандардна преоперативна техника снимања код НРТН. MIBI скенирање помаже у дијагнози карцинома паратириоиде зато што оно не само да локализује примарни тумор чак и када он није функционалан већ исто тако показују и удаљене метастазе (75, 80). Стога је важно направити MIBI скен читавог тела када се поставља дијагноза карцинома паратириоиде јер ће он помоћи да се направи разлика између смеђих (мрких) тумора и метастатске болести костију. Скенови костију такође помажу у преоперативној дијагнози карцинома паратириоиде. Уобичајене особине нуклеарног скена костију састоје се од показатеља повећаног стварања (*turnover*) кости који је конзистентан с метаболичком болешћу костију, а исто тако показују како смеђе (мрке) туморе, тако и местастатичке наслагe (70).

Примена аспирације танком иглом (FNA) код пацијента код кога се сумња у карцином не препоручује се из два разлога. Прво, цитопатолошке карактеристике паратиرويدних тумора (81) могу да личе на фоликуларну или Хуртлову ћелијску неоплазму тироиде, која може да завара хирурга пре операције. Друго, услед повређивања капсуле тумора постоји ризик да ће се паратиرويدне ћелије расејати, што је већ забележено у прошлости (82). Локорегионална контрола је од пресудног значаја у лечењу ове болести, па би сваки ризик од расипања тумора утицао на исход.

#### 1.4.ђ. Хируршки третман

Најефикаснији појединачни третман карцинома паратириоиде јесте потпуна хируршка ресекција примарне и регионалне болести (5, 6, 11, 22, 33, 70, 71, 83). Преоперативна сумња и интраоперативна детекција од пресудног су значаја у лечењу ових пацијената. Када су преоперативне клиничке карактеристике разлог за сумњу у карцином, требало би спровести одговарајућа испитивања која су наведена у претходном тексту, као и планирану *en bloc* ресекцију. Интраоперативни налази који указују на карцином требало би да буде велика, чврста, бела или сива лезија паратириоиде и приањање или инвазија у суседне структуре као што су инфрахиоидни мишићи, тироида, трахеја, RLN, езофагус и стерноклеидомастоидни мишић. Код 358 пријављених случајева карцинома паратириоиде, пре операције је постављена дијагноза или се појавила сумња због доказа о инвазији код 178 пацијената, а у још 46 случајева на основу изгледа жлезде (71).

Неки аутори доводе у питање хируршку догму о *en bloc* ресекцији код карцинома паратириоиде (84). С обзиром на ретку појаву ове болести, донедавно су недостајали подаци који би потврдили или одбацили предности широке ресекције у односу на обичну паратириоектомију. Потпуна ресекција без дисрупције капсуле тумора неопходна је да би се спречило расипање тумора које може да доведе до паратироматозе. *En bloc* ресекција, укључујући ипсилатерални режањ тироиде, може да олакша потпуну ресекцију и омогући адекватну процену и фазу у којој је тумор. У недавном прегледу литературе, *Talat* и *Schulte* открили су да немогућност извођења онколошког захвата носи са собом висок ризик рекуренције и смрти (RR 2,0, CI 1,2–3,2,  $p < 0,01$ ) (33).

Хируршки приступ је кроз инцизију на врату која открива инфрахиоидне мишиће. У одсуству интраоперативног праћења РТН, требало би обавити експлорацију контралатералне стране да би се искључила хиперплазија паратиرويدних жлезда јер ће поједини пацијенти имати оболеле све четири жлезде, што је повезано са карциномом (17, 21). Ако се открије хиперплазија, поред *en bloc* ресекције захваћене стране требало

би одстранити и преостале паратироидне жлезде и аутотрансплатирати из врата у подлактицу. Ако су обе контралатералне паратироидне жлезде нормалног изгледа, требало би их оставити на месту и не дирати их. *En bloc* ресекција обухвата дељење инфрахиоидних мишића, при чему се они остављају на тироиди и тумору. Требало би покушати идентификацију преостале нормалне паратироидне жлезде на захваћеној страни. Ова жлезда требало би да буде обухваћена узорком како би комплетно паратироидно ткиво било одстрањено са захваћене стране и како би се лакше пратио постоперативни ток. Тумор се одстрањује *en bloc* заједно са режњем тироиде, цервикалним тимусом и садржајем централног дела (ниво VI) (70). Треба обратити посебну пажњу да се спречи руптура капсуле жлезде и расипање тумора што би довело до повећаног ризика од рекуренције. Уколико је захваћен RLN, неопходна је и његова ресекција са узорком. Ово илуструје значај преоперативног обављања директне ларингоскопије код свих пацијената. Свеобухватна латерална лимфаденоктомија (нивои I, II, III, IV, или V) обично није индикована осим ако није захваћена у великом мери. У извештају Националне базе података о канцеру, статус лимфних чворова документован је у 105 случајева, при чему су лимфни чворови били патолошки захваћени код 15% пацијената (39). Данас примена интраоперативног праћења РТН помаже у одлуци о обиму хируршког захвата. Требало би постићи значајан пад РТН са циљем његовог враћања на нормални ниво 30 минута после ресекције (83).

Нешто компликованији сценарио присутан је када се дијагноза поставља у раном постоперативном периоду. Ако је упадљива лезија карактеристична за карцином и ако патологија покаже агресивни тумор с екстензивном инвазијом, или ако пацијент остане хиперкалцемичан, онда је индикована поновна експлорација врата и ексцизија хируршког ткива и структура близу ткива у којем се тумор налази чим се искључе удаљене метастазе. Међутим, ако није присутна ниједна од ових карактеристика, а дијагноза се поставља само на основу хистопатологије, можда ће бити потребна поновна операција. Због могуће рекуренције таквог пацијента треба посматрати мерећи му ниво РТН и калцијума.

Постоперативно надгледање пацијената са карциномом паратироиде изискује посебно обраћање пажње на хомеостазу калцијума. Ти пацијенти обично развијају синдром гладних костију јер се калцијум и фосфор таложу у скелету, па долази до значајног пада калцијума. Хипокалцемија после успешне хируршке интервенције може бити јака и продужена, те да захтева и орално и интравенозно узимање калцијума. Одмах након операције пацијентима треба орално давати основне суплементе калцијума и витамина D и неопходна је титрација ради одржавања нивоа калцијума у доњим вредностима нормале да би се убрзао опоравак нормалних паратироидних жлезда. Како кости зарастају и преостале паратироидне жлезде почну да функционишу, неопходна доза калцијума ће се смањивати. У зависности од степена болести гладних костију, ниво РТН после операције можда ће остати повишен, што је нормална физиолошка реакција костију. Доказ да ово повећање РТН није манифестација хроничне болести него синдрома гладних костију јесте то да ниво калцијума није повишен код поменутог синдрома.

#### **1.4.е. Помоћна терапија**

У прошлости се помоћна радиотерапија није сматрала ефикасном у лечењу карцинома паратироиде (3, 7–9, 85). Зрачење екстерним зрацима показало се као неделотворно у смањењу величине тумора и/или поправљања хиперкалцемије у случају

тешког обољења где ресекција није могућа. Исто тако, у лечењу метастаза костију постигнути су разочаравајући резултати. Међутим, најновија истраживања довела су у питање улогу помоћне радиотерапије после операције, када се узму у обзир хистолошки блиске или позитивне маргине. *Munson* је забележио 65 пацијената, од којих је четворо добило помоћну терапију, а четворо било потврђено локорегионалној контроли болести (86). Укупна локорегионална рекурвенција забележена је код 44% пацијената. Међутим, сва четири пацијента која су добила помоћну терапију преживела су и нису поново оболела. Исто тако, медицински центар „МД Андерсон“ и Центар за канцер „Принцеза Маргарета“ забележили су нижу стопу локорегионалне рекурвенције уколико је помоћна радијација са 40–50 Gy спровођена постоперативно (19, 83). Зато, иако је тај број и даље мали, изгледа да помоћна радиотерапија могуће има важну улогу у локорегионалној контроли болести.

Хемотерапија представља разочарење у лечењу карцинома паратироиде. Због ретке појаве ове болести, не постоје обимна тестирања која би могла да процене хемотерапију као помоћни или терапеутски режим. Хемотерапији се углавном подвргавају пацијенти са екстензивном локалном и/или регионалном болешћу код које је ресекција немогућа. Неколико режима, укључујући винкрестин, адријамицин, циклофосфамид и 5-флуороурацил, примењују се као појединачни агенси или у комбинацији, али су се показали као неделотворни (4, 87, 88). Данас се чини да хемотерапију не треба примењивати у лечењу пацијената са карциномом паратироиде.

#### **1.4.ж. Патологија**

Дијагностиковање карцинома паратироиде и даље представља изазов за патолога. Замрзнута секција не омогућава прављење разлике између бенигнух и малигнух паратироидних тумора, а инцизионе биопсије се не препоручују јер представљају ризик од усађивања ћелија тумора у околна ткива (89).

Донедавно се дијагноза постављала на основу хистолошких резултата о инвазији и ширењу метастаза. Ти недвосмислени критеријуми о малигнитету често не постоје у појединачним случајевима када постоји клиничка сумња у карцином паратироиде. Имунохистохемијска анализа сада се рутински обавља у случају WHO-класификованих карцинома паратироиде и атипичних паратироидних аденома у бројним патолошким лабораторијама (38).

#### **1.4.з. Макроскопске и микроскопске карактеристике**

Карцином паратироиде може у великој мери да личи на аденом. Међутим, карциноми су углавном чврсти и причвршћени су за суседне структуре. Засечене површине су сиво-беле и некада показују фокалну некрозу (39, 89). Средња величина тумора је 3,3 cm, а просечна тежина износи 2,7 g (у распону 0,08–13 g) (39, 90).

Без потврде метастатске болести или инвазије, тешко је поставити хистолошку дијагнозу карцинома паратироиде. Класичне хистопатолошке карактеристике карцинома паратироиде, које су описали *Schantz* и *Castleman* (91) и које користе остали научници (4–6, 43, 92, 93), јесу трабекуларна грађа, митотске фигуре, дебеле фиброзне траке, као и инвазија капсуле и крвних судова. У скорашњем прегледу 27 пацијената са карциномом паратироиде *Clayman* је открио да се фиброзне траке, митоза и васкуларна инвазија појединачно јављају код 37% пацијената (83). Капсуларна инвазија забележена

је код свега 26%, а лимфатична инвазија код свега 11% случајева. Ова студија илуструје чињеницу да „класичне“ патолошке карактеристике карцинома нису увек присутне код карцинома паратириоиде, нити су специфичне за малигне болести. Осим трабекуларне грађе, могу се наћи чврсте плоче хомогених ћелија које подсећају на хистолошки изглед бројних аденома. Фиброзне траке присутне код карцинома обично су од густог хијалинског влакнастог ткива сличног оног које постоји код бројних тимома. Ако се фиброзно ткиво повеже с доказима о неком претходном крварењу или операцији, међутим, то може бити и карактеристика аденома (43).

Присуство митоза у ћелијама тумора неки аутори су искористили као најкориснији показатељ карцинома (6, 91). Међутим, други аутори приметили су митотске фигуре у аденомима (43, 94). Тријада високе митотске стопе (> 5 на 50 поља високе снаге), макронуклеола и некрозе повезана је с туморима који су агресивнији у погледу рекурентне или метастатске болести (95).

Капсуле већине карцинома паратириоиде дебље су од оних код аденома сличне величине. Капсуларна инвазија одликује се екстензијом неопластичног ткива у испупчењу налик језику кроз колагена влакна капсуле. Инфилтративни раст кроз капсулу до суседних ткива омогућава дефинитивно дијагностиковање карцинома.

Најчесталија места локалне инвазије су адипозна ткива и мишићи, езофагус, тироидна жлезда, RLN и трахеја (96).

Васкуларна инвазија забележена је код отприлике 10–15% карцинома паратириоиде и дословно се сматра дијагнозом малигнитета. Да би био квалификован као *bona fide* (веродостојна) карактеристика, тумор мора не само да је присутан унутар васкуларног канала него и да буде делимично причвршћен за зид канала.

#### **1.4.и. Електронска микроскопија**

Под електронским микроскопом ћелије карцином паратириоиде су крупне и имају вијугаве, укрштене плазма мембране. Имају веома активну цитоплазму, често с делимично дилатираном ергастоплазмом која не показује никакав поларитет нити дистрибуцију близу нуклеуса. Дезмозоме је тешко наћи. Липиди и ликоген су смањени, али се и даље могу видети бројне секреторне грануле електронске густине. Нуклеус знатно варира у величини и облику. Губитак мембране нуклеуса, који се види у профази, може се приметити чак и ако митоза можда није евидентна у светлим микроскопским сецијама. Нуклеолус је увећан и густ, а хроматин је згуснут и као грумен се шири кроз кариоплазму стварајући изглед „љутог нуклеуса“ (43, 97). Неки аутори сматрају да ова особина указује на малигнитет јер није описана код аденома, док други налазе да електронско микроскопско испитивање има ограничену дијагностичку вредност (5).

#### **1.4.ј. Проточно цитометријска DNK анализа**

Нека истраживања показала су да је анеуплоидија у великој мери повезана с малигнитетом код паратиرويدних тумора (5, 98). Међутим, због преклапања резултата са аденомима, плоидија се не сматра корисним инструментном у диференцијалној дијагнози карцинома и аденома (99). Насупрот томе, S-фазна фракција може бити корисна. Једна студија показује да би дијагнозу карцинома требало узети у обзир у присуству S-фазне фракција веће од 4% и DNK индекса већег од 1,2% (100).

## 1.4.к. Имунохистохемија

Имунохистохемијско бојење с моноклонским М1В-1 антителом, које открива маркер повезан с ћелијским циклусом, Кi67 антиген, у парафинским секцијама се може користити да процени пролиферативну фракцију тумора (ТРФ). Она се изражава као број Кi67 позитивних нуклеуса на 1.000 паренхималних ћелија (94). Једна студија доказала је да је средња ТРФ знатно већа код карцинома паратироиде у односу на хиперпластичне жлезде и аденоме. Аутори су закључили да је ТРФ већи од 60 x 1.000 ћелија конзистентан са дијагнозом карцинома паратироиде и представља индикацију малигног понашања у погледу локално агресивне болести и удаљеног ширења (101). Други научници закључили су да Кi67 бојење није дефинитивно у разликовању између бенигну и малигну паратироидних лезија (102). Изгледало би да мање од 30% карцинома паратироиде има позитиван Кi67 у поређењу са 2% аденома (93). Зато, у оквиру одговарајућег клиничког сценарија, он може да помогне у дијагностиковању, али његово одсуство не искључује малигнитет.

Имунохистохемијско бојење код протеинског производа тумор супресорског гена ретинобластоме (Rb) може бити драгоцену у постављању дијагнозе. Утврђено је да карциномима паратироиде недостаје бојење за Rb протеин док код аденома постоји позитивно бојење (83). Ово откриће подудара се с алелним губитком Rb гена откривеним код карцинома (67). Међутим, једна студија је открила да бојење код Rb протеина није поуздано у прављењу разлике између бенигну и малигну тумора (102).

Доказано је да постоји честа прекомерна експресија PRAD1/cyclinD1 код карцинома паратироиде (56, 63). Та прекомерна експресија може се детектовати путем имунохистохемије. Међутим, она се до данас није показала корисном у разликовању карцинома од аденома (63).

Истражена је и корист антитела за протеинске производе других регулатора ћелијског циклуса, p27. Користећи технологију *tissue microarray* (ТМА), Стојадиновић и сарадници открили су да је имунофенотип p27+/bcl 2-/Ki67-/mdm2+ био присутан код 76% аденома, код 29% атипичних аденома и код 0% карцинома (93).

Недавно се имунохистохемијско бојење парафибромина, протеинског производа тумор супресорског гена HRPT2, показало корисним у класификацији паратироидних тумора. Губитак експресије нуклеуса парафибромина забележен је код паратироидних карцинома и тумора повезаних са синдромом НРТН-ЈТ, али не и код спорадичних аденома и хиперплазије (103). Ипак, осетљивост негативног парафибромина код карцинома паратироиде износи само 23% у поређењу с хистолошким критеријумима карцинома и 70% када су примењени биолошки критеријуми. У једној студији *Howell* и његови сарадници доказали су да је позитивно имунохистохемијско бојење код PGP 9,5 нешто осетљивији метод детекције карцинома паратироиде који може да омогући откривање подгрупе тумора који су позитивни на парафибромин (38). Иако су њихови резултати обећавајући у коришћењу овог помоћног теста у разликовању „атипичних аденома“ од карцинома паратироиде, неопходна су даља истраживања пре него што се бојење PGP 9,5 употреби у ту сврху у рутинској дијагностичкој патолошкој пракси.

## 1.4.л. Историја и прогноза

Иако биолошко понашање карцинома паратириоиде може бити агресивно код појединих пацијената, они већином имају индолентан ток. Петогодишња стопа преживљавања варира у литератури од 44% до 85%, што највероватније говори о тешкоћама у потврђивању хистолошке дијагнозе у свим случајевима (4, 6, 15). У недавној студији коју је спровела Национална база података о канцеру (NCDB), укупне релативне стопе преживљавања у периодима од 5 и 10 година износиле су 85,5% и 49% (39). Ни величина тумора ни статус лимфних чворова нису предвидели преживљавање у овој групи. Међутим, природа ретроспективне анализе базе података ограничила би ову опсервацију.

Рекуренција после прве операције је честа, између 33% и 78% случајева (4, 15, 22, 24, 71). У прегледу литературе *Koea* и *Shaw* успели су да анализирају 301 пацијента са адекватним третманом и подацима о постоперативном току (71). Открили су да је код укупно 179 пацијената једини третман била паратироидектомија. Од тог броја се код њих 92 (51%) болест вратила локално за у просеку 41 месец. Деведесет процената пацијената са рекуренцијом умрло је од те болести у просеку за 62 месеца. Насупрот томе, 104 пацијента подвргнута су *en bloc* ресекцији ради излечења. Осам процената доживело је локалну рекуренцију, а још три пацијента развила су удаљене метастазе, што говори о значају клиничког откривања и екстензивне иницијалне операције. Најновије ажурирање литературе пратило је 330 пацијената од којих је 117 (35%) умрло од болести, а 207 (63%) је доживело рекуренцију најдуже до 6 година после операције (33). У једноставној статистичкој анализи, стопе преживљавања и рекуренције биле су под значајним утицајем мушког рода, присуства васкуларне инвазије и захваћених лимфних чворова.

Хронична хиперкалцемија после иницијалне операције доказано је лош прогностички показатељ (4). Шездесет посто пацијената са хроничном болешћу умрло је у року од 3 године. Хируршка ресекција и/или одстрањивање локорегионалне или метастатске болести доказано има резултате у периодима нормокалцемије од неколико месеци до неколико година (3, 71). Потврђену корист имали су и пацијенти који су подвргнути метастазектомији у поређењу са сличним пацијентима који су лечени симптоматично (71).

## 1.4.љ. Палијативне терапије

Када се карцином паратириоиде рашири, пацијенти обично умиру од метаболичких компликација хиперкалцемије (5, 69). Третирање хиперкалцемије подразумева рехидратацију и постизање калциурезе помоћу диуретика Хенлеове петље (104). Међутим, за разлику од другог узрока хиперкалцемије, карцином паратириоиде ретко реагује само на ове мере. Бифосфонати су класа лекова који инхибирају остеокластну ресорпцију костију. Памидронат који је дат путем инфузије током 2–24 сата у дозама од 30–90 mg дневно ефикасно снижава ниво серума калцијума код пацијената са карциномом паратириоиде, макар привремено (5, 21, 105). Золедронат, као јачи бифосфонат, може се давати брже (4 mg интравенозно током 15 минута) и доказано је да врло ефикасно снижава ниво калцијума (106, 107). Ефикасност бифосфонатне терапије опада временом и услед прогресије болести.



Нова класа лекова, односно калцимитетика, делује обећавајуће у дугорочном лечењу карцинома паратириоиде изазваног хиперкалцемијом (108, 109). Ови лекови су алостерни модулатор рецептора осетљивих на калцијум (CaRs) који су одговорни за регулацију лучења PTH. У истраживању синакалцета, друге генерације калцимитетика, које је спроведено у више центара, хиперкалцемија забележена код НРТН безбедно је нормализовала серумски калцијум и смањила концентрације PTH (110). Синакалцет дат оралним путем (30–60 mg дневно) добро се толерише и побољшава дугорочну контролу нивоа серумског калцијума код пацијената са НРТН, укључујући оне који су имали карцином паратириоиде (111).

Код јаке хиперкалцемије примењене су и неке друге фармаколошке терапије, укључујући калцитонин и глукокортикоиде. Калцитонин инхибира остеокластну активности и повећава ренално лучење калцијума. Међутим, скроман пад захваљујући употреби калцитонина је краткотрајан, па се за 48 сати та вредност враћа на ниво од пре лечења (11). Овај лек користан је када се комбинује са бифосфонатном терапијом, те тако делује нешто спорије. Кортикостероиди повећавају уринарно лучење калцијума и смањују интестиналну апсорпцију. Њихова употреба ограничена је због нуспојава и појаве нових и ефикаснијих лекова.

Недавно је забележен нов начин лечења карцинома паратириоиде помоћу анти-паратироидне хормонске имунотерапије (112). Аутори извештаја пријавили су случај пацијента са рефракторном хиперкалцемијом од пулмоналних метастаза, код кога је откривено да су након четврте имунизације опали како ниво PTH, тако и ниво калцијума. Такође су утврдили смањење пулмоналних метастаза, што даје наду у овај тип терапије у будућности. На крају, доказано је да соматостатински аналог октреотид инхибира лучење PTH (113). Употреба октреотида и потенцијална употреба радионуклидне терапије у лечењу метастатског карцинома паратириоиде тек треба да буду детаљно истражена.

## Литература:

1. De Quevain F (1904) *Parastruma maligna aberrata*. Deutsche Zeitschr Chir 100:334–352.
2. Sainton P, Millot J (1933) *Malegne d'un adenome parathyroïdienne eosinophile. Au cours d'une de Reckinghausen*. Ann Anat Pathol 10:813–814.
3. Shane E (2001) *Clinical review 122: parathyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab 86(2):485–493.
4. Wynne AG, van Heerden J, Carney JA, Fitzpatrick LA (1992) *Parathyroid carcinoma: clinical and pathologic features in 43 patients*. Medicine 71(4):197–205.
5. Obara T, Fujimoto Y (1991) *Diagnosis and treatment of patients with parathyroid carcinoma: an update and review*. World J Surg 15(6):738–744.
6. Wang CA, Gaz RD (1985) *Natural history of parathyroid carcinoma. Diagnosis, treatment, and results*. Am J Surg 149(4):522–527.
7. Cohn K, Silverman M, Corrado J, Sedgewick C (1985) *Parathyroid carcinoma: the Lahey Clinic experience*. Surgery 98(6):1095–1100.
8. Hakaim AG, Esselstyn CB (1993) *Parathyroid carcinoma: 50-year experience at the Cleveland Clinic Foundation*. Cleve Clin J Med 60:331–335.
9. Fujimota Y, Obara T (1987) *How to recognize and treat parathyroid carcinoma*. Surg Clin North Am 67:343–357.
10. DeLellis RA, Mazzaglia P, Mangray S (2008) *Primary hyperparathyroidism: a current perspective*. Arch Pathol Lab Med 132:1251–1262.
11. Rodgers SE, Perrier ND (2006) *Parathyroid carcinoma*. Curr Opin Oncol 18:16–22.
12. Beus KS, Stack BC Jr (2004) *Parathyroid carcinoma*. Otolaryngol Clin North Am 37:845–854.
13. Shane E (1994) *Parathyroid carcinoma*. Curr Ther Endocrinol Metab 5:565–568.
14. Salusky IB, Goodman WG, Kuizon BD (2000) *Implications of intermittent calcitriol therapy on growth and secondary hyperparathyroidism*. Pediatr Nephrol 14:641–645.
15. Sandelin K, Auer G, Bondeson L, Grimelius L, Farnebo L-O (1992) *Prognostic factors in parathyroid cancer: a review of 95 cases*. World J Surg 16:724–731.
16. Miki H, Sumitomo M, Inoue H, Kita S, Monden Y (1996) *Parathyroid carcinoma in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis*. Surgery 120(5):897–901.
17. Streeten EA, Weinstein LS, Norton JA, Mulvihill JJ, White BJ, Friedman E, Jaffe G, Brandi ML, Stewart K, Zimering MB (1992) *Studies in a kindred with parathyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab 75(2):362–366.
18. Cordeiro AC, Montenegro FL, Kulcsar MA, Dellanegra LA, Tavares MR, Michaluart P Jr, Ferraz AR (1998) *Parathyroid carcinoma*. Am J Surg 175(1):52–55.
19. Chow E, Tsang RW, Brierley JD, Filice S (1998) *Parathyroid carcinoma – the Princess Margaret Hospital experience*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 41(3):569–572.
20. Mashburn MA, Chonkich GD, Chase DR, Petti GH Jr (1987) *Parathyroid carcinoma: two new cases – diagnosis, therapy, and treatment*. Laryngoscope 97(2):215–218.

21. De Papp AE, Kinder B, LiVolsi V, Gupta SM, Stewart AF (1994) *Parathyroid carcinoma arising from parathyroid hyperplasia: autoinfarction following intravenous treatment with pamidronate*. *Am J Med* 97(4):399–400.
22. Favia G, Lumachi F, Polistina F, D'Amico DF (1998) *Parathyroid carcinoma: sixteen new cases and suggestions for correct management*. *World J Surg* 22(12):1225–1230.
23. Hauptman JB, Modlinger RS, Ertel NH (1983) *Pheochromocytoma resistant to alpha adrenergic blockade*. *Arch Intern Med* 143:2321–2323.
24. Kebebew E, Arici C, Duh QY, Clark OH (2001) *Localization and reoperation results for persistent and recurrent parathyroid carcinoma*. *Arch Surg* 136:878–885.
25. Dionisi S, Minisola S, Pepe J, De Geronimo S, Paglia F, Memeo L, Fitzpatrick LA (2002) *Concurrent parathyroid adenomas and carcinoma in the setting of multiple endocrine neoplasia type 1: presentation as hypercalcemic crisis*. *Mayo Clin Proc* 77:866–869.
26. Schmidt JL, Perry RC, Philippsen LP, Wu HH (2002) *Intrathyroidal parathyroid carcinoma presenting with only hypercalcemia*. *Otolaryngol Head Neck Surg* 127:352–353.
27. Chandran M, Deftos L, Stuenkel C, Haghghi P, Orloff L (2003) *Thymic parathyroid carcinoma and postoperative hungry bone syndrome*. *Am Surg* 9:152–156.
28. Aldinger KA, Hickey RC, Ibanez ML, Samaan NA (1982) *Parathyroid carcinoma: a clinical study of seven cases of functioning and two cases of nonfunctioning parathyroid cancer*. *Cancer* 49:388–397.
29. Snell SB, Gaar EE, Stevens SP, Flynn MB (2003) *Parathyroid cancer, a continued diagnostic and therapeutic dilemma: report of four cases and review of the literature*. *Am Surg* 69:711–716.
30. Iacobone M, Lumachi F, Favia G (2004) *Up-to-date on parathyroid carcinoma: analysis of an experience of 19 cases*. *J Surg Oncol* 88:223–228.
31. Lee PK, Jarosek SL, Virnig BA, Evasovich M, Tuttle TM (2007) *Trends in the incidence and treatment of parathyroid cancer in the United States*. *Cancer* 109:1736–1741.
32. Okamoto T, Iihara M, Obara T, Tsukada T (2009) *Parathyroid carcinoma: etiology, diagnosis, and treatment*. *World J Surg* 33:2343–2354.
33. Talat N, Schulte KM (2010) *Clinical presentation, staging and long-term evolution of parathyroid cancer*. *Ann Surg Oncol* 17:2156–2174.
34. Morrison C, Farrar W, Kneile J, Williams N, Liu-Stratton Y, Bakaletz A, Aldred MA, Eng C (2004) *Molecular classification of parathyroid neoplasia by gene expression profiling*. *Am J Pathol* 165(2):565–576.
35. Szabo J, Heath B, Hill VM, Jackson CE, Zarbo RJ, Mallette LE, Chew SL, Besser GM, Thakker RV, Huff V (1995) *Hereditary hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome: the endocrine tumor gene HRPT2 maps to chromosome 1q21-q31*. *Am J Hum Genet* 56:944–950.
36. Howell VM, Haven CJ, Kahnoski K, Khoo SK, Petillo D, Chen J, Fleuren GJ, Robinson BG, Delbridge LW, Philips J, Nelson AE, Krause U, Hammje K, Dralle H, Hoang-Vu C, Gimm O, Marsh DJ, Morreau H, Teh BT (2003) *HRPT2 mutations are associated with malignancy in sporadic parathyroid tumours*. *J Med Genet* 40(9):657–663.
37. Shattuck TM, Valimaki S, Obara T, Gaz RD, Clark OH, Shoback D, Wierman ME, Tojo K, Robbins CM, Carpten JD, Farnebo LO, Larsson C, Arnold A (2003) *Somatic and germ-*

- line mutations of the HRPT2 gene in sporadic parathyroid carcinoma.* N Engl J Med 349(18):1722–1729.
38. Howell VM, Gill A, Clarkson A, Nelson AE, Dunne R, Delbridge LW, Robinson BG, Teh BT, Gimm O, Marsh DJ (2009) *Accuracy of combined protein gene product 9.5 and parafibromin markers for immunohistochemical diagnosis of parathyroid carcinoma.* J Clin Endocrinol Metab 94:434–441.
39. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR (1999) *Two hundred eighty-six cases of parathyroid carcinoma treated in the U.S. between 1985–1995: a National Cancer Data Base Report.* The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. Cancer 86(3):538–544.
40. Carpten JD, Robbins CM, Villablanca A, Forsberg L, Presciuttini S, Bailey-Wilson J, Simonds WF, Gillanders EM, Kennedy AM, Chen JD, Agarwal SK, Sood R, Jones MP, Moses TY, Haven C, Petillo D, Leotlela PD, Harding B, Cameron D, Pannett AA, Hoog A, Heath H III, James-Newton LA, Robinson B, Zarbo RJ, Cavaco BM, Wassif W, Perrier ND, Rosen IB, Kristoffersson U, Turnpenny PD, Farnebo LO, Besser GM, Jackson CE, Morreau H, Trent JM, Thakker RV, Marx SJ, Teh BT, Larsson C, Hobbs MR (2002) *HRPT2, Encoding parafibromin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome.* Nat Genet 32(4):676–680.
41. Ishida T, Yokoe T, Izuo M (1991) *Nation wide survey of parathyroid operations in Japan 1980–1989.* Endocr Surg 8:37–45.
42. Ireland JP, Fleming SJ, Levison DA, Cattell WR, Baker LR (1985) *Parathyroid carcinoma associated with chronic renal failure and previous radiotherapy to the neck.* J Clin Pathol 38:1114–1118.
43. Smith JF (1993) *The pathological diagnosis of carcinoma of the parathyroid.* Clin Endocrinol (Oxf) 38:662.
44. Christmas TJ, Chapple CR, Noble JG, Milroy EJ, Cowie AG (1988) *Hyperparathyroidism after neck irradiation.* Br J Surg 75(9):873–874.
45. Tisell LE, Hansson G, Lindberg S, Ragnhult I (1977) *Hyperparathyroidism in persons treated with X-rays for tuberculous cervical adenitis.* Cancer 40:846–854.
46. Goldman L, Smyth FS (1936) *Hyperparathyroidism in siblings.* Ann Surg 104:971–981.
47. Huang S-M, Duh Q-Y, Shaver J, Siperstein AE, Kraimps J-L, Clark OH (1997) *Familial hyperparathyroidism without multiple endocrine neoplasia.* World J Surg 21:22–29.
48. Barry MK, van Heerden JA, Grant CS, Thompson GB, Khosla S (1997) *Is familial hyperparathyroidism a unique disease.* Surgery 122:1028–1033.
49. Wassif WS, Moniz CF, Friedman E, Wong S, Weber G, Nordenskjold M, Peters TJ, Larsson C (1993) *Familial isolated hyperparathyroidism: a distinct genetic entity with an increased risk of parathyroid cancer.* J Clin Endocrinol Metab 77(6):1485–1489.
50. Jackson CE, Norum RA, Boyd SB, Talpos GB, Wilson SD, Taggart T, Mallette LE (1990) *Hereditary hyperparathyroidism and multiple ossifying jaw fibromas: a clinically and genetically distinct syndrome.* Surgery 108:1006–1013.
51. Haven CJ, Wong FK, van Dam EW, van der Juijt R, van Asperen C, Jansen J, Rosenberg C, de Wit M, Roijers J, Hoppener J, Lips CJ, Larsson C, Teh BT, Morreau H (2000) *Agenotypic and histopathological study of a large Dutch kindred with hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 85(4):1449–1454.

52. Cavaco BM, Guerra L, Bradley KJ, Carvalho D, Harding B Oliveira A, Santos MA, Sobrinho LG, Thakker RV, Leite V (2004) *Hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome in Roma families from Portugal is due to a founder mutation of the HRPT2 gene*. J Clin Endocrinol Metab 89(4):1747–1752.
53. Teh BT, Farnebo F, Kristoffersson U, Sundelin B, Cardinal J, Axelson R, Yap A, Epstein M, Heath H III, Cameron D, Larsson C (1996) *Autosomal dominant primary hyperparathyroidism and jaw tumor syndrome associated with renal hamartomas and cystic kidney disease: linkage to 1q21-q32 and loss of the wild type allele in renal hamartomas*. J Clin Endocrinol Metab 81(12):4204–4211.
54. Cavaco BM, Barros L, Pannett AA, Ruas L, Carvalheiro M, Ruas MM, Krausz T, Santos MA, Sobrinho LG, Leite V, Thakker RV (2001) *The hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome in a Portuguese kindred*. QJM 94(4):213–222.
55. Wassif WS, Farnebo F, Teh BT, Moniz CF, Li FY, Harrison JD, Peters TJ, Larsson C, Harris P (1999) *Genetic studies of a family with hereditary hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome*. Clin Endocrinol (Oxf) 50(2):191–196.
56. Haven CJ, Howell VM, Eilers PH, Dunne R, Takahashi M, van Puijenbroek M, Furge K, Kievit J, Tan MH, Fleuren GJ, Robinson BG, Delbridge LW, Philips J, Nelson AE, Krause U, Dralle H, Hoang-Vu C, Gimm O, Morreau H, Marsh DJ, Teh BT (2004) *Gene expression of parathyroid tumors: molecular subclassification and identification of the potential malignant phenotype*. Cancer Res 64:7405–7411.
57. Weinstein LS, Simonds WF (2003) *HRPT2, a marker of parathyroid cancer*. N Engl J Med 349(18):1691–1692.
58. Farnebo F, Teh BT, Dotzenrath C, Wassif WS, Svensson A, White I, Betz R, Goretzki P, Sandelin K, Farnebo LO, Larsson C (1997) *Differential loss of heterozygosity in familial, sporadic, and uremic hyperparathyroidism*. Hum Genet 99:342–349.
59. Farnebo F, Teh BT, Kytola S, Svensson A, Phelan C, Sandelin K, Thompson NW, Hoog A, Weber G, Farnebo LO, Larsson C (1998) *Alterations of the MEN1 gene in sporadic parathyroid tumors*. J Clin Endocrinol Metab 83(8):2627–2630.
60. Dwight T, Twigg S, Delbridge L, Wong FK, Farnebo F, Richardson AL, Nelson A, Zedenius J, Philips J, Larsson C, Teh BT, Robinson B (2000) *Loss of heterozygosity in sporadic parathyroid tumours: involvement of chromosome 1 and the MEN1 gene locus in 11q13*. Clin Endocrinol (Oxf) 53:85–92.
61. Mallya SM, Arnold A (2000) *Cyclin D1 in parathyroid disease*. Front Biosci 5:D367–D371.
62. Hemmer S, Wasenius VM, Haglund C, Zhu Y, Knuutila S, Franssila K, Joensuu H (2001) *Deletion of 11q23 and cyclin D1 overexpression are frequent aberrations in parathyroid adenomas*. Am J Pathol 158(4):1355–1362.
63. Vasef MA, Brynes RK, Sturm M, Bromley C, Robinson RA (1999) *Expression of cyclin D1 in parathyroid carcinomas, adenomas, and hyperplasias: a paraffin immunohistochemical study*. Mod Pathol 12(4):412–416.
64. Hsi ED, Zukerberg LR, Yang WI, Arnold A (1996) *Cyclin D1/PRAD1 expression in parathyroid adenomas: an immunohistochemical study*. J Clin Endocrinol Metab 81(5):1736–1739.

65. Shattuck TM, Kim TS, Costa J, Yandell DW, Imanishi Y, Palanisamy N, Gaz RD, Shoback D, Clark OH, Monchik JM, Wierman ME, Hollenberg A, Tojo K, Chaganti RS, Arnold A (2003) *Mutational analyses of RB and BRCA2 as candidate tumour suppressor genes in parathyroid carcinoma*. Clin Endocrinol (Oxf) 59(2):180–189.
66. Pearce SH, Trump D, Wooding C, Sheppard MN, Clayton RN, Thakker RV (1996) *Loss of heterozygosity studies at the retinoblastoma and breast cancer susceptibility (BRCA2) loci in pituitary, parathyroid, pancreatic and carcinoid tumours*. Clin Endocrinol (Oxf) 45(2):195–200.
67. Cryns VL, Thor A, Xu HJ, Hu SX, Wierman ME, Vickery AL Jr, Benedict WF, Arnold A (1994) *Loss of the retinoblastoma tumor-suppressor gene in parathyroid carcinoma*. N Engl J Med 330(11):757–761.
68. Venkitaraman AR (2001) *Chromosome stability, DNA recombination and the BRCA2 tumour suppressor*. Curr Opin Cell Biol 13(3):338–343.
69. Mittendorf E, McHenry CR (2005) *Parathyroid carcinoma*. J Surg Oncol 89:137–142.
70. Pasiaka JL (1999) *Parathyroid carcinoma*. Oper Tech GenSurg 1:71–84.
71. Koea JB, Shaw JH (1999) *Parathyroid cancer: biology and management*. Surg Oncol 8(3):155–165.
72. Silverberg SJ, Bilezikian JP (1997) *Primary hyperparathyroidism: still evolving?* J Bone Miner Res 12:856–862.
73. Silverberg SJ, Bilezikian JP (1996) *Evaluation and management of primary hyperparathyroidism*. J Clin Endocrinol Metab 81:2036–2040.
74. Heath H III, Hodgson SF, Kennedy MA (1980) *Primary hyperparathyroidism. Incidence, morbidity, and potential economic impact in a community*. N Engl J Med 302(4): 189–193.
75. Klink BK, Karulf RE, Maimon WN, Peoples JB (1991) *Nonfunctioning parathyroid carcinoma*. Am Surg 57:463–467.
76. Murphy MN, Glennon PG, Diocee MS, Wick MR, Cavers DJ (1986) *Nonsecretory parathyroid carcinoma of the mediastinum. Light microscopic, immunocytochemical, and ultrastructural features of a case, and review of the literature*. Cancer 58:2468–2476.
77. Palazzo F, Delbridge LW (2004) *Minimal-access/minimally invasive parathyroidectomy for primary hyperparathyroidism*. Surg Clin North Am 84:717–734.
78. Edmonson GR, Charboneau JW, James EM, Reading CC, Grant CS (1986) *Parathyroid carcinoma: high-frequency sonographic features*. Radiology 161:65–67.
79. Kinoshita Y, Fukase M, Uchihashi M, Takenaka M, Hishikawa R, Nakada M, Nonaka H, Kondo T, Fujita T (1985) *Significance of preoperative use of ultrasonography in parathyroid neoplasms: comparison of sonographic textures with histologic findings*. J Clin Ultrasound 13:457–460.
80. Johnston LB, Carroll MJ, Britton KE, Lowe DG, Shand W, Besser GM, Grossman AB (1996) *The accuracy of parathyroid gland localization in primary hyperparathyroidism using sestamibi radionuclide imaging*. J Clin Endocrinol Metab 81(1):346–352.
81. Thompson SD, Prichard AJ (2004) *The management of parathyroid carcinoma*. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 12:93–97.
82. Spinelli C, Bonadio AG, Berti P, Materazzi G, Miccoli P (2000) *Cutaneous spreading of parathyroid carcinoma after fine needle aspiration cytology*. J Endocrinol Invest 23:255–257.

83. Clayman GL, Gonzalez HE, El Naggar A, Vassilopoulou-Sellin R (2004) *Parathyroid carcinoma: evaluation and interdisciplinary management*. *Cancer* 100(5):900–905.
84. Ippolito G, Palazzo FF, Sebag F, De MC, Henry JF (2007) *Intraoperative diagnosis and treatment of parathyroid cancer and atypical parathyroid adenoma*. *Br J Surg* 94:566–570.
85. Vetto JT, Brennan MF, Woodruff J, Burt M (1993) *Parathyroid carcinoma: diagnosis and clinical history*. *Surgery* 114:882–892.
86. Munson ND, Foote RL, Northcutt RC, Tiegs RD, Fitzpatrick LA, Grant CS, van Heerden JA, Thompson GB, Lloyd RV (2003) *Parathyroid carcinoma: is there a role for adjuvant radiation therapy?* *Cancer* 98:2378–2384.
87. Anderson BJ, Samaan NA, Vassilopoulou-Sellin R, Ordonez NG, Hickey RC (1983) *Parathyroid carcinoma: features and difficulties in diagnosis and management*. *Surgery* 94(6):906–915.
88. Grammes CF, Eyerly RC (1980) *Hyperparathyroidism and parathyroid carcinoma*. *South Med J* 73:814–816.
89. Boneson L, Grimelius L, DeLellis RA (2004) *World Health Organization classification of tumors, pathology and genetics: tumors of endocrine organs*. IARC Press, Lyon, pp 124–127.
90. Kleinpeter KP, Lovato JF, Clark PB, Wooldridge T, Norman ES, Bergman S, Perrier ND (2005) *Is parathyroid carcinoma indeed a lethal disease?* *Ann Surg Oncol* 12:260–266.
91. Schantz A, Castleman B (1973) *Parathyroid carcinoma. A study of 70 cases*. *Cancer* 31:600–605.
92. Sandelin K, Tullgren O, Farnebo LO (1994) *Clinical course of metastatic parathyroid cancer*. *World J Surg* 18:594–598.
93. Stojadinovic A, Hoos A, Nissan A, Dudas ME, Cordon-Cardo C, Shaha AR, Brennan MF, Singh B, Ghossein RA (2003) *Parathyroid neoplasms: clinical, histopathological, and tissue microarray-based molecular analysis*. *Hum Pathol* 34:54–64.
94. De Lellis RA (1995) *Does the evaluation of proliferative activity predict malignancy of prognosis in endocrine tumors?* *Hum Pathol* 26:131–134.
95. Bondeson L, Sandelin K, Grimelius L (1993) *Histopathological variables and DNA cytometry in parathyroid carcinoma*. *Am J Surg Pathol* 17:820–829.
96. Busaidy NL, Jimenez C, Habra MA, Schultz PN, El Naggar AK, Clayman GL, Asper JA, Diaz EM Jr, Evans DB, Gagel RF, Garden A, Hoff AO, Lee JE, Morrison WH, Rosenthal DI, Sherman SI, Sturgis EM, Waguespack SG, Weber RS, Wirfel K, Vassilopoulou-Sellin R (2004) *Parathyroid carcinoma: a 22-year experience*. *Head Neck* 26:716–726.
97. Faccini JM (1970) *The ultrastructure of parathyroid glands removed from patients with primary hyperparathyroidism: are port of 40 cases, including four carcinomata*. *J Pathol* 102:189–199.
98. Levin KE, Chew KL, Ljung B, Mayall BH, Siperstein AE, Clark OH (1988) *Deoxyribonucleic acid cytometry helps identify parathyroid carcinomas*. *J Clin Endocrinol Metab* 67(4):779–784.
99. Mallette LE (1992) *DNA quantitation in the study of parathyroid lesions*. *Am J Clin Pathol* 98:305–311.
100. Harlow S, Roth SI, Bauer K, Marshall RB (1991) *Flow cytometric DNA analysis of normal and pathologic parathyroid glands*. *Mod Pathol* 4:310–315.

101. Abbona GC, Papotti M, Gasparri G, Bussolati G (1995) *Proliferative activity in parathyroid tumors as detected by Ki-67 immunostaining*. Hum Pathol 26:135–138.
102. Farnebo F, Auer G, Farnebo LO, Teh BT, Twigg S, Aspenblad U, Thompson NW, Grimelius L, Larsson C, Sandelin K (1999) *Evaluation of retinoblastoma and Ki-67 immunostaining as diagnostic markers of benign and malignant parathyroid disease*. World J Surg 23:68–74.
103. Gill AJ, Clarkson A, Gimm O, Keil J, Dralle H, Howell VM, Marsh DJ (2006) *Loss of nuclear expression of parafibromin distinguishes parathyroid carcinomas and hyperparathyroidism jaw tumor (HPTH-JT) syndrome-related adenomas from sporadic parathyroid adenomas and hyperplasias*. Am J Surg Pathol 30:1140–1149.
104. Bilezikian JP (1992) *Management of acute hypercalcemia*. N Engl J Med 326(18):1196–1203.
105. Sandelin K, Thompson NW, Bondeson L (1991) *Metastatic parathyroid carcinoma: dilemmas in management*. Surgery 110:978–988.
106. Hurtado J, Esbrit P (2002) *Treatment of malignant hypercalcaemia*. Expert Opin Pharmacother 3:521–527.
107. Major PP, Coleman RE (2001) *Zoledronic acid in the treatment of hypercalcemia of malignancy: results of the international clinical development program*. Semin Oncol 28:17–24.
108. Collins MT, Skarulis MC, Bilezikian JP, Silverberg SJ, Spiegel AM, Marx SJ (1998) *Treatment of hypercalcemia secondary to parathyroid carcinoma with a novel calcimimetic agent*. J Clin Endocrinol Metab 83(4):1083–1088.
109. Nemeth EF, Steffey ME, Hammerland LG, Hung BC, VanWagenen BC, DelMar EG, Balandrin MF (1998) *Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor*. Proc Natl Acad Sci USA 95(7):4040–4045.
110. Shoback DM, Bilezikian JP, Turner SA, McCary LC, Guo MD, Peacock M (2003) *The calcimimetic cinacalcet normalizes serum calcium in subjects with primary hyperparathyroidism*. J Clin Endocrinol Metab 88(12):5644–5649.
111. Peacock M (2004) *Clinical effects of calcimimetics in hyperparathyroidism*. J Musculoskelet Neuronal Interact 4:414–415.
112. Betea D, Bradwell AR, Harvey TC, Mead GP, Schmidt-Gayk H, Ghaye B, Daly AF, Beckers A (2004) *Hormonal and biochemical normalization and tumor shrinkage induced by anti-parathyroid hormone immunotherapy in a patient with metastatic parathyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab 89:3413–3420.
113. Koyano H, Shishiba Y, Shimizu T, Suzuki N, Nakazawa H, Tachibana S, Murata H, Furui S (1994) *Successful treatment by surgical removal of bone metastasis producing PTH: new approach to the management of metastatic parathyroid carcinoma*. Intern Med 33:697–702.



## 1.5. Ангиогенеза

Ангиогенеза, развој нових крвних судова од већ постојећих крвних судова, неопходна је за раст тумора и метастазирање. У последњих неколико година уложено је много напора у идентификовање маркера ангиогенезе (1). CD105 није само маркер који има значајну улогу у ангиогенези (2) већ је исто тако кључан за пролиферацију ендотелијалних ћелија и подстиче активну фазу ангиогенезе (3). CD105 је мембрански хомодимерни протеин с молекуларном тежином од 180 KDa, а ген за овај протеин налази се на хромозому 9, који је смештен на површини ћелије (4). Постоје две изоформе протеина с капацитетом везивања за трансформишући фактор раста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) које се разликују по свом саставу цитоплазматских аминокиселина. Функције CD105 вероватно су већином повезане са сигналним TGF- $\beta$ , али у неким случајевима он је независан од сигналног TGF- $\beta$  (5). Ендотелијалне ћелије крвних судова главни су извор CD105 (*Duff* и сарадници, 2003). Остале ћелије, укључујући ћелије глатких васкуларних мишића, фибробласте и макрофаге, могу такође да у мањој мери покажу експресију CD105 (6). Синцитиотрофобласти потпуно развијене плаценте такође, садрже висок ниво CD105 (7). Осим тога, експресија CD105 је упадљива особина новостворених крвних судова, при чему је минимално изражена код већ постојећих ћелија (8). Експресија CD105 у крвним судовима око тумора је већ показана (8), што указује на улогу CD105 у ангиогенези тумора. Дијагностичка употреба CD105 има значајну улогу у контролисању клиничких симптома болести. Осим тога, може се применити у области накнадног дијагностичког праћења у циљу одређивања реакције на лечење и прогнозе болести (9).

Мерење васкуларне густине (MVD) користи се у испитивању ангиогенезе код различитих тумора. Ово се показало као користан квантитативни метод процене ангиогенезе, упркос чињеници да је ангиогенеза динамички процес, а да је MVD статичка мера. Микроваскуларна густина повезана је с концентрацијом и експресијом проагниогених фактора раста, нпр. FGF-2 и VEGF (10). MVD је такође повезан са ензимима који учествују у раним фазама ангиогенезе, као што су плазминогени активатор инхибитор 1 (PAI-1) (11). Важно је то што је доказано да је MVD у блиској вези са параметрима понашања тумора у зависности од ангиогенезе, као што су раст тумора и метастаза код канцера дојке, плућа и урогениталних органа (12).

Васкуларна густина различитих тумора процењена је бројањем крвних судова који су помоћу имунохистохемије означени антителима на различите ендотелијалне маркере и у замрзнутим и у парафином обложеним деловима (13, 14).

Стопа преживљавања смањује се уколико се MVD повећава. Неколико студија доказало је да у поређењу с другим ендотелијалним маркерима као што су фон Вилебранд фактор и CD34, антитела CD105 су много специфичнија за крвне судове тумора и стога су погоднија за одређивање MVD (15).

Ki67 је нуклеарни протеин кодиран геном MKI67 (16). Овај протеин повезан је са пролиферацијом ћелија и повезује се с транскрипцијом рибозомске RNK (16). Инактивација Ki67 доводи до инхибиције rRNA синтезе (17). Ki67 се користи као маркер за пролиферацију ћелија. Током интерфазе, Ki67 протеин се налази у једру ћелије док се у митози највећи део протеина преноси на површину хромозома. Овај протеин присутан је у свим активним фазама ћелијског циклуса (G2, S, G1 и митоза), али га нема у ћелијама које се не деле (G0) (18).

Ki67 је веома важан у прогнозирању даљег развоја тумора и одређивању стопе рецидива након радиотерапије код пацијената са аденокарциномом (19).

У разним студијама изучаван је однос између MVD (користећи CD105 маркер) и фактора као што су метастаза, фаза тумора, стопа пролиферације ћелија тумора и стопа преживљавања (20), али веза између овог фактора и стопе пролиферације ћелија тумора није проучена код тумора паратироидне жлезде, па је стога ова студија заснована на испитивању односа између ова два фактора.

Раст тумора ограничен је равнотежом између потребе за кисеоником и нутријентима и дифузије тих супстанци из судова око тумора и, самим тим, стварање нових крвних судова (ангиогенеза) неопходан је корак у прогресији тумора (21). Бројање крвних судова у туморима помоћу ИНС уобичајен је метод процене ангиогенезе. Међутим, због употребе ендотелијалних маркера, који можда не могу да одреде ангиогену активност ендотелијалних ћелија, забележени су различити резултати код тумора (22).

CD105 није једини маркер који има важну улогу у ангиогенези (2) него је такође неопходан за пролиферацију ендотелијалних ћелија и подстиче активну фазу ангиогенезе (3). Поред тога, експресија CD105 је упадљива особина новостворених крвних судова и минимално је изражена код постојећих ћелија (8). Ангиогенеза се јавља и код паратироидних пролиферативних лезија, где је доказано да је повећана у односу на нормалне жлезде (23, 24). Међутим, утврђено је да секреторна активност и величина тумора могу да буду повезане, али исто тако да немају никакве везе са ангиогенезом паратироиде (23, 24). Ангиогенеза код паратироидних жлезда проучавана је на основу процене експресије специфичног васкуларног ендотелијалног маркера CD34. Чињеница је да анти-CD34 антитела боје хематопоетске ћелије, као и зреле, незреле и прогениторне ендотелијалне ћелије (25, 26). Позитивно имунобојење за CD34 антиген доказано је и у популацијама матичних ћелија за бубрег и јетру одраслих људи (27, 28).

Ово је прва студија где је испитивана ангиогенеза код паратироидних тумора на основу експресије васкуларног ендотелног маркера CD105. У овој студији није утврђена експресија овог маркера у крвним судовима нормалних паратироидних жлезда. У овој студији, у поређењу са бенигним туморима, примећен је значајан пораст крвних судова у малигним туморима, што је индикација да развој крвних судова одражава инвазивност тумора паратироидних жлезда.

Главни фактор који утиче на густину крвних судова код макроскопског тумора јесу метаболичке потребе ћелија тумора које се обично повећавају с прогресијом тумора (22). Стога се код малигнух тумора са снажном инвазивношћу и прогресијом повећавају метаболичке потребе и самим тим развој крвних судова (29).

Догађаји који се јављају током развоја ангиогеног фенотипа су сложени, а обухватају стимулацију од стране различитих проангиогених фактора раста и смањење инхибитора ангиогенезе. Процес обухвата интеракцију између ћелија тумора, ендотелијалних ћелија, макрофага, фибробласта и екстрацелуларног матрикса, који сви могу да ослобађају факторе који утичу на механизма ангиогенезе. Коначни ангиогени фенотип тумора одређује управо нето равнотежа проангиогених фактора и инхибитора ангиогенезе.

Зреле ендотелијалне ћелије обично су у стању мировања, али се могу подстаћи да уђу у ћелијски циклус и да се развију у нове капиларе. Овај концепт промене описује процес у коме се активира ангиогенеза (30). Разумевање механизма ове ангиогене промене у туморима може да доведе до бољег разумевања специфичних детерминанти понашања тумора, укључујући инвазију, малигнитет и метастазирање. Истраживања спроведена на трансгеним мишевима, код којих се развој тумора одвија у јасно одвојеним фазама, показала су да се прелаз на ангиогени фенотип догађа у раној фази развоја тумора и потенцијално ограничава стопу даљег раста тумора (30, 31).

Један од најважнијих биолошких механизма у онкогенези јесте пролиферација ћелија. Ki67 је неопходан за пролиферацију ћелија (20). Ki67 је потребан за синтезу рибозома током ћелијског циклуса. Зато је важан и за стопу протеинске синтезе (32).

У последње време неколико истраживача је пријавило употребу Ki67 индекса при постављању дијагнозе разликујући аденоме од карцинома паратироидне жлезде (33–35).

У покушају да се установе поузданије методе постављања дијагнозе, разни истраживачи су проучавали експресију протеина који регулишу ћелијски циклус код неоплазми паратироиде (34, 35, 36). Ki67 је репрезентативни маркер који се може проценити помоћу имунохистохемије. Доказано је да је Ki67 индекс много виши код карцинома паратироиде него код аденома, с граничном вредношћу од 4% до 6% (33, 34). У истраживању које су спровели *Masatoshi Iihara* и сарадници (37) откривене су значајне разлике у постоперативној прогнози користећи граничну вредност Ki67 индекса од 5%. Пре свега, агресиван постоперативни ток забележен је код 5 од 6 пацијената код којих је тумор паратироиде показивао упадљиво висок Ki67 индекс од 10% или више. Стога је врло вероватно да изузетно интензивно имунохистохемијско бојење Ki67 указује на биолошку агресивност код карцинома паратироиде. Зато су закључили да Ki67 индекс може бити користан у предвиђању исхода код пацијената са карциномом паратироиде.

У овој студији проучавана је експресија Ki67 у три групе, које се састоје од нормалних ткива, аденома и карцинома паратироиде. Учесталост и проценат бојења овог маркера код нормалних ткива у поређењу са аденомом и код аденома у поређењу са малигним туморима била је знатно нижа, што указује на већу стопу пролиферације код лезија тумора у поређењу са нормалним ткивима, а такође показује већу стопу пролиферације код ћелија малигних тумора у поређењу са бенигним туморима.

Неколико студија показало је везу између пролиферације ћелија и агресивног понашања или прогнозе тумора. У овој студији, због недоступности информација повезаних с прогнозом, преживљавањем и праћењем пацијената, било је немогуће проценити везу између Ki67 маркера и фактора повезаних с прогнозом.

На крају, у овој студији је примећено да постоји већа стопа ангиогенезе и пролиферације ћелија код малигних тумора у поређењу с бенигним туморима, што указује на њихову улогу у малигнитету и агресивном понашању ових тумора.

## Значај ангиогенезе

Процена и разумевање разлика у ангиогенези код ендокриних тумора могли би да омогуће прецизну разлику између бенигну и малигну тумора (нпр. адренални тумори и тироидне фоликуларне неоплазме). Код хипофизе, где је нарочито тешко предвидети даље понашање тумора, разлике у ангиогенези могу да помогну у процени тумора који имају већу вероватноћу рекуренције или да постану агресивни и инвазивни. Зато што тумори без функције немају никакав користан тумор маркер, могуће је употребити мерење ангиогеног фактора како би се утврдило да ли је одстрањивање читавог тумора било ефикасно или је дошло до поновног раста тумора.

Могуће је користити мерење ангиогенезе да би се олакшало доношење одлуке о терапији, на пример код којег тумора постоји вероватноћа да ће постати агресиван, па стога изискује пажљиво праћење или радиотерапију. Постоје бројни инхибитори ангиогенезе у клиничким тестовима (углавном фаза I/II), а разумевање ангиогенезе може да обезбеди употребу инхибитора ангиогенезе као терапије код ендокриних тумора, нпр. синтетички MMP инхибитори код агресивних тумора или инхибитори тирозинске киназе за инхибицију сигналног VEGF.

## Литература:

1. Meng CD, Zhu DD, Jiang XD, et al (2012). *Overexpression of interleukin-17 in tumor-associated macrophages is correlated with the differentiation and angiogenesis of laryngeal squamous cell carcinoma*. Chin Med J (Engl), 125, 1603–7.
2. Nassiri F, Cusimano MD, Scheithauer BW, et al (2011). *Endoglin(CD105): a review of its role in angiogenesis and tumor diagnosis, progression and therapy*. Anticancer Res, 31, 2283–90.
3. Goumans MJ, Lebrin F, Valdimarsdottir G. Controlling the angiogenic switch (2003). *Controlling the angiogenic switch: a balance between two distinct TGF- $\beta$  receptor signaling pathways*. Trends Cardiovasc Med, 13, 301–7.
4. Dallas NA, Samuel S, Xia L, et al (2008). *Endoglin (CD105): a marker of tumor vasculature and potential target for therapy*. Clin Cancer Res, 14, 1931–7.
5. Levi B, Wan DC, Glotzbach JP, et al (2011). *CD105 protein depletion enhances human adipose-derived stromal cell osteogenesis through reduction of transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) signaling*. J Biol Chem, 286, 39497–509.
6. Zijlmans HJ, Fleuren GJ, Hazelbag S, Sier CF, Dreef EJ, Kenter GG, Gorter A (2009). *Expression of endoglin (CD105) in cervical cancer*. Br J Cancer, 100, 1617–26.
7. Duff SE, Li C, Garland JM & Kumar S. *CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications*. Federation of American Societies for Experimental Biology Journal 2003 17(9):984–92.
8. Fonsatti E, Altomonte M, Nicotra MR, Natali PG, Maio M (2003). *Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenic blood vessels*. Oncogene, 22, 6557–63.
9. Ali AM, Ueno T, Tanaka S, et al (2011). *Determining circulating endothelial cells using CellSearch system during preoperative systemic chemotherapy in breast cancer patients*. Eur J Cancer, 47, 2265–72.
10. Toi M, Inada K, Suzuki H, Tominaga T 1995 *Tumor angiogenesis in breast cancer: its association with vascular endothelial growth factor expression*. Breast Cancer Res Treat 36:193–204.
11. Fox SB, Gatter KC, Bicknell R, Going JJ, Stanton P, Cooke TG, Harris AL 1993 *Relationship of endothelial cell proliferation to tumor vascularity in human breast cancer*. Cancer Res 53:4161–4163.
12. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Toi M, Martin L, McCulloch P, Pezzella F, Viale G, Weidner N, Harris AL, Dirix LY 1996. *Quantification of angiogenesis in solid human tumors: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation*. Eur J Cancer 32A:2474–2484.
13. Holthofer H, Virtanen I, Kariniemi AL, Hormia M, Linder E, Miettinen A 1982 *Ulex europaeus I lectin as a marker for vascular endothelium in human tissues*. Lab Invest 47:60–66.
14. Schlingeman RO, Rietveld FJR, de Waal RMW, Bradley NJ, Skene AI, Davies AJS, Greaves MF, Denekamp J, Ruiter DJ 1990 *Leukocyte antigen CD34 is expressed by a subset of cultured endothelial cells and on endothelial abluminal microprocesses in the tumor stroma*. Lab Invest 62:690–696.

15. Brewer CA, Setterdahl JJ, Li MJ, et al (2000). *Endoglin expression as a measure of microvessel density in cervical cancer*. *Obstet gynecol*, 96, 224–8.
16. Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T (2006). *Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells*. *J Cell Physiol*, 206, 624–35.
17. Rahmanzadeh R, Hüttmann G, Gerdes J, Scholzen T (2007). *Chromophore-assisted light inactivation of pKi-67 leads to inhibition of ribosomal RNA synthesis*. *Cell Prolif*, 40, 422–3.
18. Scholzen T, Gerdes J (2000). *The Ki-67 protein: from the known and the unknown*. *J Cell Physiol*, 182, 311–22.
19. Scalzo DA, Kallakury BV, Gaddipati RV, et al (1998). *Cell proliferation rate by MIB-1 immunohistochemistry predicts postradiation recurrence in prostatic adenocarcinomas*. *Am J ClinPathol*, 109, 163–8.
20. Liu P, Sun YL, Du J, Hou XS, Meng H (2012). *CD105/Ki67 coexpression correlates with tumor progression and poor prognosis in epithelial ovarian cancer*. *Int J Gynecol Cancer*, 22, 586–92.
21. Kubota Y (2012). *Tumor Angiogenesis and Anti-angiogenic Therapy*. *Keio J Med*, 61, 47–56.
22. Sharma S, Sharma MC, Sarkar C (2005). *Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprostic perspective and significance of neoangiogenesis*. *Histopathology*, 46, 481–9.
23. Viacava P, Bocci G, Fanelli G, Cetani F, Marcocci C, Bevilacqua G, Naccarato AG: *Microvessel density in human normal and neoplastic parathyroids*. *Endocr Pathol* 1997, 17:175–181.
24. Garcia de la Torre N, Buley I, Wass JA, Jackson DG, Turner HE: *Angiogenesis and lymphangiogenesis in parathyroid proliferative lesions*. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:2890–2896.
25. Hristov M, Weber C: *Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance*. *J Cell Mol Med* 2004, 8:498–509.
26. Asahara T, Kawamoto A: *Endothelial progenitor cells for postnatal vasculogenesis*. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004, 287:C572–C579.
27. Markovic-Lipkovski J, Müller CA, Klein G, Flad T, Klatt T, Blaschke S, Wessels JT, Müller GA: *Neural cell adhesion molecule expression on renal interstitial cells*. *Nephrol Dial Transplant* 2007, 22:1558–1566.
28. Herrera MB, Bruno S, Buttiglieri S, Tetta C, Gatti S, Deregibus MC, Bussolati B, Camussi G: *Isolation and characterization of a stem cell population from adult human liver*. *Stem Cells* 2006, 24:2840–2850.
29. Romani AA, Borghetti AF, Del Rio P, Sianesi M, Soliani P (2006). *The risk of developing metastatic disease in colorectal cancer is related to CD105-positive count*. *J Surg Oncol*, 93, 446–55.
30. Hanahan D, Folkman J 1996 *Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis*. *Cell* 86:353–364.
31. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D 1989 *Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia*. *Nature* 339:58–61.

32. MacCallum DE, Hall PA (2000). *The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle.* J Pathol, 190:537–44.
33. Abbona GC, Papotti M, Gasparri G, Bussolati G. *Proliferative activity in parathyroid tumors as detected by Ki-67 immunostaining.* Hum Pathol 1995;26:135–8.
34. Erickson LA, Jin L, Wollan P, Thompson GB, van Heerden JA, Lloyd RV. *Parathyroid hyperplasia, adenomas, and carcinomas: differential expression of p27Kip1 protein.* Am JSurg Pathol 1999;23:288–95.
35. Bergero N, DePompa R, Sacerdote C, Gasparri G, Volante M, Bussolati G, et al. *Galectin-3 expression in parathyroid carcinoma: immunohistochemical study of 26 cases.* HumPathol 2005; 36:908–14.
36. Stojadinovic A, Hoos A, Nissan A, Ducas ME, Cordon-Cardo C, Shaha AR, et al. *Parathyroid neoplasm: clinical, histological, and tissue microarray-based molecular analysis.* HumPathol 2003;34:54–64.
37. Masatoshi Iihara, Takahiro Okamoto, Rumi Suzuki, et al. *Functional parathyroid carcinoma: Long-term treatment outcome and risk factor analysis.* Surgery 2007; 142(6):936–43.

## 2. ЦИЉЕВИ РАДА

Основни циљ овог истраживања је испитивање повезаности експресије маркера ћелијске пролиферације (Ki67) и неоангиогенезе (CD105) са серумским нивоима PTH и класичним прогностичким параметрима паратироидних аденома и карцинома.

У складу са основним циљем постављени су следећи циљеви:

1. Анализа дистрибуције паратироидних тумора у односу на демографске карактеристике болесника (животна доб и пол),
2. Анализа паратироидних аденома и карцинома у односу на патолошки стадијум тумора (величина примарног тумора, степен локалне туморске експанзије, присуство метастаза у регионалним лимфним жлездама и удаљене метастазе) и у односу на хистопатолошке карактеристике (хистолошки образац раста, фиброза, инвазија капсуле, инфилтрација околних структура, инвазија лимфатика, ангиоинвазија и перинеурална инвазија),
3. Диференцијација паратироидних тумора у односу на серумске нивое PTH, калцијума и неорганичног фосфата у серуму на туморе који су праћени и на оне који нису примарним хиперпаратироидизмом,
4. Анализа имунохистохемијске експресије CD105 (ендоглина) и нуклеарног пролиферативног антигена Ki67 у ткивним исечцима паратироидних аденома и карцинома,
5. Корелација вредности експресије CD105 (ендоглина) и нуклеарног пролиферативног антигена (Ki67) са серумским нивоима PTH и клиничко-патолошким параметрима тумора.

Доказивањем значајног нивоа експресије пролиферативног нуклеарног антигена и степена неоангиогенезе, показаћемо да је могуће издвојити болеснике са високим ризиком за прогресију малигне болести, као и болеснике са високим ризиком за еволуцију аденома у карцином.

Такође, идентификацијом прогностичких параметара се може избећи нефокусиран приступ у постоперативном третману карцинома паратироидне жлезде, чиме би се омогућила индивидуализација и евентуална селективна антитуморска терапија применом инхибитора неоангиогенезе.



### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Ретроспективном студијом обухваћени су болесници различитог животног доба, који су оперисани, због тумора у паратироидној жлезди, у Центру за ендокрину хирургију Клиничког центра Србије, у периоду од 2001. до 2012. године. Након тога препарати су достављени Служби за патологију Центра за ендокрину хирургију, где су узорци ткива укалупљени у парафинске блокове са којих су прављени исечци за патохистолошку верификацију лезија. Парафински блокови су након постављене дијагнозе болести архивирани. Подаци о полу и животној доби, сцинтиграфији параштитастих жлезда, локализацији, као и о нивоу паратироидног хормона, калцијума и неорганског фосфата у серуму добијени су из медицинске документације.

Наша циљна група, из тог периода су аденоми и карциноми паратироидне жлезде, дакле пацијенти оболели од спорадичног примарног хиперпаратироидизма, а не наследне форме узроковане генским мутацијама. Када говоримо о наследним облицима мислимо на оне који се испољавају изоловано, дакле у склопу изолованог фамилијарног хиперпаратироидизма или у склопу мултипле ендокрине неоплазије типа 1 и 2.

На основу стандардних патохистолошких извештаја, формирали смо експерименталну групу коју чине оперативне биопсије аденома (N = 40) и карцинома (N = 10) паратироидних жлезда. Контролну групу у овој студији представља 10 нормалних паратироидних жлезда уклоњених током тироидектомије и лобоистмектомије.

Са парафинских блокова ће се на микротому правити исечци дебљине 4–5  $\mu\text{m}$ , који ће се монтирати на високо адхерентне плочице. После депарафинизације ткивних узорака биће примењена рутинска Н&Е метода за податке о патолошком стадијуму болести, патохистолошкој верификацији хистолошког типа тумора, градусу тумора, присуству интра и перитуморског лимфоцитног одговора, стромалном одговору-дезмоплазији, лимфатичној, венској и перинеуралној инвазији, присуству некрозе у тумору.

За испитивање пролиферативне активности тумора користили смо нуклеарни пролиферативни антиген Ki67, а за идентификацију новостворених крвних судова у тумору користили смо CD105 (ендоглин).

#### Извођење рутинске HE-методе

После депарафинизација у ксилолу и хидратације у опадајућем реду алкохола исечци су бојени *Hematoxylinom* по *Mayer*-у, просветљавани у 2% раствору еозина, затим дехидратисани, просветљавани и монтирани на плочице са *Canada balsamom*.

#### Извођене имунохистохемијску АБЦ комплексне методе

После депарафинизације узорака примењена је имунохистохемијска метода, која подразумева демаскирање антигена, блокирање ендогене пероксидазе, инкубирање препарата са примарним антисерумом и поступак извођења саме методе (*Hsu*, 1981) као и развијање реакције у одговарајућем хромогену.

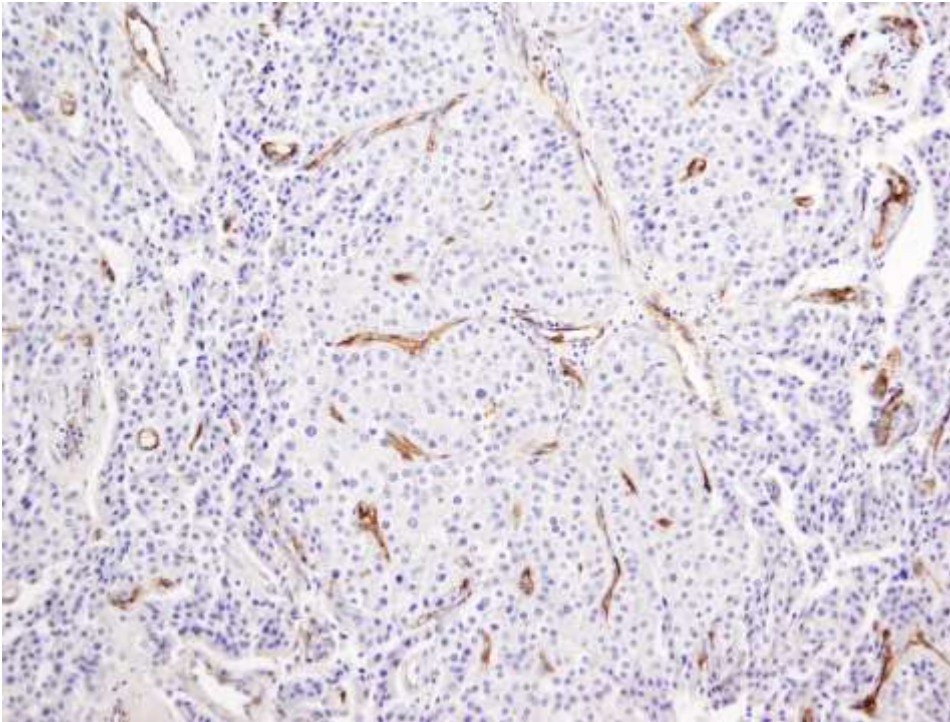
Познато је да дуготрајна фиксација у формалину може да маскира антигене и самим тим да умањи ефекат специфичног бојења. Поступком демаскирања антигена постиже се обнављање примарне структуре антигена. Ово се постиже излагањем ткива високој температури било у воденом купатилу или у микроталасној пећници. Након демаскирања антигена радили смо блокирање ендogene пероксидазе 3% воденим раствором  $H_2O_2$ , на собној температури у влажној комори у трајању од 30 минута. Затим је следило наношење примарног антитета (анти Ki67 и анти CD 105 антители) и његова инкубација у трајању од 1 часа, у влажној комори. Затим смо ABC комплексном методом (Vectastain-kit) у ткиву визуализовали експресију пролиферативног антигена Ki67 и експресију ендоглина.

ABC-complex метода користи авидин-биотин комплексну тростепену технику у којој биотинизирано секундарно антители реагује са авидинским молекулима коњугованих пероксидазом. На авидину се налазе четири везујућа места за биотин. Биотинизација је процес у току кога се биотин ковалентно везује за антители. Поступак смо завршили инкубацијом ткива у мешавини супстрат-хромогена (DAВ-хромоген) у трајању од 5 минута, на собној температури.

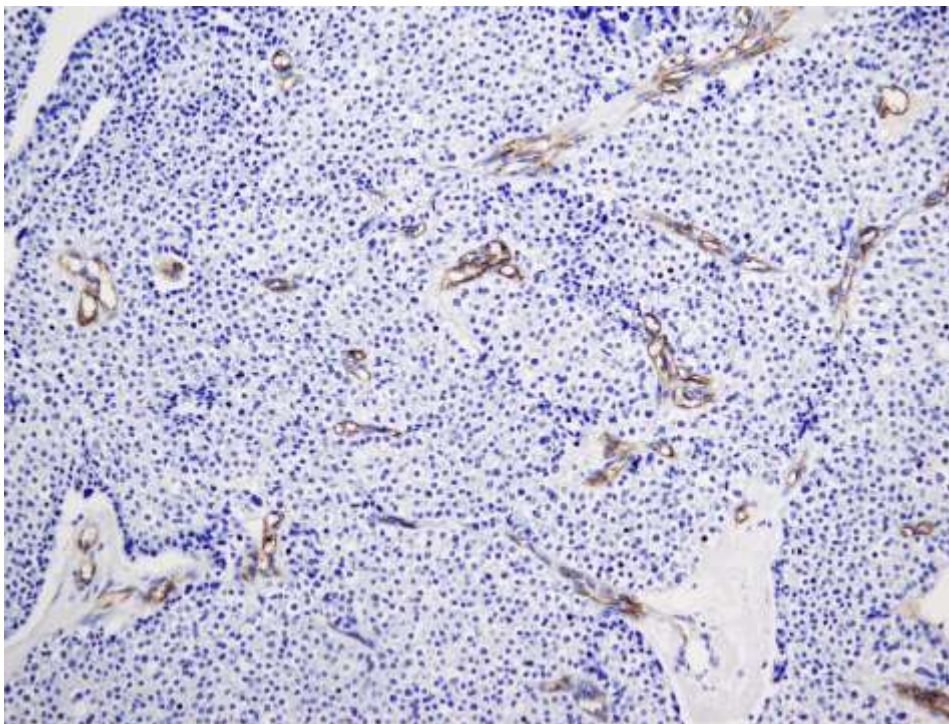
Као растварач антисерума и средство за испирање између различитих фаза имунохистохемијску процедуре користили смо 0,1 М фосфатни пуфер рН 7,4. Ћелијска једра су се бојила Mayer-овим хематоксилином.

За процену степена ангиогенезе рађена је квантитативна анализа, мерењем густине интратуморске микроциркулације (MVD), бројањем крвних судова у зони са њиховом највећом густином („врुће тачке“). О величини видног поља и начину бројања користити смо упутства Weidner-а и сарадника (1992). У резултате су убројани комплетни крвни судови, трачци ендотелних ћелија и појединачне ендотелне ћелије. Након добијених података о броју крвних судова за сваког пацијента, израчуната је медијана у односу на коју су испитаници били подељени у две групе: пацијенти са ниским степеном ангиогенезе (број крвних судова у туморском ткиву мањи или једнак вредности медијане) и болесници са високим степеном ангиогенезе (број крвних судова у туморском ткиву већи од вредности медијане).

За евалуацију експресије Ki67 узимала се у обзир само пребојеност једара, а за одређивање густине Ki67 позитивних ћелија по ареи површине у  $mm^2$ , коришћен је вишенаменски тестни систем M42 по Weibel-у. Објективним микрометром (Reichert Wien 2 mm/200) калибрисан је тестни систем на микроскопу Olympus BH-2, на увећању 400 (10 окулар x 40 објектив), при чему је одређено мерно поље од  $0,016 mm^2$ . За испитивање густине Ki67 позитивних ћелија/ $mm^2$  бројано је сукцесивно по 10 „врућих тачака“. Апсолутна вредност густине позитивних ћелија у „врућој тачки“ одређивана је стереометријски. Аритметичка средина добијених вредности „врућих тачака“ представља коначан број Ki67 позитивних ћелија у  $mm^3$  за случај. Затим је одређена медијана и испитаници су подељени у две групе: они са ниским степеном експресије (вредности мање или једнаке вредностима медијане) и они са високим степеном експресије (вредности веће од вредности медијане). Из апсолутно одређених вредности пролиферативног антигена Ki67 у односу на одступање од медијане добијен је индекс пролиферације. Експресија наведених маркера евалуирана је од стране два независна истраживача (патолога).

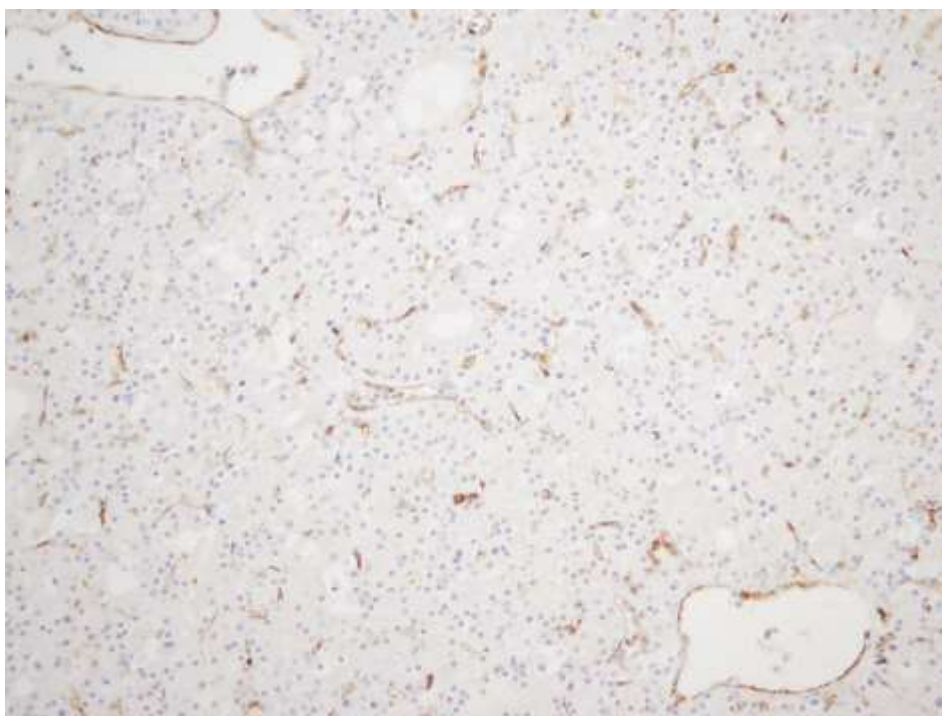


**Слика 12** – Имунохистохемијско бојење (ИНН ) CD105 код паратиroidног карцинома (PC) (H&E; x 20)

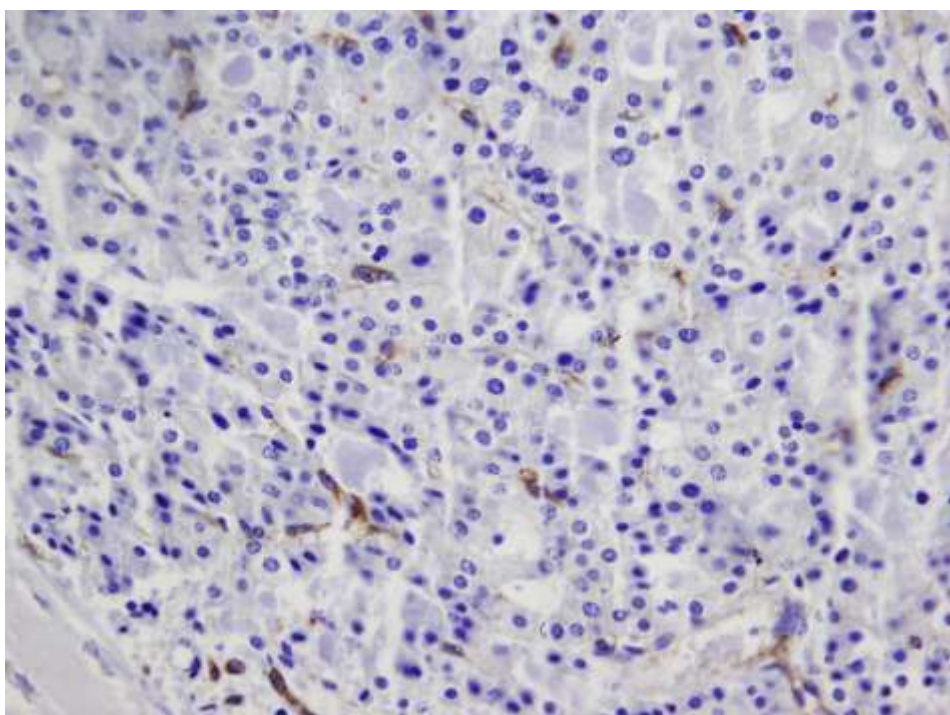


**Слика 13** – Имунохистохемијско бојење (ИНН ) CD105 код паратиroidног карцинома (PC) (H&E; x 20)

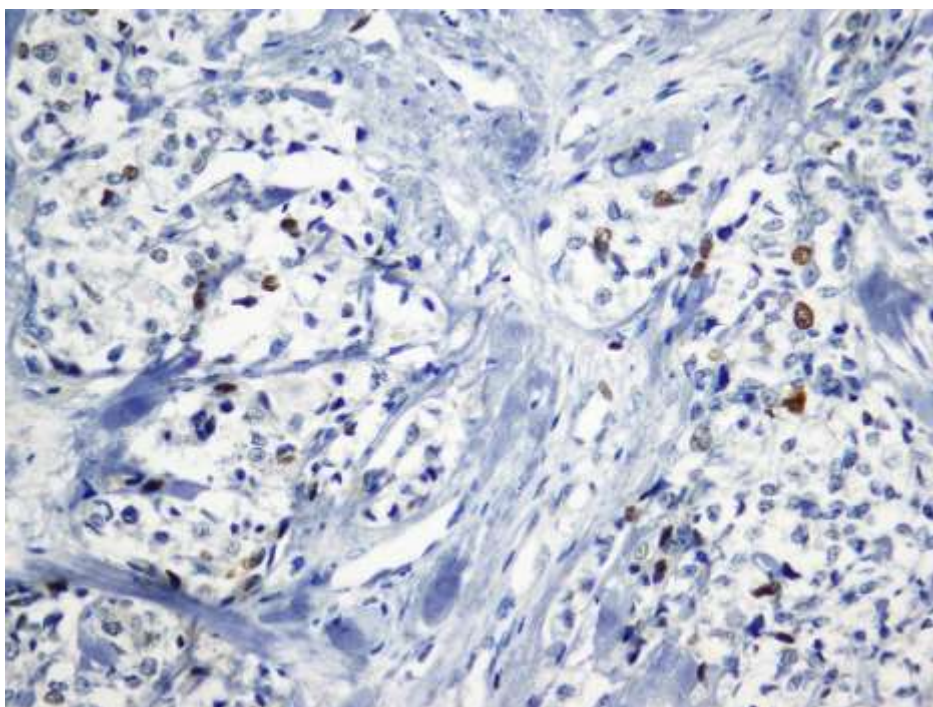




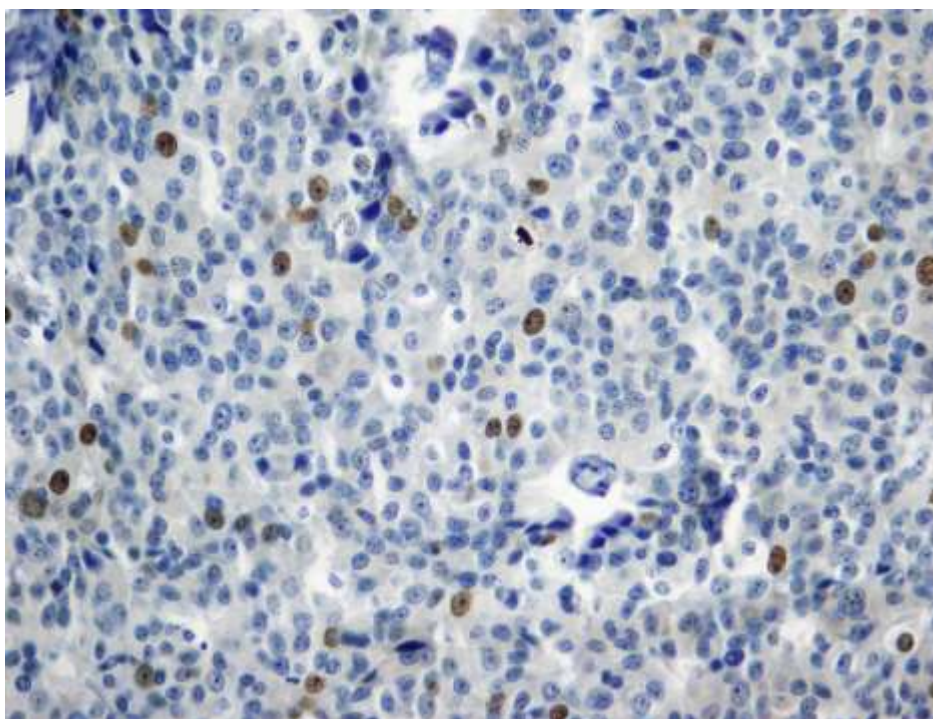
**Слика 14** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ ) CD105 код паратиroidног аденома (H&E; x 20)



**Слика 15** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ ) CD105 код паратиroidног аденома (H&E; x 40)

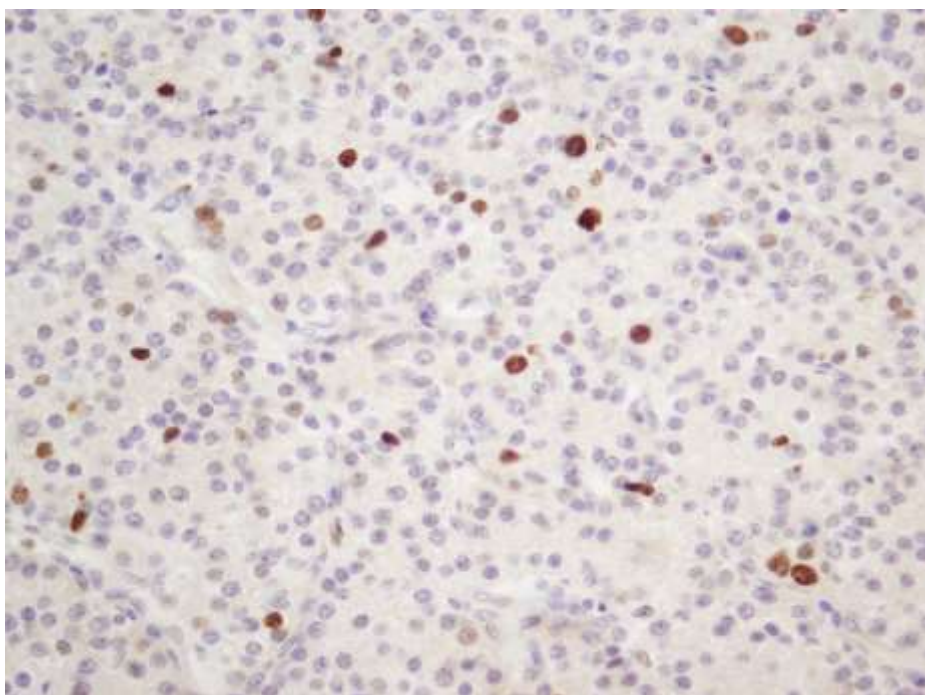


**Слика 16** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ ) Ки67 код паратиroidног карцинома (H&E; x 40)

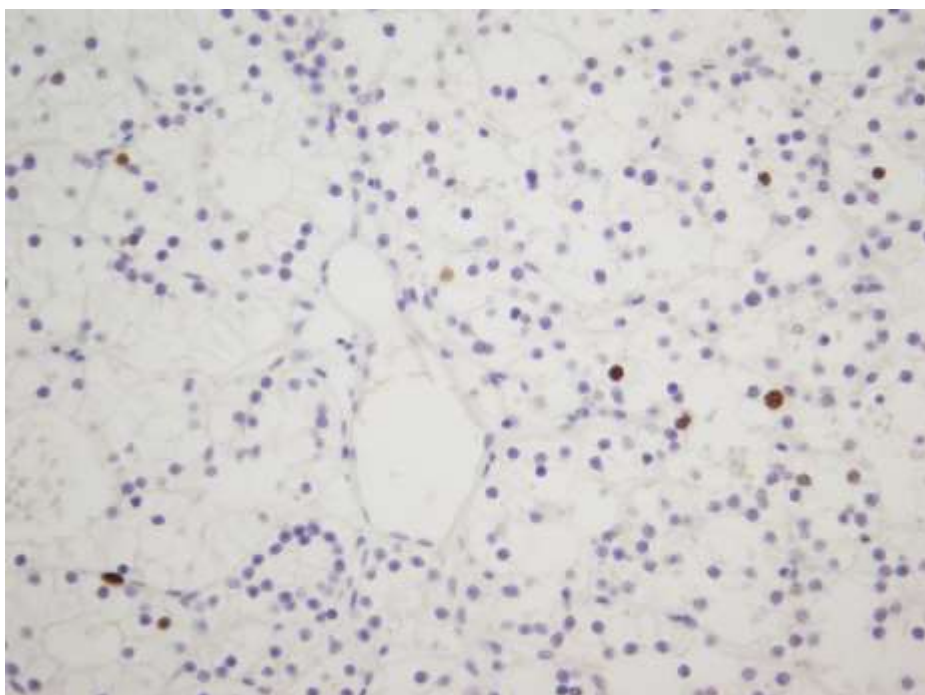


**Слика 17** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ ) Ки67 код паратиroidног карцинома. (H&E; x 40)





**Слика 18** – Имунохистохемијско бојење (ИНН) Ки67 код паратиroidног аденома (H&E; x 40)



**Слика 19** – Имунохистохемијско бојење (ИНН) Ки67 код паратиroidног аденома (H&E; x 40)

## Статистички методи

У циљу анализе података прикупљених клиничким истраживањем формирана је база података у статистичком програму SPSS15 помоћу којег су подаци и анализирани. Примењени су методи дескриптивне статистике (фреквенције, проценти, средње вредности и мере варијабилитета). Од аналитичких статистичких метода коришћени су: Smirnov test, Shapiro-Wilk test, Student-ов t-test, једнофакторска анализа варијансе, анализа варијансе за поновљена мерења,  $\chi^2$  test, Mann-Whitney U тест, Wilcoxon-ов тест еквивалентних парова, Fisher-ов тест тачне вероватноће, ROC анализа, једнострука линеарна корелација и вишеструка линеарна регресија.

Резултати су приказани табеларно и графички.

#### 4. РЕЗУЛТАТИ

Студијом је обухваћено укупно 50 пацијената оболелих од примарног хиперпаратироидизма, 10 пацијената са паратироидним карцином и 40 пацијената са аденомом. Контролну групу чини 10 нормалних паратироидних жлезда (Табела 2).

Мушког пола је 17 особа (28,3%), а 43 особе су женског (71,7%) (Табела 3, Графикон 1), од 15 до 77 година (Табела 5).

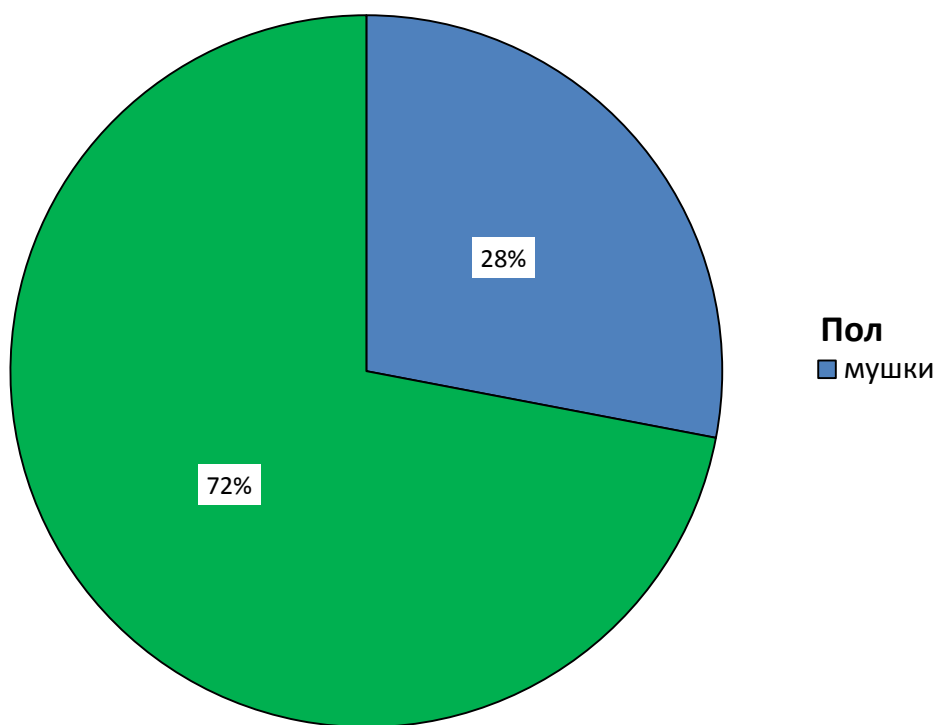
|             | N  | %     |
|-------------|----|-------|
| Карцином    | 10 | 16.7  |
| Аденом      | 40 | 66.7  |
| Нормална ПЖ | 10 | 16.7  |
| Укупно      | 60 | 100.0 |

Табела 2 – Дистрибуција испитаника по дијагнози

|        | N  | %     |
|--------|----|-------|
| мушки  | 17 | 28.3  |
| женски | 43 | 71.7  |
| укупно | 60 | 100.0 |

Табела 3 – Дистрибуција испитаника по полу





Графикон 1 – Структура испитаника по полу

|           |             |   | Пол   |        | Укупно |
|-----------|-------------|---|-------|--------|--------|
|           |             |   | мушки | женски |        |
| Дијагноза | Карцином    | N | 6     | 4      | 10     |
|           |             | % | 60.0% | 40.0%  | 100.0% |
|           | Аденом      | N | 10    | 30     | 40     |
|           |             | % | 25.0% | 75.0%  | 100.0% |
|           | Нормална ПЖ | N | 1     | 9      | 10     |
|           |             | % | 10.0% | 90.0%  | 100.0% |
| Свега     |             | N | 17    | 43     | 60     |
|           |             | % | 28.3% | 71.7%  | 100.0% |

Табела 4 – Дистрибуција испитаника по полу у односу на дијагнозу

|           |             | Године живота у време операције |           |       |       |       |       |
|-----------|-------------|---------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
|           |             | N                               | $\bar{x}$ | SD    | Med   | Min   | Maks  |
| Дијагноза | Карцином    | 10                              | 53.00     | 14.17 | 53.50 | 33.00 | 76.00 |
|           | Аденом      | 40                              | 54.30     | 12.28 | 55.50 | 15.00 | 77.00 |
|           | Нормална ПЖ | 10                              | 45.70     | 12.88 | 43.50 | 23.00 | 64.00 |
|           | Укупно      | 60                              | 52.65     | 12.87 | 53.50 | 15.00 | 77.00 |

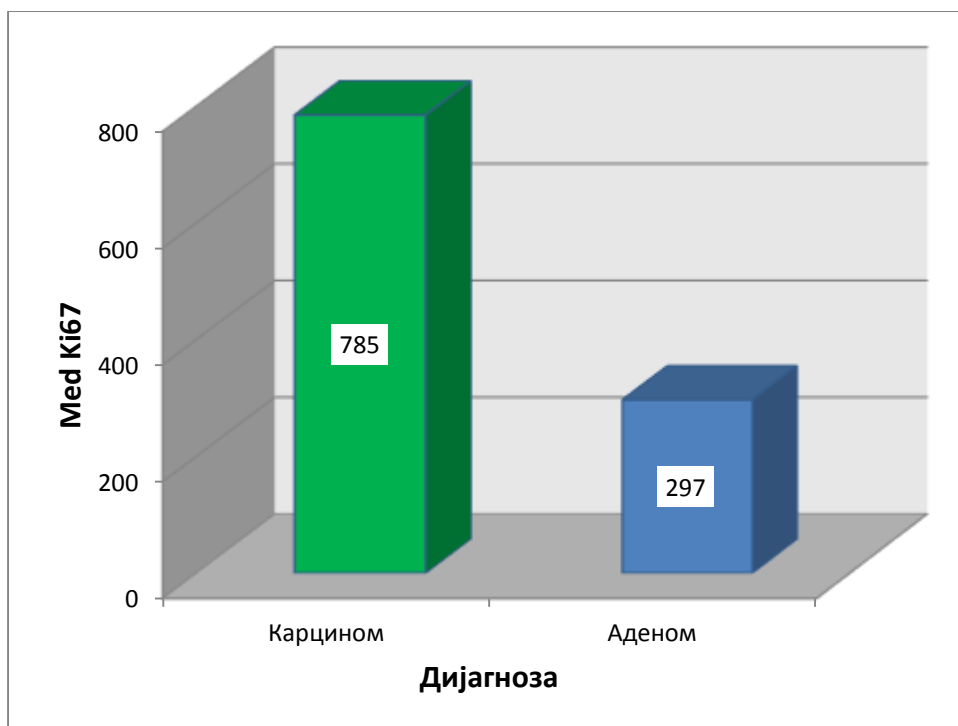
**Табела 5** – Старост испитаника у испитиваним групама

Једнофакторска анализом варијансе није добијена статистички значајна разлика у старости испитаника између испитиваних група ( $F = 1.841$ ;  $p = 0.168$ ).

|           |          | Ki67 |           |        |        |        |         |
|-----------|----------|------|-----------|--------|--------|--------|---------|
|           |          | N    | $\bar{x}$ | SD     | Med    | Min    | Maks    |
| Дијагноза | Карцином | 10   | 1024.27   | 564.19 | 785.15 | 523.43 | 2069.95 |
|           | Аденом   | 40   | 334.66    | 161.71 | 297.41 | 130.86 | 713.77  |
|           | Укупно   | 50   | 472.58    | 396.13 | 374.73 | 130.86 | 2069.95 |

**Табела 6** – Вредности Ki67 у односу на дијагнозу

Из Табеле 6 и Графикона 2 се види да су вредности Ki67 биле веће у групи пацијената са карциномом (медијана = 785.15) него у групи пацијената са аденомом (медијана = 297.41). *Mann-Whitney U* тестом добијена је високо статистички значајна разлика између група ( $U = 10.50$ ;  $Z = 4.598$ ;  $p < 0.001$ ).

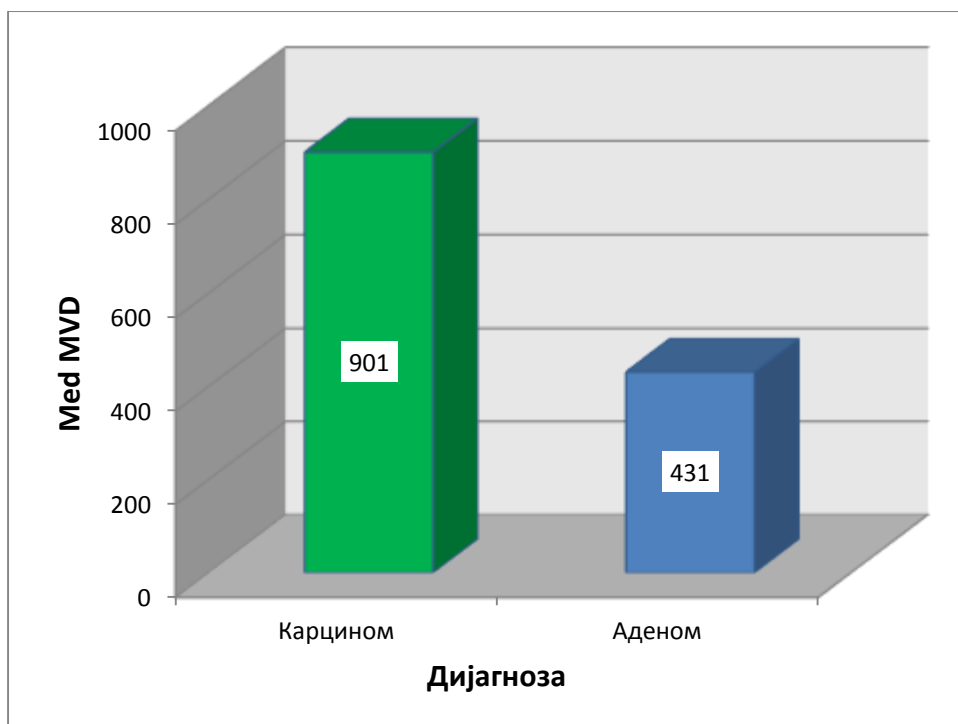


Графикон 2 – Вредности у Ки67 односу на дијагнозу

|           |          | MVD |           |        |        |        |          |
|-----------|----------|-----|-----------|--------|--------|--------|----------|
|           |          | N   | $\bar{x}$ | SD     | Med    | Min    | Maks     |
| Дијагноза | Карцином | 10  | 830.36    | 224.06 | 901.14 | 410.42 | 1.017.13 |
|           | Аденом   | 40  | 447.22    | 211.63 | 431.24 | .00    | 773.26   |
|           | Укупно   | 50  | 523.85    | 262.36 | 499.64 | .00    | 1.017.13 |

Табела 7 – Вредности MVD у односу на дијагнозу

Из Табеле 7 и Графикона 3 се види да су вредности MVD биле веће у групи пацијената са карциномом (медијана = 901.14) него у групи пацијената са аденомом (медијана = 431.24). *Mann-Whitney U* тестом добијена је високо статистички значајна разлика између група ( $U = 41.50$ ;  $Z = 3.845$ ;  $p < 0.001$ ).



Графикон 3 – Вредности MVD у односу на дијагнозу

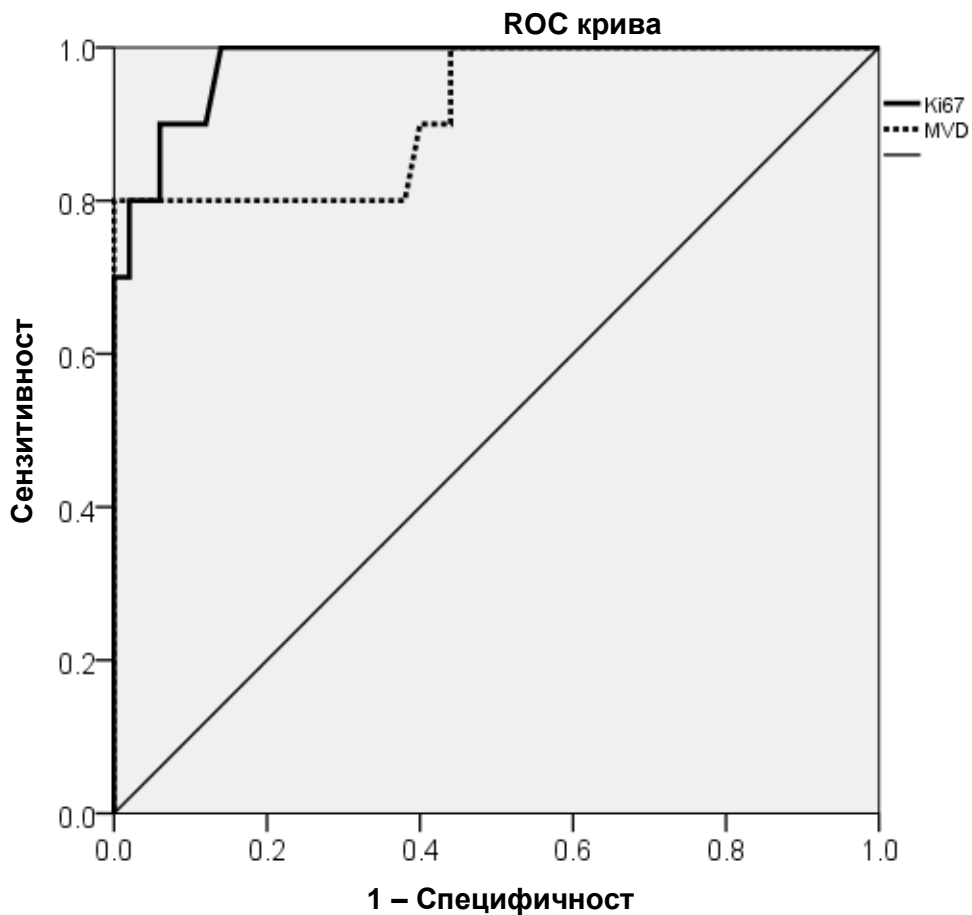
### ROC анализа за Ki67 и MVD

У испитивању предиктивне вредности Ki67 и MVD за дијагнозу карцинома користили смо ROC анализа.

ROC крива је приказана на Графикону 4 и из ње се може видети да оба маркера имају добру предиктивну вредност за дијагнозу карцинома.

| Варијабле | Површина испод криве | SE   | p    | 95% Интервал поверења |               |
|-----------|----------------------|------|------|-----------------------|---------------|
|           |                      |      |      | доња граница          | горња граница |
| Ki67      | .979                 | .016 | .000 | .947                  | 1.000         |
| MVD       | .917                 | .055 | .000 | .809                  | 1.000         |

Табела 8 – Површине испод ROC кривих за Ki67



Графикон 4 – ROC криве за Ki67 и MVD

|               |                           |                           |
|---------------|---------------------------|---------------------------|
| Ki67 > 511.54 | Sn = 100,0 (69.0 – 100.0) | Sp = 86.0 (73.3 – 94.2)   |
| MVD > 773.26  | Sn = 80,0 (44.4 – 96.9)   | Sp = 100.0 (92.8 – 100.0) |

Површина испод криве за Ki67 је високо статистички значајна и износи 0.979;  $p < 0,001$ , што говори да болесник са карциномом има 97,9% већу шансу да има повишену вредност Ki67 него особа која нема карцином. За граничну вредност Ki67 = 511.54 сензитивност је 100% а специфичност 86%. На основу ових резултата може се закључити да вредности Ki67 веће од 511.54 са великом вероватноћом указују на карцином.

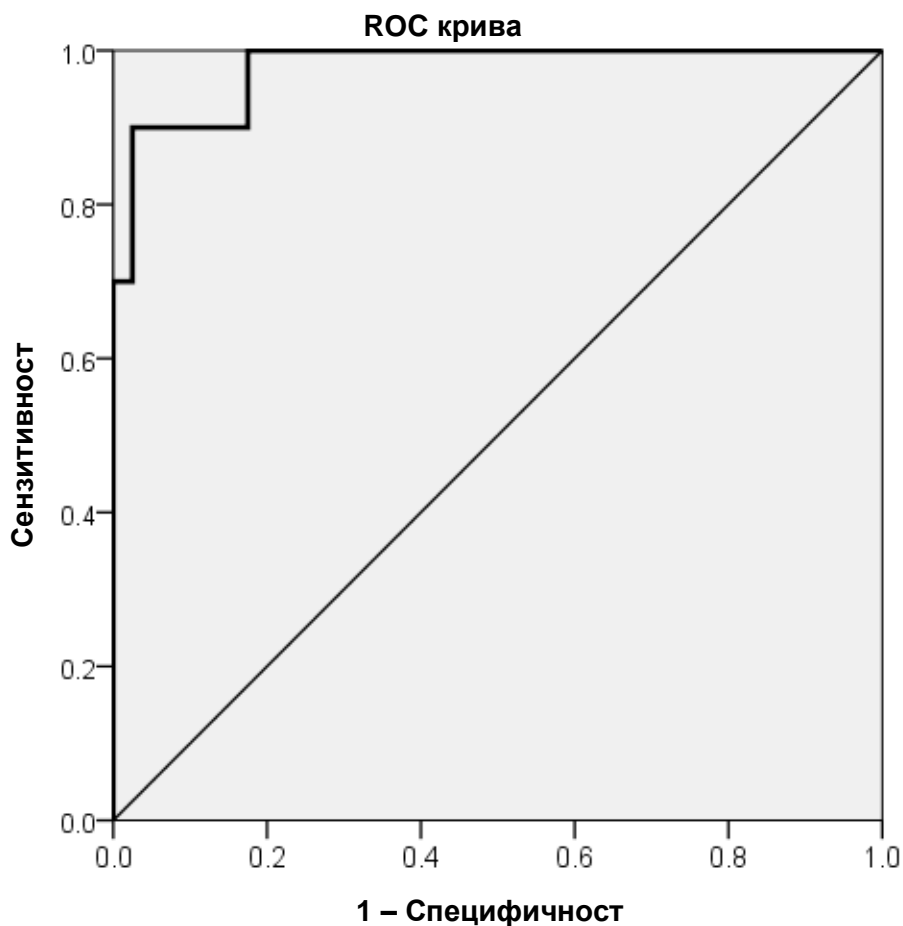
Површина испод криве за MVD је нешто мања за MVD и такође је високо статистички значајна и износи 0.917;  $p < 0.001$  на основу чега можемо рећи да болесник са карциномом има 91,7% већу шансу да има повишену вредност MVD него особа која нема карцином. За граничну вредност MVD = 773.26 сензитивност је 80% а специфичност 100%. Вредности MVD веће од 773.26 указују на карцином.

## ROC анализа за РТН преоперативно

| Површина | SE   | p    | 95% Интервал поверења |               |
|----------|------|------|-----------------------|---------------|
|          |      |      | доња граница          | горња граница |
| .978     | .020 | .000 | .939                  | 1.000         |

Табела 9 – Површина испод криве за РТН преоперативно

Површина испод криве за РТН преоперативно је високо статистички значајна и износи 0.978;  $p < 0.001$ , што указује да болесник са карциномом има 97,9% већу шансу да има повишену вредност РТН преоперативно него болесник са аденомом.



Графикон 5 – ROC крива за РТН преоперативно

РТН > 768                      Sn = 90.0 (55.5.0 – 98.3.0)    Sp = 97.5 (86.6 – 99.6)

За граничну вредност РТН преоперативно од 768 сензитивност је 80%, а специфичност 100%. Вредности РТН веће од 768 указују на карцином.

## ROC анализа за калцијум преоперативно

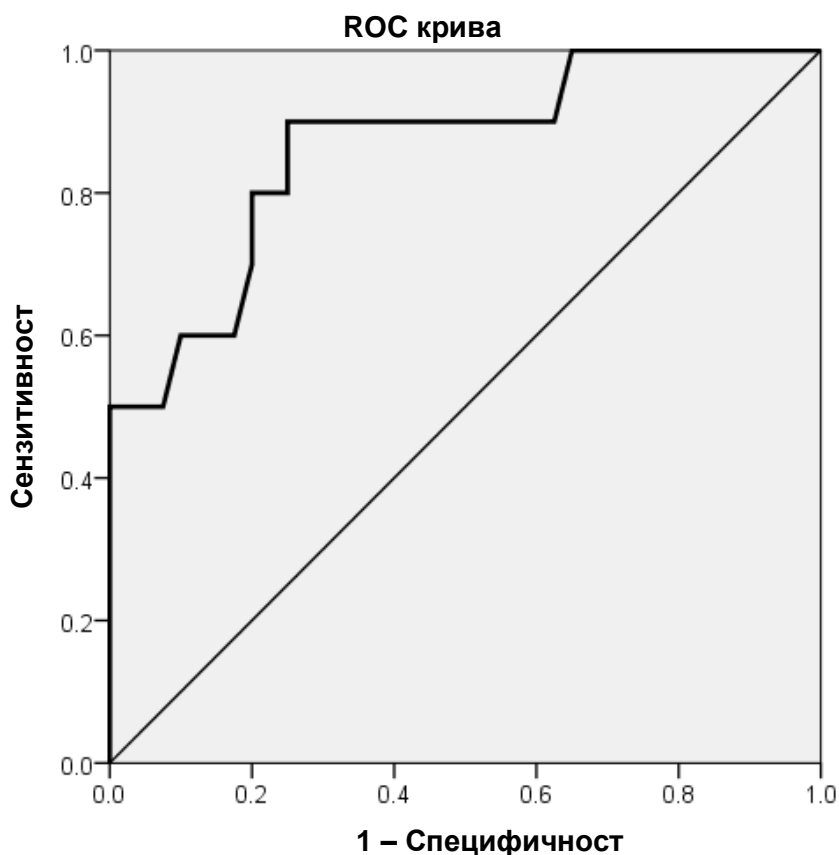
| Површина | SE   | p    | 95% Интервал поверења |               |
|----------|------|------|-----------------------|---------------|
|          |      |      | доња граница          | горња граница |
| .864     | .067 | .000 | .733                  | .995          |

Табела 10 – Површина испод криве за калцијум преоперативно

Површина испод криве за калцијум преоперативно је високо статистички значајна и износи 0.864;  $p < 0.001$ , што указује да болесник са карциномом има 86,4% већу шансу да има повишену вредност калцијума преоперативно него болесник са аденомом.

$$Ca > 2.555 \quad Sn = 0.90 \quad Sp = 0.75$$

За граничну вредност калцијума преоперативно од 2.555 сензитивност је 90%, а специфичност 75%. Вредности калцијума преоперативно веће од 2.555 указују на карцином.



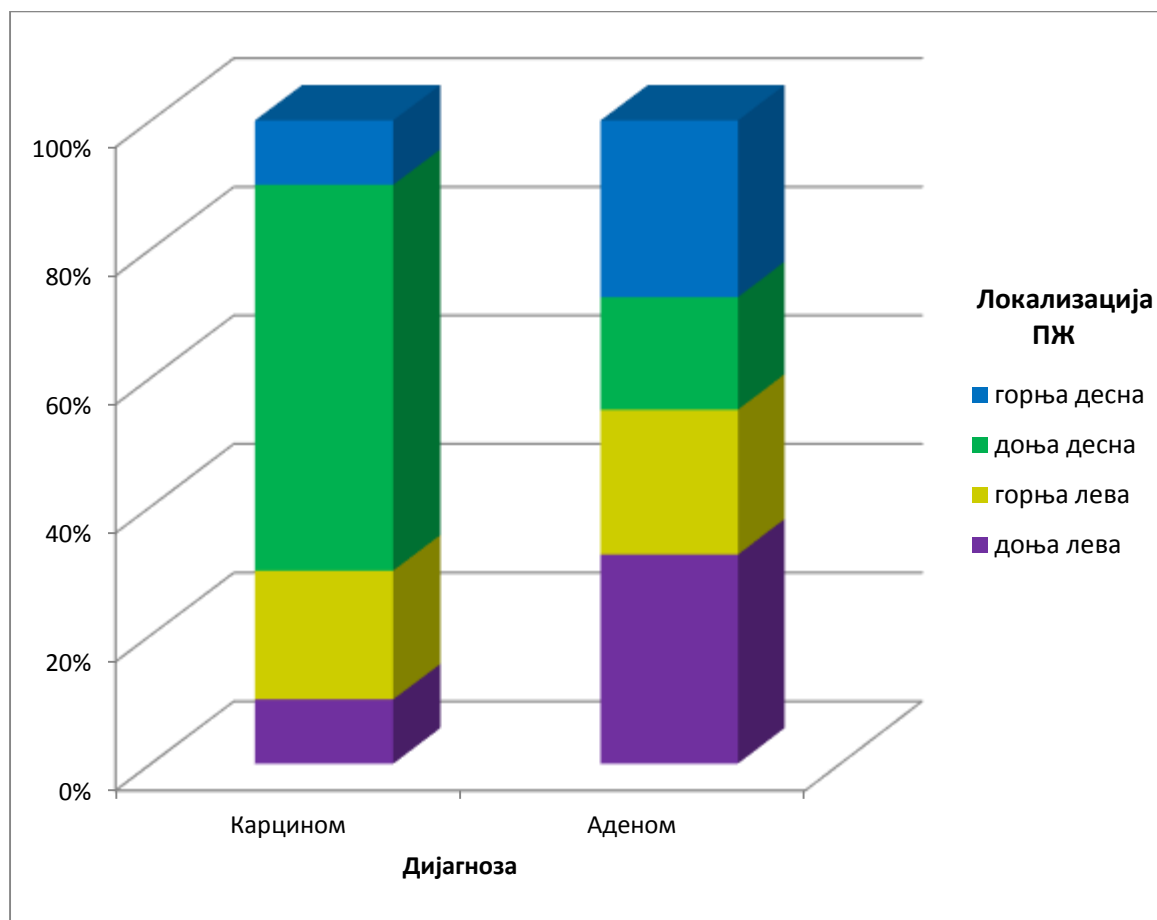
Графикон 6 – ROC крива за калцијум преоперативно

|                    |             |   | Дијагноза |        | Укупно |
|--------------------|-------------|---|-----------|--------|--------|
|                    |             |   | Карцином  | Аденом |        |
| Локализација<br>ПЖ | горња десна | N | 1         | 11     | 12     |
|                    |             | % | 10.0%     | 27.5%  | 24.0%  |
|                    | доња десна  | N | 6         | 7      | 13     |
|                    |             | % | 60.0%     | 17.5%  | 26.0%  |
|                    | горња лева  | N | 2         | 9      | 11     |
|                    |             | % | 20.0%     | 22.5%  | 22.0%  |
|                    | доња лева   | N | 1         | 13     | 14     |
|                    |             | % | 10.0%     | 32.5%  | 28.0%  |
| Свега              |             | N | 10        | 40     | 50     |
|                    |             | % | 100.0%    | 100.0% | 100.0% |

**Табела 11** – Дистрибуција болесника по локализацији ПЖ у односу на дијагнозу

У највећем броју случајева (60%) карцином је био локализован у пределу доње десне параштитасте жлезде, потом горње леве (20%), а у истом проценту у пределу горње десне и доње леве (10%).

Код 13 случајева аденом је био локализован у пределу доње леве (32.5%), затим горње десне (27.5%), горње леве (22.5%), а најређе у пределу доње десне (17.5 %) параштитасте жлезде (Табела 11, Графикон 7).



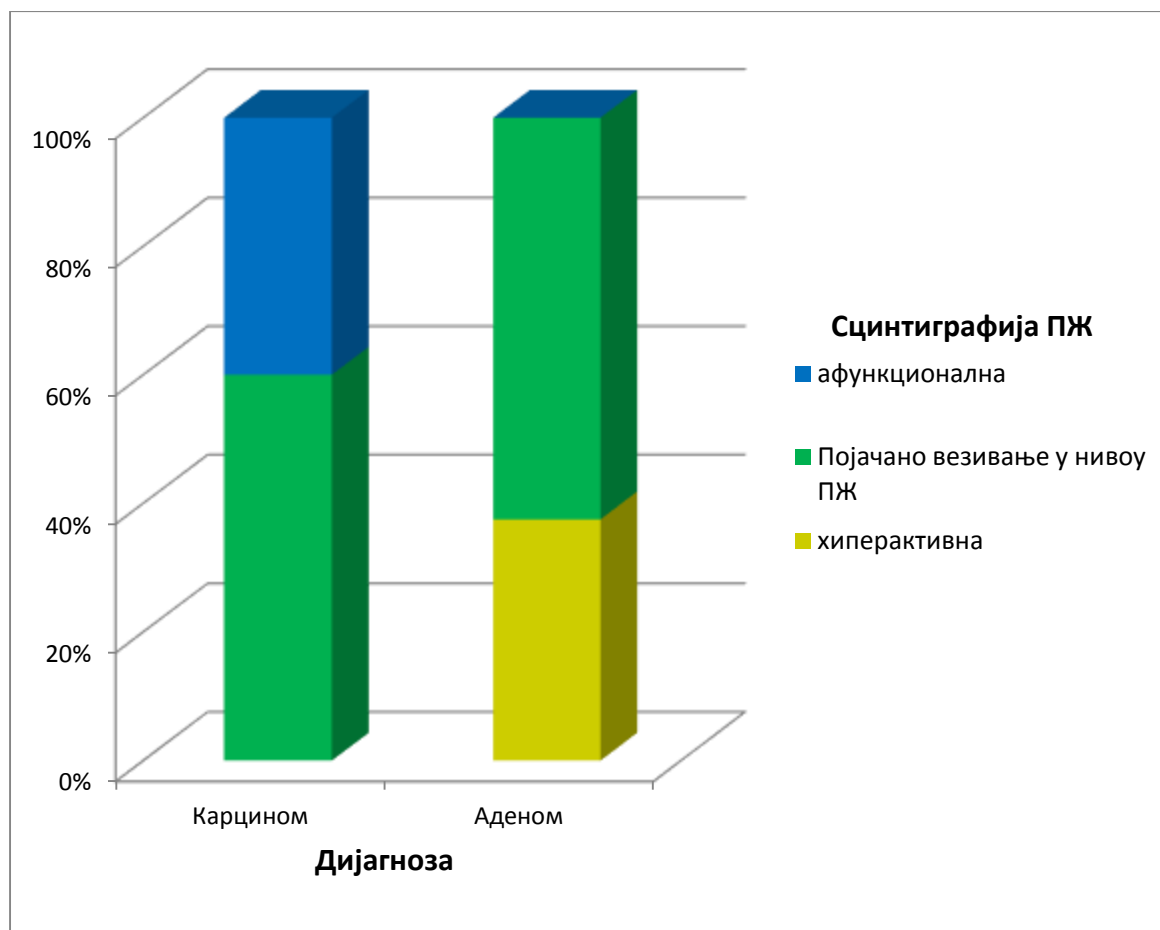
**Графикон 7** – Структура болесника по локализацији ПЖ у односу на дијагнозу



|                  |                              |   | Дијагноза |        | Укупно |
|------------------|------------------------------|---|-----------|--------|--------|
|                  |                              |   | Карцином  | Аденом |        |
| Сцинтиграфија ПЖ | афункционална                | N | 4         | 0      | 4      |
|                  |                              | % | 40.0%     | 0.0%   | 8.0%   |
|                  | појачано везивање у нивоу ПЖ | N | 6         | 25     | 31     |
|                  |                              | % | 60.0%     | 62.5%  | 62.0%  |
|                  | хиперактивна                 | N | 0         | 15     | 15     |
|                  |                              | % | 0.0%      | 37.5%  | 30.0%  |
| Свега            |                              | N | 10        | 40     | 50     |
|                  |                              | % | 100.0%    | 100.0% | 100.0% |

**Табела 12** – Дистрибуција болесника по сцинтиграфија ПЖ у односу на дијагнозу

Из Табеле 12 и Графикана 8 јасно видимо да је највећи број тумора паратироиде описан на сцинтиграфији као појачано везивање у новоу параштитасте жлезде (62%).



**Графикон 8** – Структура болесника по сцинтиграфија ПЖ у односу на дијагнозу

| Дијагноза          |          | Kolmogorov-Smirnov |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------------------|----------|--------------------|----|------|--------------|----|------|
|                    |          | Статистика         | DF | p    | Статистика   | DF | p    |
| РТН преоперативно  | Карцином | .143               | 10 | .200 | .949         | 10 | .652 |
|                    | Аденом   | .248               | 40 | .000 | .689         | 40 | .000 |
| РТН постоперативно | Карцином | .243               | 10 | .098 | .764         | 10 | .005 |
|                    | Аденом   | .158               | 40 | .013 | .886         | 40 | .001 |

Табела 13 – Резултати тестова нормалности расподеле вредности РТН

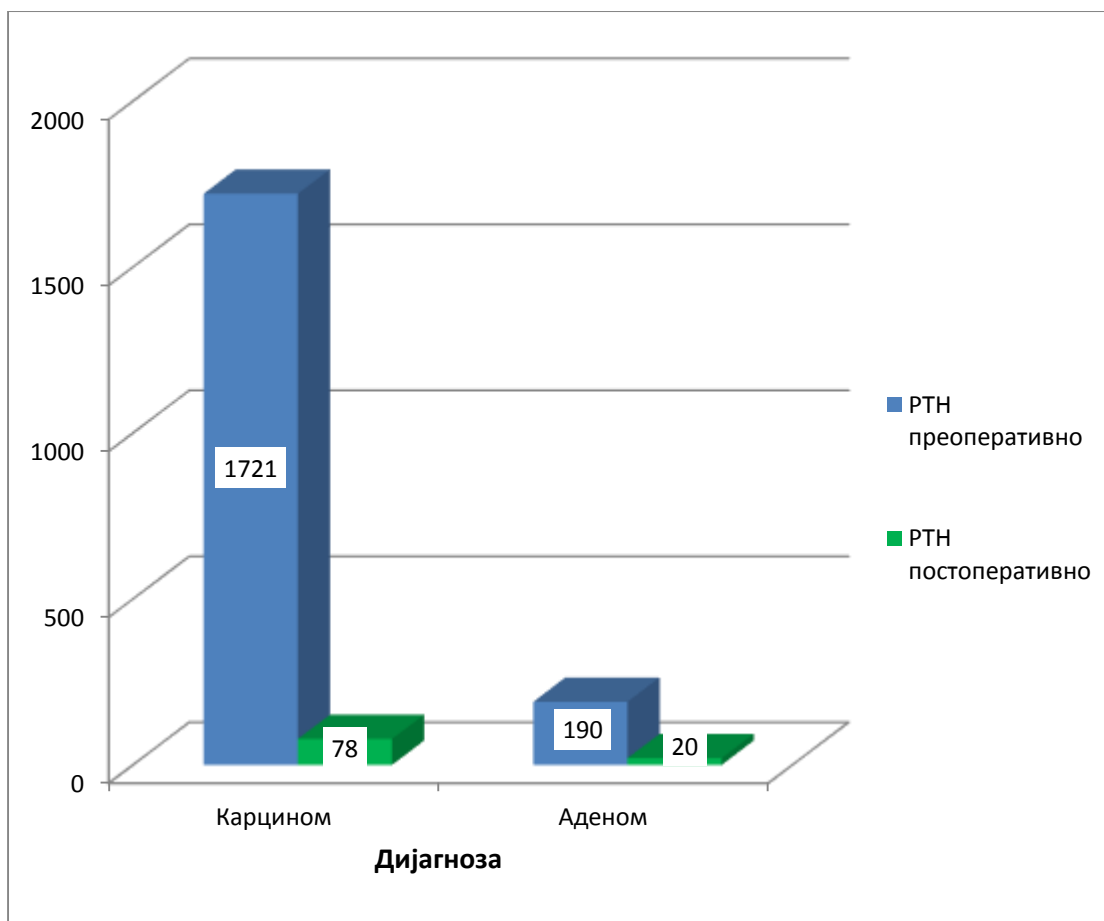
|           |          |      | РТН преоперативно | РТН постоперативно |
|-----------|----------|------|-------------------|--------------------|
| Дијагноза | Карцином | N    | 10                | 10                 |
|           |          |      | 1824.02           | 105.84             |
|           |          | SD   | 861.47            | 99.02              |
|           |          | Med  | 1721.00           | 78.20              |
|           |          | Min  | 400.00            | 5.00               |
|           |          | Maks | 3000.00           | 362.87             |
|           | Аденом   | N    | 40                | 40                 |
|           |          |      | 266.04            | 24.34              |
|           |          | SD   | 235.75            | 20.18              |
|           |          | Med  | 189.50            | 19.50              |
|           |          | Min  | 83.00             | .45                |
|           |          | Maks | 1311.00           | 87.00              |

Табела 14 – Вредности РТН преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу

Вредности РТН преоперативно и постоперативно значајно одступају од нормалне расподеле (Табела 13) па је тестирање значајности разлике вредности РТН преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу вршено непараметарским тестовима.

*Mann-Whitney U* тестом добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима РТН преоперативно између групе болесника са карциномом и групе болесника са аденомом ( $U = 9.00$ ;  $Z = 4.361$ ;  $p < 0.001$ ). Веће вредности РТН преоперативно (Табела 14 и Графикон 9) биле су у групи болесника са карциномом (медијана = 1271) него у групи пацијената са аденомом (медијана = 189.5).

*Mann-Whitney U* тестом добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима РТН постоперативно између група болесника са карциномом и болесника са аденомом ( $U = 51.00$ ;  $Z = 3.614$ ;  $p < 0.001$ ). Веће вредности РТН постоперативно биле су у групи болесника са карциномом (медијана = 78.2) него у групи пацијената са аденомом (медијана = 19.50).



**Графикон 9** – Вредности РТН преоперативно и постопераивно у односу на дијагнозу

У групи болесника са карциномима код свих болесника вредности РТН биле су ниже постопераивно него преоперативно. *Wilcoxon*-овим тестом еквивалентних парова добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима РТН преоперативно и постопераивно ( $Z = 2.803$ ;  $p = 0.005$ ). Вредности РТН постопераивно (медијана = 1721) биле су ниже него преоперативно (медијана = 78.2).

И у групи болесника са аденома код свих болесника вредности РТН биле су ниже постопераивно него преоперативно. *Wilcoxon*-овим тестом еквивалентних парова добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима РТН преоперативно и постопераивно ( $Z = 5.551$ ;  $p = 0.005$ ). Вредности РТН постопераивно (медијана = 189.5) биле су ниже него преоперативно (медијана = 19.5).

| Дијагноза        |          | Kolmogorov-Smirnov |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|------------------|----------|--------------------|----|-------|--------------|----|------|
|                  |          | Статистика         | DF | p     | Статистика   | DF | p    |
| Са преоперативно | Карцином | .223               | 10 | .173  | .901         | 10 | .227 |
|                  | Аденом   | .146               | 40 | .032  | .962         | 40 | .200 |
| Са постопераивно | Карцином | .188               | 10 | .200* | .858         | 10 | .072 |
|                  | Аденом   | .099               | 40 | .200* | .969         | 40 | .345 |

**Табела 15** – Резултати тестова нормалности расподеле вредности калцијума

Вредности калцијума преоперативно и постоперативно не одступају значајно од нормалне расподеле (Табела 15), па је тестирање значајности разлике вредности калцијума преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу вршено параметарским статистичким методима.

|           |          |      | Са преоперативно | Са постоперативно |
|-----------|----------|------|------------------|-------------------|
| Дијагноза | Карцином | N    | 10               | 10                |
|           |          |      | 3.55             | 2.31              |
|           |          | SD   | .59              | .37               |
|           |          | Med  | 3.53             | 2.27              |
|           |          | Min  | 2.78             | 1.95              |
|           |          | Maks | 4.43             | 3.13              |
|           | Аденом   | N    | 40               | 40                |
|           |          |      | 2.88             | 2.33              |
|           |          | SD   | .21              | .20               |
|           |          | Med  | 2.87             | 2.36              |
|           |          | Min  | 2.50             | 1.77              |
|           |          | Maks | 3.41             | 2.74              |

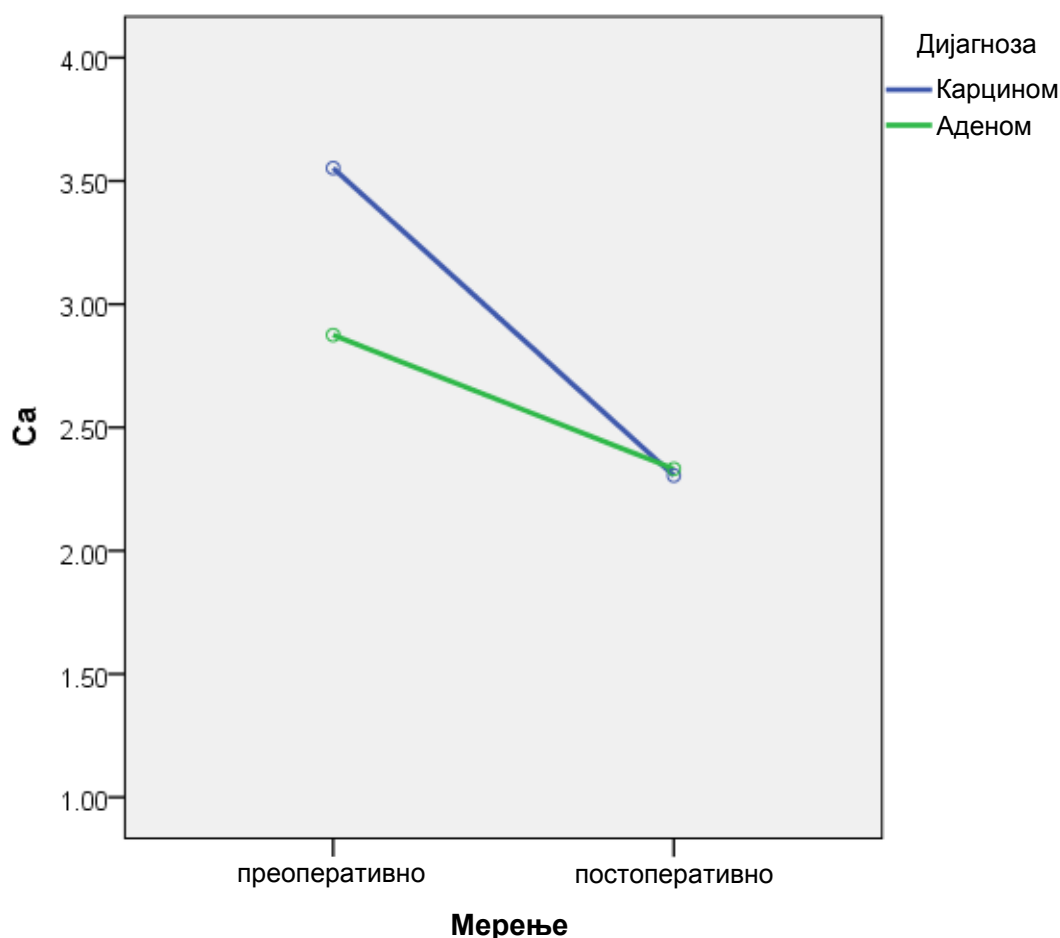
**Табела 16** – Вредности калцијума преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу

У анализи вредности калцијума преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу примењен је метод анализе варијансе за поновљена мерења у оквиру генералног линеарног модела.

Добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима калцијума по фактору мерење ( $F_{\text{мерење}} = 148.906$ ;  $p < 0,001$ ) и по фактору дијагноза ( $F_{\text{дијагноза}} = 22.800$ ;  $p < 0.001$ ) као и у интеракцији оба фактора ( $F_{\text{мерење*дијагноза}} = 23.033$ ;  $p < 0.001$ ).

Међугрупним поређењем *Sidak*-овим тестом добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима калцијума преоперативно између групе болесника са карциномом ( $\bar{x} = 3.55 \pm 0.59$ ) и групе болесника са аденомом ( $\bar{x} = 2.88 \pm 0.21$ ), ( $p < 0.001$ ) док постоперативно разлика није била статистички значајна ( $p = 0.754$ ).

Добијена је високо статистички значајна разлика између вредности калцијума пре ( $\bar{x} = 3.55 \pm 0.59$ ) и после операције ( $\bar{x} = 2.21 \pm 0.37$ ) (у групи болесника са карциномом ( $p < 0,001$ ), и у групи болесника са аденомом, преоперативно ( $\bar{x} = 2.88 \pm 0.21$ ), постоперативно ( $\bar{x} = 2.33 \pm 0.20$ ) ( $p < 0.001$ ).



Графикон 10 – Вредности калцијума преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу

| Дијагноза          |          | Kolmogorov-Smirnov |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------------------|----------|--------------------|----|------|--------------|----|------|
|                    |          | Статистика         | DF | p    | Статистика   | DF | p    |
| PO4 преоперативно  | Карцином | .198               | 10 | .200 | .827         | 10 | .031 |
|                    | Аденом   | .063               | 40 | .200 | .978         | 40 | .634 |
| PO4 постоперативно | Карцином | .197               | 10 | .200 | .965         | 10 | .843 |
|                    | Аденом   | .097               | 40 | .200 | .976         | 40 | .536 |

Табела 17 – Резултати тестова нормалности расподеле PO4

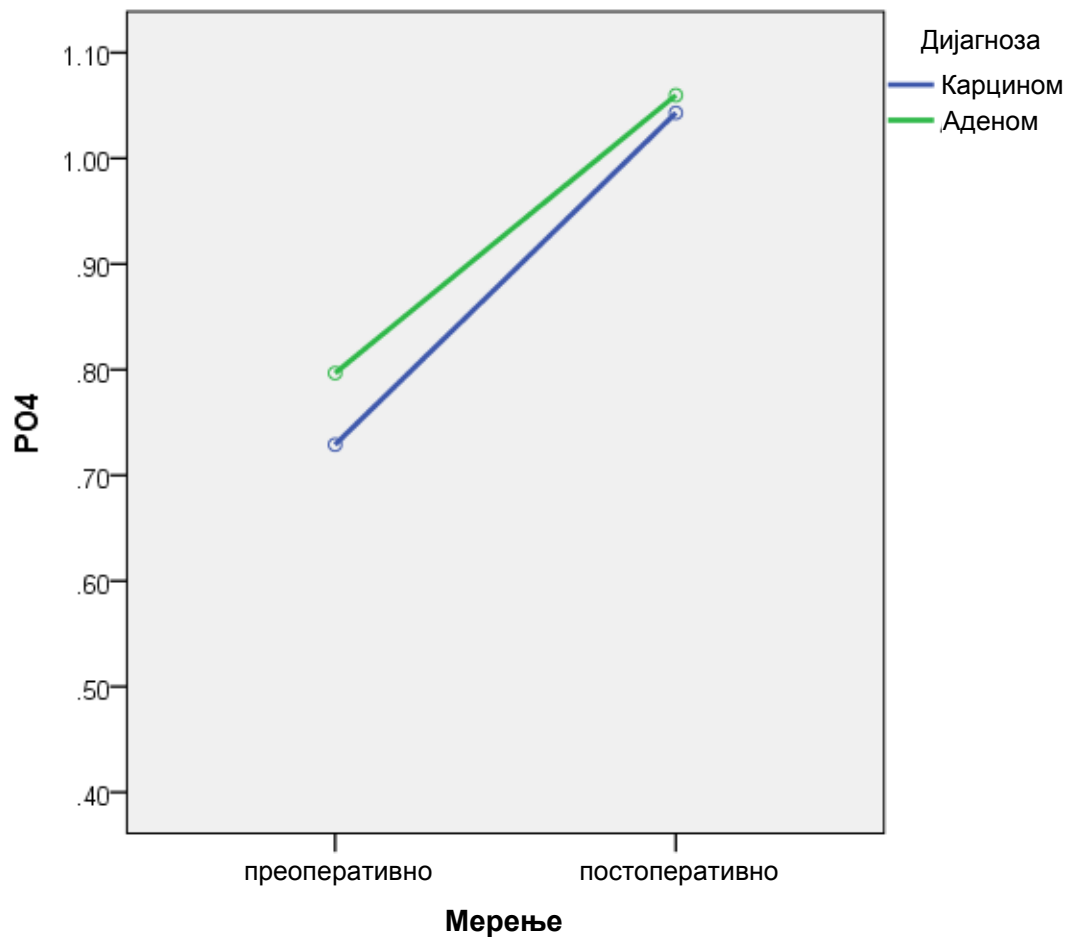
Вредности PO4 преоперативно и постоперативно не одступају значајно од нормалне расподеле (Табела 17), па је тестирање значајности разлике вредности PO4 преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу вршено параметарским статистичким методама.

|           |          |           | PO4 преоперативно | PO4 постоперативно |
|-----------|----------|-----------|-------------------|--------------------|
| Дијагноза | Карцином | N         | 10                | 10                 |
|           |          | $\bar{x}$ | .73               | 1.04               |
|           |          | SD        | .34               | .34                |
|           |          | Med       | .68               | .95                |
|           |          | Min       | .40               | .54                |
|           |          | Maks      | 1.57              | 1.64               |
|           | Аденом   | N         | 40                | 40                 |
|           |          | $\bar{x}$ | .80               | 1.06               |
|           |          | SD        | .18               | .24                |
|           |          | Med       | .80               | 1.09               |
|           |          | Min       | .44               | .64                |
|           |          | Maks      | 1.35              | 1.68               |

**Табела 18** – Вредности PO4 преоперативно и постопераативно у односу на дијагнозу

Анализом варијансе за поновљена мерења добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима PO4 по фактору мерење ( $F_{\text{мерење}} = 50.965$ ;  $p < 0.001$ ), док по фактору дијагноза ( $F_{\text{дијагноза}} = 0.310$ ;  $p = 0.580$ ) као и у интеракцији оба фактора ( $F_{\text{мерење*дијагноза}} = 0.310$ ;  $p = 0.531$ ) није добијена статистички значајна разлика.

*Sidak*-овим тестом међугрупних разлика добијена је високо статистички значајна разлика у вредностима PO4 ( $\bar{x} = 0.73 \pm 0.34$ ) (и после операције  $\bar{x} = 1.04 \pm 0.34$ ) у групи болесника са карциномом ( $p < 0,001$ ) и у групи болесника са аденомом, преоперативно  $\bar{x} = 0.80 \pm 0.18$ , постоперативно  $\bar{x} = 1.06 \pm 0.24$  ( $p < 0,001$ ). Вредности PO4 су порасле.



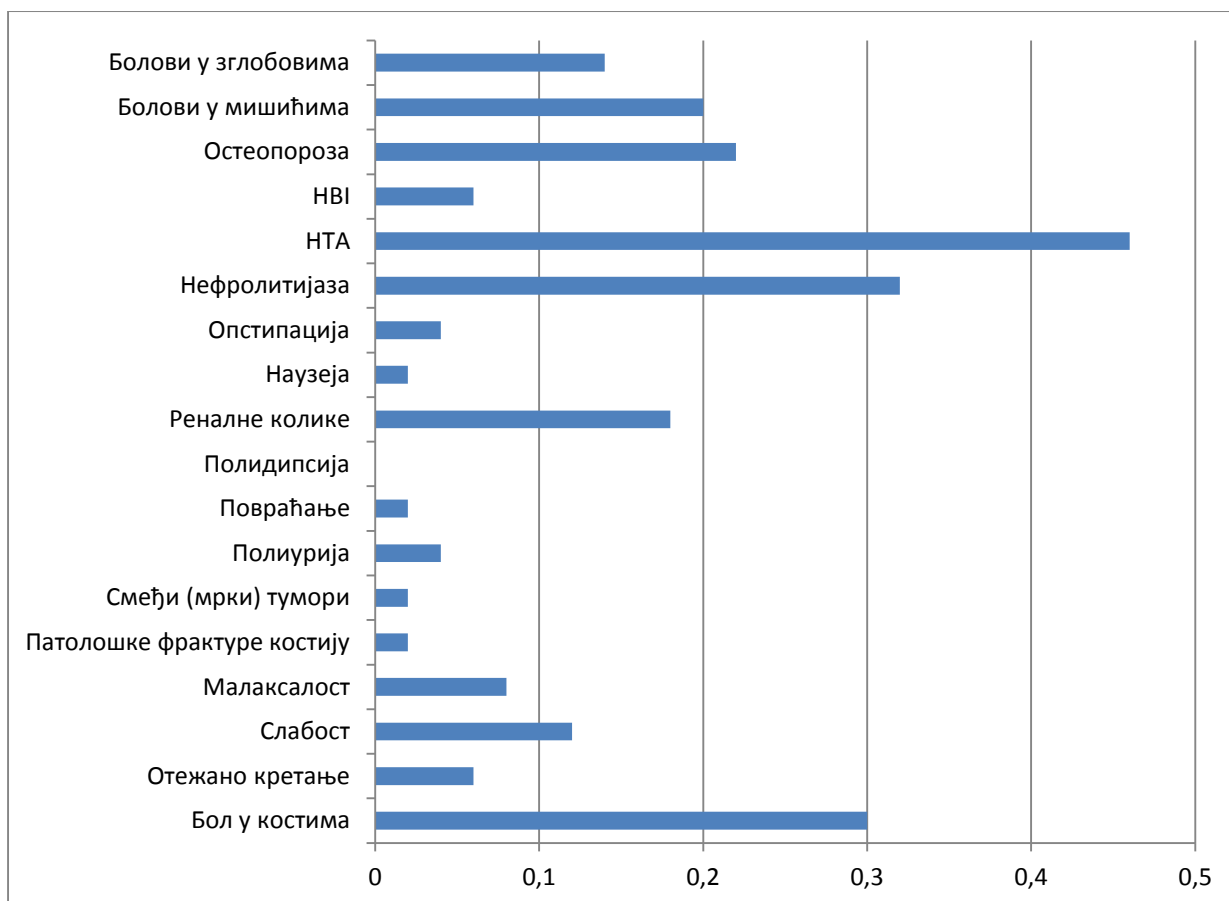
**Графикон 11** – Вредности PO4 преоперативно и постоперативно у односу на дијагнозу

|                            |    | Дијагноза |       |        |       |
|----------------------------|----|-----------|-------|--------|-------|
|                            |    | Карцином  |       | Аденом |       |
|                            |    | N         | %     | N      | %     |
| Бол у костима              | да | 3         | 30.0% | 12     | 30.0% |
| Отежано кретање            | да | 3         | 30.0% | 0      | 0.0%  |
| Слабост                    | да | 3         | 30.0% | 3      | 7.5%  |
| Малаксалост                | да | 3         | 30.0% | 1      | 2.5%  |
| Патолошке фрактуре костију | да | 1         | 10.0% | 0      | 0.0%  |
| Смеђи (мрки) тумори        | да | 1         | 10.0% | 0      | 0.0%  |
| Полиурија                  | да | 0         | 0.0%  | 2      | 5.0%  |
| Повраћање                  | да | 1         | 10.0% | 0      | 0.0%  |
| Полидипсија                | да | 0         | 0.0%  | 0      | 0.0%  |
| Реналне колике             | да | 1         | 10.0% | 8      | 20.0% |
| Наузеја                    | да | 1         | 10.0% | 0      | 0.0%  |
| Опстипација                | да | 1         | 10.0% | 1      | 2.5%  |
| Нефролитијаза              | да | 2         | 20.0% | 14     | 35.0% |
| НТА                        | да | 0         | 0.0%  | 23     | 57.5% |
| НВИ                        | да | 1         | 10.0% | 2      | 5.0%  |
| Остеопороза                | да | 1         | 10.0% | 10     | 25.0% |
| Болови у мишићима          | да | 0         | 0.0%  | 10     | 25.0% |
| Болови у зглобовима        | да | 1         | 10.0% | 6      | 15.4% |

**Табела 19** – Учесталост јављања тегоба код болесника са карциномом и аденомом

Из Табеле 19 и Графикана 12 види се да су у групи болесника са карциномом најчешће биле заступљене тегобе бол у костима (30%), отежано кретање (30%), слабост (30%), малаксалост (30%) док су у групи болесника са аденомом најчешће тегобе биле НТА (57,5%), нефролитијаза (35%), бол у костима (30%), остеопороза (25%) и болови у мишићима (20%).





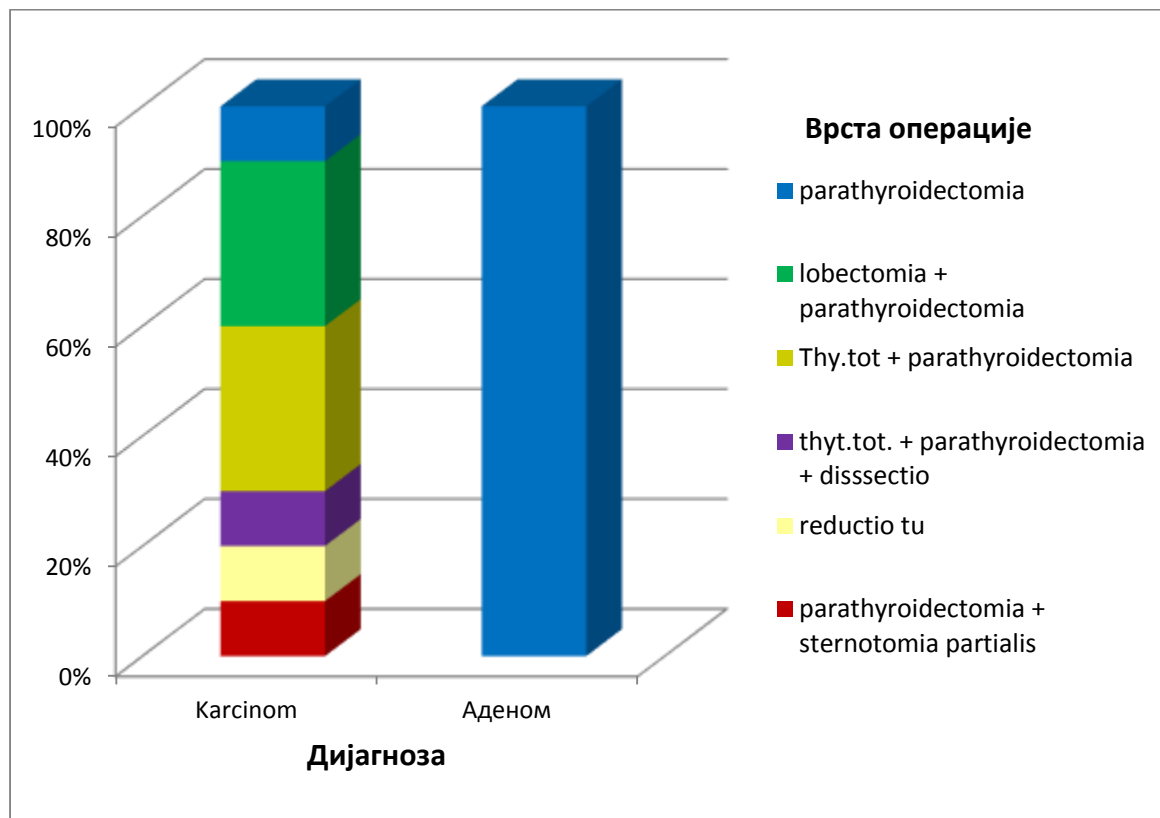
**Графикон 12** – Учесталост јављања тегоба код болесника са карциномом и аденомом

|                 |   | Дијагноза |        | Укупно |        |        |
|-----------------|---|-----------|--------|--------|--------|--------|
|                 |   | Карцином  | Аденом |        |        |        |
| Врста операције | parathyroidectomy                         | N         | 1      | 40     | 41     |        |
|                 |   | %         | 10.0%  | 100.0% | 82.0%  |        |
|                 | lobectomy + parathyroidectomy             | N         | 3      | 0      | 3      | 3      |
|                 |   | %         | 30.0%  | 0.0%   | 6.0%   | 6.0%   |
|                 | Thy.tot + parathyroidectomy               | N         | 3      | 0      | 3      | 3      |
|                 |   | %         | 30.0%  | 0.0%   | 6.0%   | 6.0%   |
|                 | thy.tot. + parathyroidectomy + dissectio  | N         | 1      | 0      | 1      | 1      |
|                 |   | %         | 10.0%  | 0.0%   | 2.0%   | 2.0%   |
|                 | reductio tu                               | N         | 1      | 0      | 1      | 1      |
|                 |   | %         | 10.0%  | 0.0%   | 2.0%   | 2.0%   |
|                 | parathyroidectomy + sternotomia partialis | N         | 1      | 0      | 1      | 1      |
|                 |   | %         | 10.0%  | 0.0%   | 2.0%   | 2.0%   |
|                 | Свега                                     |           | N      | 10     | 40     | 50     |
|                 |   |           | %      | 100.0% | 100.0% | 100.0% |

**Табела 20** – Дистрибуција болесника по врсти операције у односу на дијагнозу

У Табели 20 и Графикону 13 наведене су све врсте операција, које су урађене због примарног хиперпаратироидизма. Код свих пацијената са аденом параштитасте жлезде урађена је паратироидектомија, док је код пацијената оболелих од карцинома у највећем

броју урађена тотална тироидектомија са паратироидектомијом (30%), као и лобектомија са паратироидектомијом (30%). У осталим случајевима је у истом проценту (10%) урађена: паратироидектомија, тотална тироидектомија са паратироидектомијом и десекцијом врата, редукција тумора и паратироидектомија са парцијалном стернотомијом.



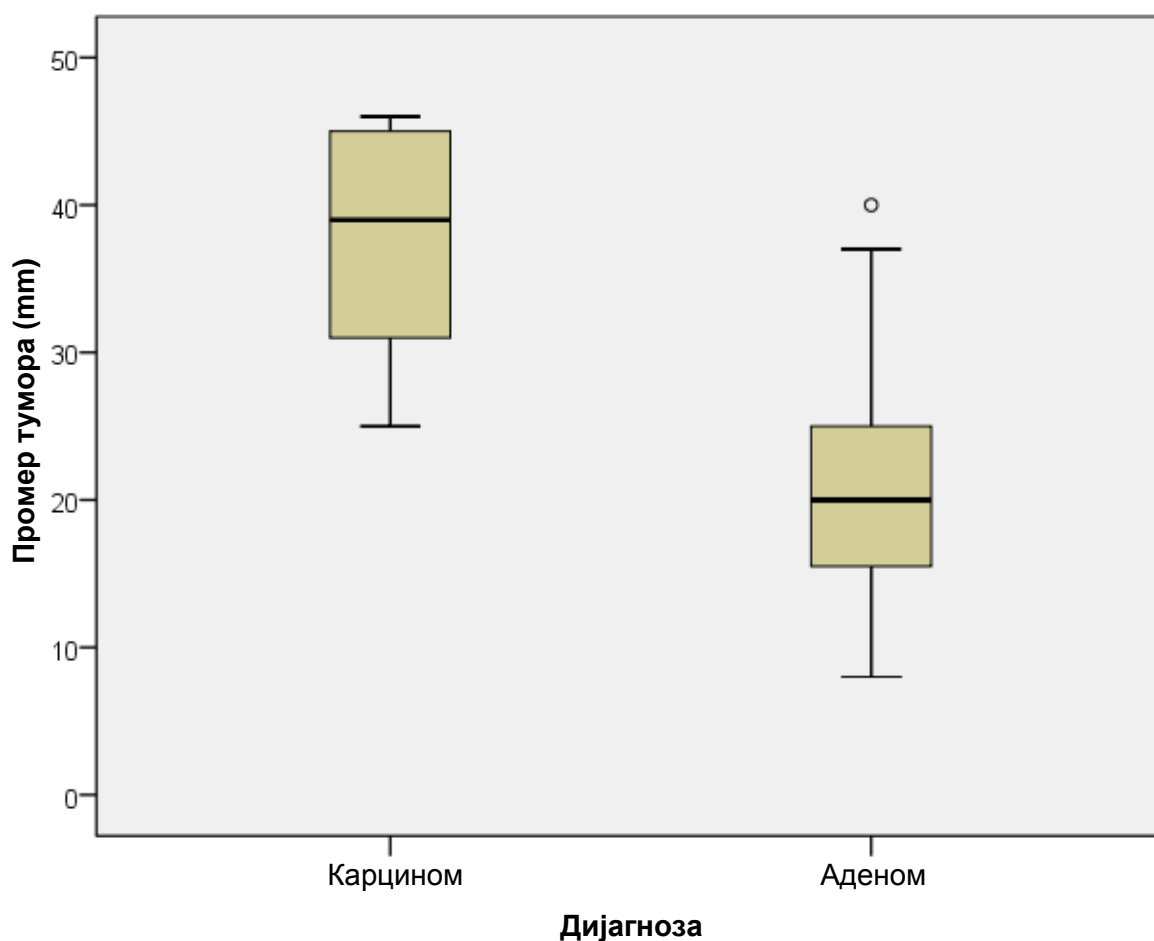
Графикон 13 – Дистрибуција болесника по врсти операције у односу на дијагнозу

|           |          | Промер тумора (mm) |           |      |       |       |       |
|-----------|----------|--------------------|-----------|------|-------|-------|-------|
|           |          | N                  | $\bar{x}$ | SD   | Med   | Min   | Maks  |
| Дијагноза | Карцином | 10                 | 37.90     | 7.72 | 39.00 | 25.00 | 46.00 |
|           | Аденом   | 40                 | 20.90     | 7.63 | 20.00 | 8.00  | 40.00 |

Табела 21 – Промер тумора у mm у односу на дијагнозу

Из Табеле 21 види се да је просечна вредност промера тумора готово дупло већа у групи болесника са карциномом ( $37.90 \pm 7.72$ ) него у групи пацијената са аденомом ( $20.90 \pm 7.63$ ).

*Student*-овим t-тестом добијена је високо статистички значајна разлика у промеру тумора између група пацијената са карциномом и аденомом ( $t = 6.291$ ;  $p < 0.001$ ).

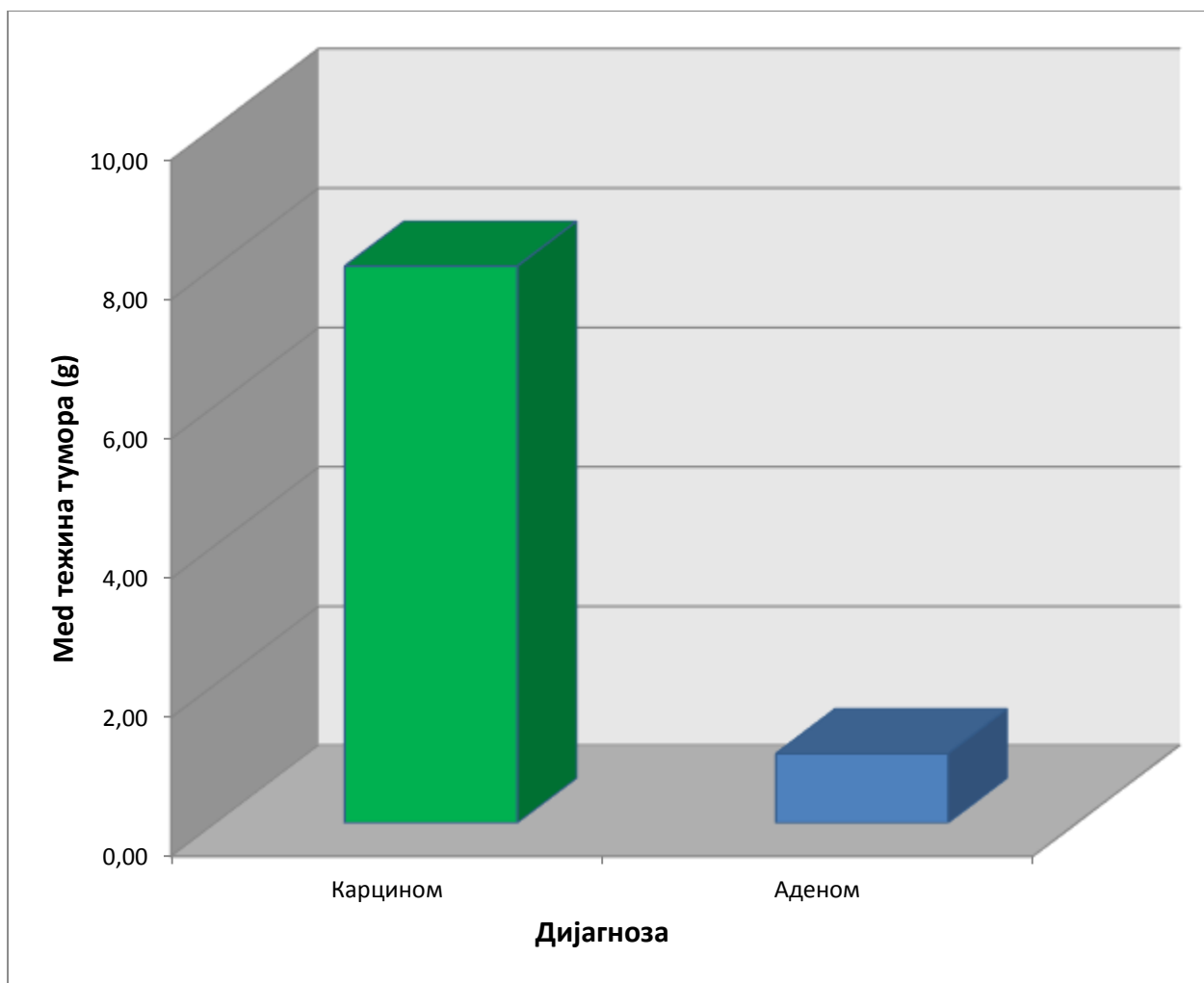


Графикон 14 – Промер тумора у mm у односу на дијагнозу

|           |          | Тежина тумора (g) |           |      |      |      |       |
|-----------|----------|-------------------|-----------|------|------|------|-------|
|           |          | N                 | $\bar{x}$ | SD   | Med  | Min  | Maks  |
| Дијагноза | Карцином | 10                | 11.77     | 8.92 | 8.10 | 3.50 | 28.00 |
|           | Аденом   | 40                | 1.69      | 2.13 | .90  | .20  | 10.20 |

Табела 22 – Тежина тумора у односу на дијагнозу

У Табели 22 видимо да је тежина тумора доста варирала (у групи болесника са карциномом 3,50 до 28,00 грама, а у групи пацијената са аденомом 0,20 до 10,20 грама). Медијана тежине тумора била је девет пута већа у групи болесника са карциномом него у групи пацијената са аденомом што указује да је већа вероватноћа да болесник са великом тежином тумора има карцином него аденом. *Mann-Whitney U* тестом добијена је високо статистички значајна разлика у тежини тумора између група ( $U = 16.00$ ;  $Z = 4.472$ ;  $p < 0,001$ ).



**Графикон 15** – Тежина тумора у односу на дијагнозу

Са циљем процене повезаности вредности туморских маркера Ki67 и MVD Ki67 са осталим обележјима (РТН преоперативно, калцијум преоперативно, PO4 преоперативно, промер тумора (mm), тежина тумора и године живота болесника) чије вредности могу да укажу на постављање дијагнозе карцинома или аденома применили смо метод линеарне корелације. *Pearson* коефицијенти корелације (Табела 23) показују оцену јачине и смера повезаности свих ових обележја међусобно. У реду „r“ приказане су вредност коефицијената корелације, у следећем реду „p“ статистичка значајност, а у следећем „N“ број парова вредности што је у нашој табели увек 50, јер имамо све вредности за свих 50 болесника. Ради боље прегледности у табели двострука звездица поред коефицијента корелације означава високо статистички значајну повезаност ( $p < 0,01$ ), једна звездица статистички значајну повезаност ( $p < 0,05$ ), а где нема звездице повезаност није статистички значајна.

|   |   | Ki67   | MVD    | PTH преоперативно | Ca преоперативно | PO4 преоперативно | Промер тумора (mm) | Тржина тумора (g) | Године живота у време операције |
|---|---|--------|--------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------------------|
| Ki67  | r | 1      | .389** | .562**            | .571**           | -.235             | .378**             | .382**            | .026                            |
|   | p |        | .005   | .000              | .000             | .100              | .007               | .006              | .857                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| MVD   | r | .389** | 1      | .534**            | .406**           | -.070             | .277               | .356*             | -.001                           |
|   | p | .005   |        | .000              | .003             | .627              | .052               | .011              | .997                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| PTH преоперативно   | r | .562** | .534** | 1                 | .562**           | -.047             | .748**             | .820**            | -.010                           |
|   | p | .000   | .000   |                   | .000             | .746              | .000               | .000              | .944                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| Ca преоперативно  | r | .571** | .406** | .562**            | 1                | -.068             | .477**             | .388**            | -.273                           |
|   | p | .000   | .003   | .000              |                  | .638              | .000               | .005              | .055                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| PO4 преоперативно   | r | -.235  | -.070  | -.047             | -.068            | 1                 | -.070              | .031              | -.048                           |
|   | p | .100   | .627   | .746              | .638             |                   | .629               | .830              | .739                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| Промер тумора (mm)  | r | .378** | .277   | .748**            | .477**           | -.070             | 1                  | .745**            | -.276                           |
|   | p | .007   | .052   | .000              | .000             | .629              |                    | .000              | .053                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| Тржина тумора (g)   | r | .382** | .356*  | .820**            | .388**           | .031              | .745**             | 1                 | -.058                           |
|   | p | .006   | .011   | .000              | .005             | .830              | .000               |                   | .687                            |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| Године живота у време операције                                 | r | .026   | -.001  | -.010             | -.273            | -.048             | -.276              | -.058             | 1                               |
|   | p | .857   | .997   | .944              | .055             | .739              | .053               | .687              |                                 |
|   | N | 50     | 50     | 50                | 50               | 50                | 50                 | 50                | 50                              |
| ** Корелација је статистички значајна на нивоу вероватноће 0,01 |   |        |        |                   |                  |                   |                    |                   |                                 |
| * Корелација је статистички значајна на нивоу вероватноће 0,05  |   |        |        |                   |                  |                   |                    |                   |                                 |

**Табела 23** – Pearson-ови коефицијенти линеарне корелације

Из табеле се може видети да не постоји статистички значајна корелација PO4 ни са једним од обележја у табели. Године живота такође статистички значајно не корелишу ни са једним обележјем, па ове параметре не можемо сматрати предикторима за постављање дијагнозе. Постоји високо статистички значајна корелација Ki67 и MVD, за које смо ROC анализом већ утврдили да су добри предиктори за постављање дијагнозе карцинома, са свим осталим обележјима из табеле. Највећа вредност коефицијента корелације Ki67 је са Ca преоперативно ( $r = 0.571$ ;  $p < 0,001$ ) и са PTH преоперативно ( $r = 0.562$ ;  $p < 0,001$ ), затим са MVD ( $r = 0.389$ ;  $p = 0.005$ ), па са тежином тумора ( $r = 0.382$ ;  $p = 0.006$ ) и са промером тумора ( $r = 0.378$ ;  $p = 0.007$ ). Повезаност је позитивна што значи да болесници са вишим вредностима Ki67 имају и више вредности осталих параметара. MVD је високо статистички значајно повезан осим са Ki67 само још са PTH ( $r = 0.371$ ;  $p = 0.008$ ). PTH преоперативно високо статистички значајно корелише још са тежином тумора ( $r = 0.820$ ;  $p < 0.001$ ), са промером тумора ( $r = 0.748$ ;  $p < 0,001$ ), са вредностима Ca преоперативно ( $r = 0.562$ ;  $p < 0.001$ ) и са већ описаним Ki67 и MVD. Калцијум преоперативно осим са Ki67, MVD и PTH, што је већ описано, високо статистички значајно корелише са промером ( $r = 0.477$ ;  $p < 0.001$ ) и тежином тумора ( $0.388$ ;  $p = 0.005$ ).

Сада ћемо формирати вишеструки регресиони модел у којем ће зависна променљива бити Ki67 за који смо ROC анализом већ утврдили да је добар предиктор за успостављање дијагнозе карцинома, а независне променљиве (предиктори) РТН преоперативно, калцијум преоперативно, промер тумора и тежину тумора да бисмо открили које то варијабле својим променама најбоље објашњавају промене Ki67.

### Резултати регресионог модела

Коефицијент вишеструке корелације износи  $R = 0.650$ .

Коефицијент детерминације  $R^2 = 0.423$  показује да је 42.3% варијабилитета зависно променљиве (Ki67) објашњено варијабилитета независних променљивих.

$F = 8.249$ ;  $p < 0.001$  значи да је регресија високо статистички значајна, односно да модел добро описује емпиријске податке.

У регресионом моделу су као статистички значајни предиктори зависне променљиве издвојени РТН преоперативно ( $B = 0.274$ ;  $p < 0.027$ ) и Са преоперативно ( $B = 351.566$ ;  $p = 0.012$ ).

Пошто је Ki67 на основу ROC анализе означен као добар предиктор за постављање дијагнозе карцинома, могли бисмо закључити да на основу високих вредности РТН преоперативно и високих вредности Са преоперативно можемо да очекујемо да би и вредности Ki67 биле високе што би могло указати на дијагнозу карцинома.

### Резултати вишеструког линеарног регресионог модела

| Модел | R                 | R <sup>2</sup> | Прилагођени R <sup>2</sup> | SE        |
|-------|-------------------|----------------|----------------------------|-----------|
| 1     | .650 <sup>a</sup> | .423           | .372                       | 313.98178 |

а. Предиктори: (Константа), Тежина тумора (g), Са преоперативно, Промер тумора (mm), РТН преоперативно

### ANOVA<sup>a</sup>

| Модел        | Сума квадрата | DF | Варијанса  | F     | p                 |
|--------------|---------------|----|------------|-------|-------------------|
| Регресиона   | 3252756.074   | 4  | 813189.019 | 8.249 | .000 <sup>b</sup> |
| 1 Ресидуална | 4436305.239   | 45 | 98584.561  |       |                   |
| Укупно       | 7689061.313   | 49 |            |       |                   |

а. Зависна променљива: Ki67

б. Предиктори: (Константа), Тежина тумора (g), Са преоперативно, Промер тумора (mm), РТН преоперативно

## Коефицијенти

| Модел                 | Нестандардизовани<br>коефицијенти |         | Стандардизовани<br>коефицијенти | t      | p    |
|-----------------------|-----------------------------------|---------|---------------------------------|--------|------|
|                       | B                                 | SE      | Beta                            |        |      |
| (Константа)           | -612.826                          | 383.017 |                                 | -1.600 | .117 |
| РТН<br>преоперативно  | .274                              | .120    | .526                            | 2.279  | .027 |
| 1 Са преоперативно    | 351.566                           | 133.453 | .370                            | 2.634  | .012 |
| Промер тумора<br>(mm) | -4.285                            | 7.152   | -.111                           | -.599  | .552 |
| Тежина тумора (g)     | -7.371                            | 14.438  | -.110                           | -.511  | .612 |

а. Зависна променљива: Ki67

|            |                       |   | Дијагноза |        | Укупно |
|------------|-----------------------|---|-----------|--------|--------|
|            |                       |   | Карцином  | Аденом |        |
| РТН<br>kat | Повишене<br>вредности | N | 10        | 40     | 50     |
|            |                       | % | 100.0%    | 100.0% | 100.0% |
| Свега      |                       | N | 10        | 40     | 50     |
|            |                       | % | 100.0%    | 100.0% | 100.0% |

Код свих болесника су вредности РТН преоперативно биле повишене.

|           |          |   | Са kat                |                       | Укупно |
|-----------|----------|---|-----------------------|-----------------------|--------|
|           |          |   | повишене<br>вредности | нормалне<br>вредности |        |
| Дијагноза | Карцином | N | 10                    | 0                     | 10     |
|           |          | % | 100.0%                | 0.0%                  | 100.0% |
|           | Аденом   | N | 36                    | 4                     | 40     |
|           |          | % | 90.0%                 | 10.0%                 | 100.0% |
| Свега     |          | N | 46                    | 4                     | 50     |
|           |          | % | 92.0%                 | 8.0%                  | 100.0% |

Fisher-овим тестом није добијена статистички значајна разлика ( $P = 0.397$ ).

|           |          |   | PO4 kat               |                       | Укупно |
|-----------|----------|---|-----------------------|-----------------------|--------|
|           |          |   | повишене<br>вредности | нормалне<br>вредности |        |
| Дијагноза | Карцином | N | 7                     | 3                     | 10     |
|           |          | % | 70.0%                 | 30.0%                 | 100.0% |
|           | Аденом   | N | 19                    | 21                    | 40     |
|           |          | % | 47.5%                 | 52.5%                 | 100.0% |
| Свега     |          | N | 26                    | 24                    | 50     |
|           |          | % | 52.0%                 | 48.0%                 | 100.0% |

Fisher-овим тестом није добијена статистички значајна разлика ( $P = 0.179$ ).

## 5. ДИСКУСИЈА

Хиперпаратироидизам (НРТН) је најчешћи поремећај паратиroidне жлезде. Патогенеза примарног и секундарног НРТН готово се у потпуности разликује.

Примарни НРТ односи се на синдром кога изазивају претерано лучење паратиroidног хормона у паратиroidном аденому (Слика 20), примарна хиперплазија једне или више паратиroidних жлезда или, у ретким случајевима, карцином паратиroidе (1).



Слика 20 – Аденом паратиroidне жлезде

Секундарна хиперплазија паратиroidе среће се углавном код пацијената с хроничном инсуфицијенцијом бубрега, иако се тај поремећај увек јавља с недостатком витамина D, интестиналном малапсорпцијом, Фанконијевим синдромом и реналном тубуларном ацидозом (1); аберантна експресија појединих гена и фактора раста потенцијално је повезана са хиперплазијом паратиroidног ткива код секундарног НРТН (2). Патолошка разлика између разних лезија паратиroidе је проблематична у великом броју случајева.

Иако је карцином паратиroidе (РС) ретка болест, сваки хирург који третира примарни хиперпаратироидизам (РНРТН) мора одлично да познаје клиничку презентацију, оперативне налазе и патолошке замке ове болести. РС је неуобичајени налаз, који чини само 1–2% пацијената који пате од РНРТН (3–6).



Карцином паратироиде подједнако погађа мушкарце и жене (7, 8). У прегледу литературе *Koza* је открио да је просечна старост појаве болести 49. година живота (на скали од 13 до 80 година) (8). То је отприлике 10 година пре у односу на просечну старост када се јавља бенигни НРТН. У нашој студији, укупно је испитивано 10 пацијената оболелих од карцинома паратироиде, од којих је 6 особа мушког пола, 4 женског, просечне старости 53 године.

Морбидитет и смрт код пацијената с функционалним карциномом паратироиде настају због хроничне хиперкалцемије и њених компликација, пре него због раста тумора. Стога најбоље изгледе за излечење представља *en bloc* ресекција тумора паратироиде с горњим мишићем и суседним тироидним режњем кадгод се сумња у малигнитет у тренутку вршења прве операције примарног хиперпаратироидизма (9–12). Агресивна оперативна ресекција такође се препоручује код пацијената с упорном или хроничном хиперкалцемијом не само код локорегионалних рекурентних тумора него и код локализоване метастазе плућа и костију, зато што ни радиотерапија ни хемотерапија обично нису ефикасне (13–15). Упркос томе, карцином паратироиде је често тешко потврдити и пре и после операције. Ако дође до велике инфилтрације суседних ткива, лимфних чворова или удаљених метастаза, дијагноза карцинома је недвосмислена. Међутим, тешко је разликовати карцином паратироиде од аденома паратироиде само на основу хистопатолошких особина. Дугорочно праћење ће напослетку открити да је хистопатолошки непоуздан тумор паратироиде у ствари малигнитет (12). Осим тога, зато што су карциноми паратироиде већином упорни али индолентне природе, и даље није сасвим јасно које су клиничке или хистолошке особине корисне у прогнози.

Ангиогенеза, као што смо већ рекли, развој је нових крвних судова од већ постојећих крвних судова, и неопходна је за раст тумора и метастазирање.

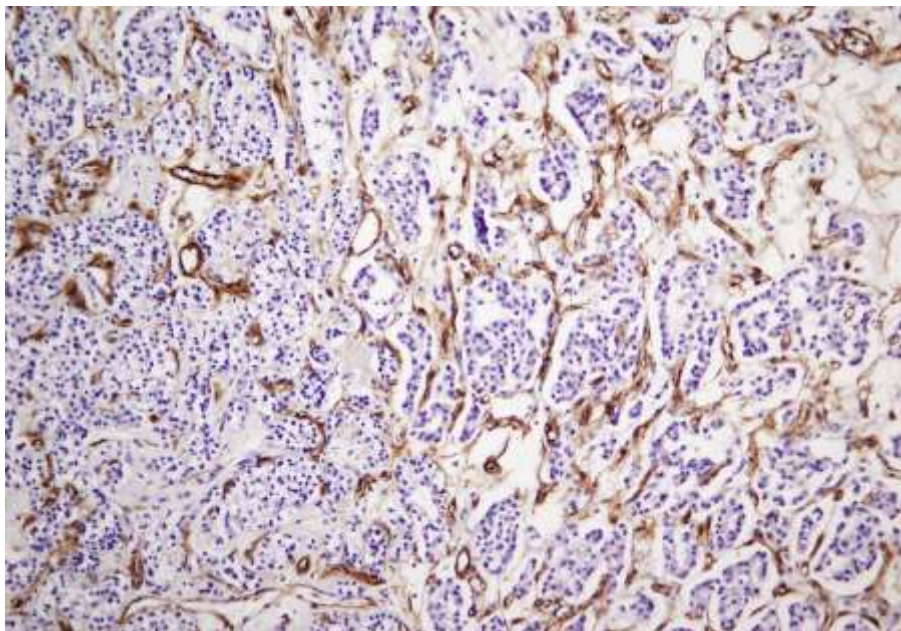
Ангиогенеза је процес који се одвија у више корака, а обухвата и ендотелијални и екстрацелуларни матрикс (16). После стимулаторног сигнала (као што је специфични фактор раста), активирани ендотелијални ћелије ослобађају протеазе (као што је плазминогени активатор), што доводи до деградације екстрацелуларног матрикса који окружује крвни суд (17), после чега долази до ендотелијалне миграције и пролиферације. Ендотелијалне ћелије се прераспоређују у цевасту структуру, а затим следи фузија с осталим новоствореним крвним судовима, што на крају доводи до анастамотске мреже (18).

Ангиогенеза, мерена као микроваскуларна густина тумора (MVD), корелира са туморским понашањем. У многим хуманим туморима— укључујући туморе дојке, бешике и желуца, показано је да је повећана ангиогенеза повезана са развојем метастаза (19, 20), лошом прогнозом (21, 22) и смањеним преживљавањем (23, 24). Ангиогенеза се такође јавља у паратироидним пролиферативним лезијама, где је показано да је повећана у поређењу са нормалним жлездама (25, 26). У разним студијама изучаван је однос између MVD (користећи CD105 маркер) и фактора као што су метастаза, стадијум тумора, стопа пролиферације ћелија тумора и стопа преживљавања (27). Међутим, до сада није испитивана веза између овог фактора и стопе ћелијске пролиферације код паратироидних карцинома. У том циљу, у овој студији је испитивана повезаност између ова два фактора, Ki67 и MVD.

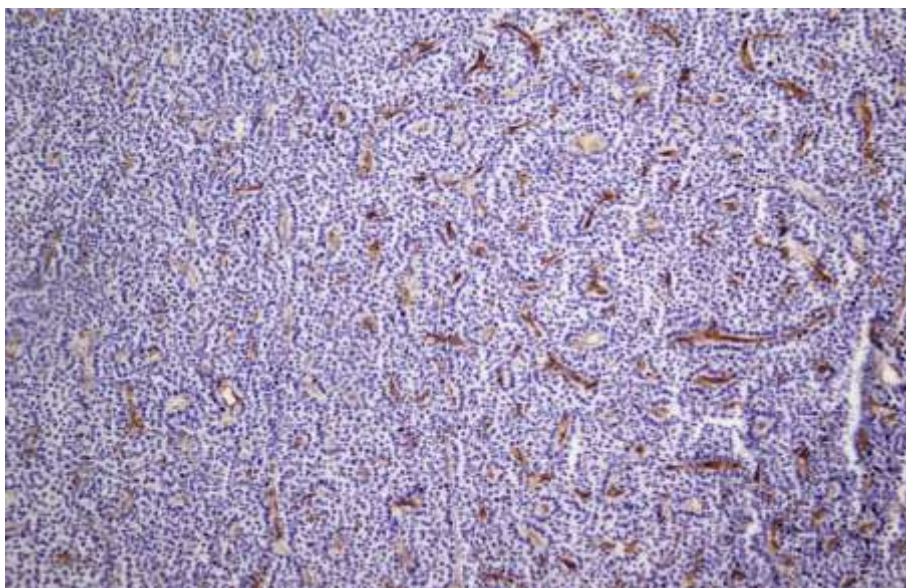
Ова студија је показала да је ендотела експресија CD105 значајно већа код РС у односу на паратироидне аденоме (Слика 21, Слика 22). CD105 је изражен искључиво у

ендотелним ћелијама оба тумора и није пронађен у крвним судовима нормалних паратиroidних жлезда.

У овој студији, у поређењу са бенигним туморима, примећено је значајно повећање крвних судова у малигним туморима, што указује да развој крвних судова одражава инвазивност тумора паратиroidне жлезде.



**Слика 21** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ ) CD105 код паратиroidног карцинома (PC). Бројни CD105 позитивни капилари су евидентирани. CD105 ендотелна експресија је знатно већа код PC у поређењу са паратиroidним аденомима (H&E; x 40)



**Слика 22** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ ) CD105 код паратиroidног аденома (H&E; x 20)

Пролиферација ћелија је један од најважнијих биолошких механизма у онкогенези. Ki67 антитело се широко користи за процену ћелијске пролиферације у

различитим врстама тумора и другим лезијама. Већа туморска пролиферација детектована имуно бојењем за Ki67 повезана је са агресивнијим неоплазмама. Wang и сарадници (28) су утврдили да су сви аденоми имуно реактивни на Ki67, док је само у 2 од 15 (13.3%) показао позитивност Ki67 у преосталој ивици нормалног ткива паратироиде. Abbona и сарадници (29) су показали да РС имају већу туморску пролиферацију од паратироидних аденома и хиперплазије. Masathoshi и сарадници (30) открили су да је Ki67 пролиферативни индекс много већи у паратироидним карциномима него у аденомима, као и да је повећана експресија Ki67 повезана са смањеним преживљавањем ( $p = .005$ ). Посматрајући већу експресију Ki67 код аденома него у нормалном ткиву паратироидне жлезде дошло се до закључка да је аденом клонска пролиферација (31). Клонске анализе су показале да су аденоми монокло-налног порекла (31, 32, 33).

У овој студији је утврђено да је експресија Ki67 била већа код РС у односу на аденоме (Слика 23, Слика 24) и да Ki67 може помоћи у лезијама код којих је тешко направити разлику између аденома и карцинома.

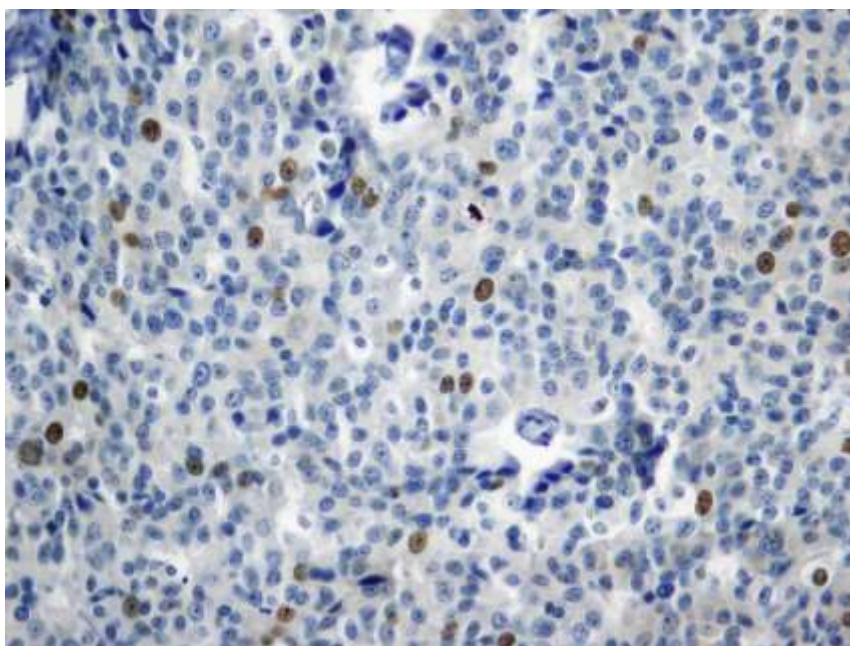
Видели смо да је површина испод ROC криве за Ki67 (Поглавље 4) високо статистички значајна и износи 0.979;  $p < 0,001$ , што говори да болесник са карциномом има 97.9% већу шансу да има повишену вредност Ki67 него особа која нема карцином. За граничну вредност Ki67 = 511.54 сензитивност је 100% а специфичност 86%. На основу ових резултата може се закључити да вредности Ki67 веће од 511.54 са великом вероватноћом указују на карцином.

Такође, површина испод ROC криве за MVD је нешто мања за MVD и такође је високо статистички значајна и износи 0,917;  $p < 0,001$  на основу чега можемо рећи да болесник са карциномом има 91.7% већу шансу да има повишену вредност MVD него особа која нема карцином. За граничну вредност MVD = 773.26 сензитивност је 80% а специфичност 100%. Вредности MVD веће од 773.26 указују на карцином.

Корелација између ова два маркера је такође пронађена. У овој студији, експресија биомаркера Ki67 и CD105 представља потенцијалне маркере малигнитета или мету за нове терапијске модалитете код пацијената са РС.

Дакле, постоји високо статистички значајна корелација Ki67 и MVD, за које смо ROC анализом већ утврдили да су добри предиктори за постављање дијагнозе карцинома, са свим осталим обележјима. Највећа вредност коефицијента корелације Ki67 је са Са преоперативно и са РТН преоперативно, затим са MVD, па са тежином тумора и са промером тумора. Повезаност је позитивна што значи да болесници са вишим вредностима Ki67 имају и више вредности осталих параметара.

MVD је високо статистички значајно повезан осим са Ki67 само још са РТН.



**Слика 23** – Имунохистохемијско бојење (ИНН) Ki67 код паратироидног карцинома. Бројне Ki67 позитивне ћелије су евидентиране (H&E; x 40)

Величина паратироидних тумора може бити важан фактор у предвиђању РС код пацијената са РНРТН. У овој студији, просечна вредност промера тумора у групи болесника са карциномом је  $37,90 \text{ mm} \pm 7,72$ . Овај резултат је у сагласности са ранијим налазима да су РС обично већи од 30 mm и да могу бити палпабилни (34).

Интересантно, средња величина тумора, у време постављања дијагнозе код 286 пацијената оболелих РС лечених у САД од 1985. до 1995, била је око 33 mm (35). Опипљива маса у врату је јак предиктивни фактор за РС (36, 37, 38), а посебну пажњу треба обратити код пацијената са РНРТН са паратироидом жлездом већом од 3,0 cm.

У Табели 22 видели смо да је тежина тумора доста варира (у групи болесника са карциномом 3,50 до 28,00 грама, а у групи пацијената са аденомом 0,20 до 10,20 грама). Медијана тежине тумора била је девет пута већа у групи болесника са карциномом него у групи пацијената са аденомом што указује да је већа вероватноћа да болесник са великом тежином тумора има карцином него аденом.

С биохемијског становишта, степен хиперкалцемије израженији је код пацијената с карциномом него код бенигног НРТН. Просечан ниво калцијума код бенигног НРТН износи 2,7 mmol/L у поређењу са 3,75–3,97 mmol/L који се наводи у литератури за карцином паратироиде (8).

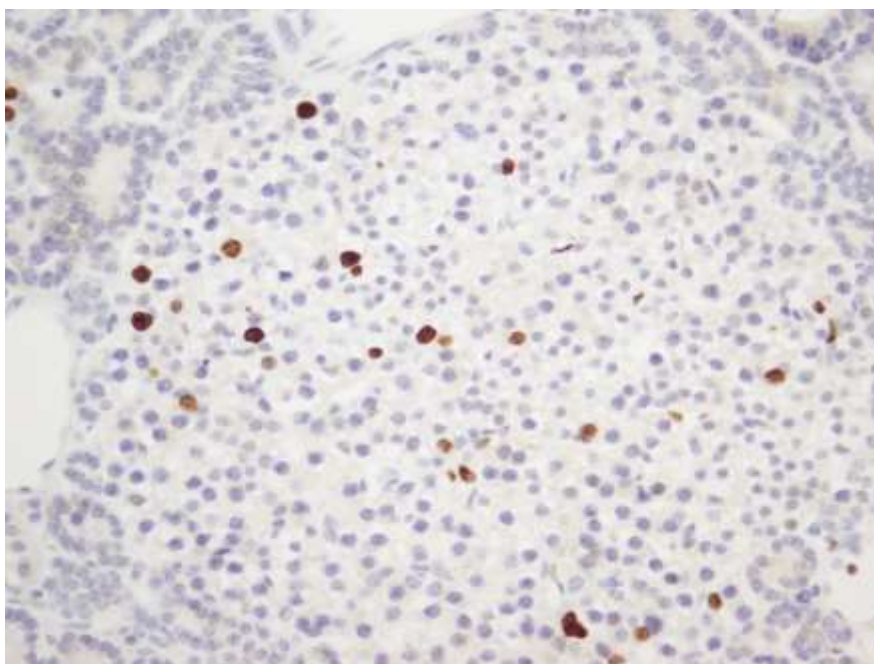
Ми смо дошли до закључка у нашој студији да за граничну вредност калцијума преоперативно = 2,555 сензитивност је 90%, а специфичност 75%. Вредности калцијума преоперативно веће од 2,555 указују на карцином.

Калцијум преоперативно осим са Ki67, MVD и РТН, што је већ описано, високо статистички значајно корелише са промером и тежином тумора.



Ниво РТН такође је знатно виши, и то за пет до десет пута у односу на нормалну вредност (7, 39–41). Увидом у забележене случајеве између 1974. и 1998. утврђен је средњи пораст вредности РТН од 512% изнад нормале (8).

РТН такође је испитан као потенцијални фактор у разликовању РС од бенигну тумора који су узроци РНРТН. На основу резултата из наше студије, ми смо закључили да вредност преоперативног серумског РТН већа од 768 високо указује на карцином. Овај резултат је подржан од стране претходних студија да је серумски ново РТН користан за предикцију РС (42). Као што смо видели, РТН преоперативно високо статистички значајно корелише још са тежином тумора, са промером тумора, са вредностима Са преоперативно и са већ описаним Ki67 I MVD.



**Слика 24** – Имунохистохемијско бојење (ИИИ) Ki67 код паратиroidног аденома. Мањи број Ki67 позитивних ћелија је евидентиран (H&E; x40)

Године живота, као и РО4 статистички значајно не корелишу ни са једним обележјем, па ове параметре не можемо сматрати предикторима за постављање дијагнозе.

Важно је да хирурзи који лече пацијенте с примарним хиперпаратироидизмом имају на уму овај редак тумор и могу очекивати да ће наићи на мање од једног случаја на сваких 100 пацијената оболелих од РНРТН.

## Литература:

1. Farber JL & Rubin E. *The endocrine system: parathyroid glands*. In *Pathology*, 3rd edn, ch. 21, pp 1179–1183. Eds R Winters, M-B Murphy, & K Monroe, Philadelphia. PA: Lippincott-Raven, 1999.
2. Drucke TB. *Cell biology of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure*. Journal of the American Society of Nephrology 2000 11 1141–1152.
3. Lumachi F, Ermani M, Marino F, et al: *Relationship of AgNOR counts and nuclear DNA content to survival in patients with parathyroid carcinoma*. Endocrine-Relat Cancer 11:563–569, 2004.
4. Iacobone M, Lumachi F and Favia G: *Up-to-date on parathyroid carcinoma: analysis of an experience of 19 cases*. J Surg Oncol 88: 223–228, 2004.
5. Obara T, Fujimoto Y. *Diagnosis and treatment of patients with parathyroid carcinoma: an update and review*. World J Surg 1991;15:738–44.
6. Obara T, Okamoto T, Kanbe M, Iihara M. *Functioning parathyroid carcinoma: clinicopathologic features and rational treatment*. Semin Surg Oncol 1997;13:134–41.
7. Shane E (2001) *Clinical review 122: parathyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab 86(2):485–493.
8. Koea JB, Shaw JH (1999) *Parathyroid cancer: biology and management*. Surg Oncol 8(3):155–165.
9. Wang CA, Gaz RD. *Natural history of parathyroid carcinoma: diagnosis, treatment, and results*. Am J Surg 1985; 149:522–7.
10. Fujimoto Y, Obara T, Ito Y, Kanazawa K, Aiyoshi Y, Nobori M. *Surgical treatment of ten cases of parathyroid carcinoma: importance of an initial en bloc tumor resection*. World J Surg 1984; 8:392–400.
11. Levin KE, Galante M, Clark OH. *Parathyroid carcinoma versus parathyroid adenoma in patients with profound hypercalcemia*. Surgery 1987; 101:649–60.
12. Sandelin K, Auer G, Bondeson L, Grimelius L, Farnebo LO. *Prognostic factors in parathyroid carcinoma: a review of 95 cases*. World J Surg 1992;16:724–31.
13. Obara T, Okamoto T, Ito Y, Yamashita T, Kawano M, Nishi T, et al. *Surgical and medical management of patients with pulmonary metastasis from parathyroid carcinoma*. Surgery 1993;114:1040–9.
14. Sandelin K, Tullgren O, Farnebo L. *Clinical course of metastatic parathyroid cancer*. World J Surg 1994;18:594–9.
15. Vetto JT, Brennan MF, Woodruff J, Burt M. *Parathyroid carcinoma: diagnosis and clinical history*. Surgery 1993;114: 882–92.
16. Risau W 1997 *Mechanisms of angiogenesis*. Nature 386:671–674.
17. Bicknell R 1997 *Mechanistic insights into tumor angiogenesis*. In: Bicknell ER, Lewis CE, Ferrara N, eds. Tumor angiogenesis. Oxford, UK: Oxford University Press; 19–28.
18. Risau W, Flamme I 1995 *Vasculogenesis*. Ann Rev Cell Dev Biol 1:73–91.

19. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J 1991 *Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma*. N Engl J Med 324:1–8.
20. Weidner N, Carrol PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J 1993 *Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma*. Am J Pathol 143:401–409.
21. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, Meli S, Gasparini G 1992 *Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early stage breast carcinoma*. J Natl Cancer Inst 84:1875–1887.
22. Horak ER, Leek R, Klenk N, LeJeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Stepniowska K, Harris AL 1992 *Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer*. Lancet 340:1120–1124.
23. Maeda K, Chung YS, Takatsuka S, Ogawa Y, Sawada T, Yamashita Y, Onoda N, Kato Y, Nitta A, Arimoto Y 1995 *Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence in gastric carcinoma*. J Clin Oncol 13:477–481.
24. Bochner BH, Cote RJ, Weidner N, Groshen S, Chen SC, Skinner DG, Nichols PW 1995 *Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis*. J Natl Cancer Inst 87:1603–1612.
25. Viacava P, Bocci G, Fanelli G, Cetani F, Marcocci C, Bevilacqua G, Naccarato AG: *Microvessel density in human normal and neoplastic parathyroids*. Endocr Pathol 1997, 17:175–181.
26. Garcia de la Torre N, Buley I, Wass JA, Jackson DG, Turner HE: *Angiogenesis and lymphangiogenesis in parathyroid proliferative lesions*. J Clin Endocrinol Metab 2004, 89:2890–2896.
27. Liu P, Sun YL, Du J, Hou XS, Meng H (2012). *CD105/Ki67 coexpression correlates with tumor progression and poor prognosis in epithelial ovarian cancer*. Int J Gynecol Cancer, 22, 586–92.
28. Wang W, Johansson H, Kvasnicka T, et al: *Detection of apoptotic cells and expression of Ki-67 antigen, Bcl-2, p53 oncoproteins in human parathyroid adenoma*. APMIS 104:789796, 1996.
29. Abbona GC, Papotti M, Gasparri G, et al: *Proliferative activity in parathyroid tumors as detected by Ki-67 immunostaining*. Hum Pathol 26:135–138, 1995.
30. Masatoshi Iihara, Takahiro Okamoto, Rumi Suzuki, Akiko Kawamata, Toshio Nishikawa, Makio Kobayashi, et al. *Functional parathyroid carcinoma: Long-term treatment outcome and risk factor analysis*. Surgery 142(6):936–43; 2007.
31. Hadar T, Shvero J, Yaniv E, Ram E, Shvili I, Koren R: *Expression of p53, Ki-67 and Bcl-2 in parathyroid adenoma and residual normal tissue*. Pathol Oncol Res 2005, 11:45–49.
32. Larian B, Alavi S, Roesler J, Namazie A, Blackwell K, Calcaterra TC, Wang MB: *The role of hyperplasia in multiple parathyroid adenomas*. Head Neck 2001, 23:134–139.
33. Shan L, Nakamura M, Nakamura Y, Inoue D, Morimoto S, Yokoi T, Kakudo K: *Comparative analysis of clonality and pathology in primary and secondary hyperparathyroidism*. Virchows Arch 1997,430:247–251.
34. Marcocci C, Cetani F, Rubin MR, Silverberg SJ, Pinchera A, Bilezikian JP. *Parathyroid carcinoma*. J Bone Miner Res. 2008;23:1869–1880.

35. Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. *Two hundred eighty-six cases of parathyroid carcinoma treated in the U.S. between 1985-1995: a National Cancer Data Base Report*. Cancer. 1999;86:538–544.
36. Shane E. *Clinical review 122: Parathyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86:485–493.
37. Schaapveld M, Jorna FH, Aben KK, Haak HR, Plukker JT, Links TP. *Incidence and prognosis of parathyroid gland carcinoma: a population based study in The Netherlands estimating the preoperative diagnosis*. Am J Surg. 2011;202:590–597.
38. Robert JH, Trombetti A, Garcia A, Pache JC, Herrmann F, Spiliopoulos A, Rizzoli R. *Primary hyperparathyroidism: can parathyroid carcinoma be anticipated on clinical and biochemical grounds? Report of nine cases and review of the literature*. Ann Surg Oncol. 2005;12:526–532.
39. Wynne AG, van Heerden J, Carney JA, Fitzpatrick LA (1992) *Parathyroid carcinoma: clinical and pathologic features in 43 patients*. Medicine 71(4):197–205.
40. Obara T, Fujimoto Y (1991) *Diagnosis and treatment of patients with parathyroid carcinoma: an update and review*. World J Surg 15(6):738–744.
41. Sandelin K, Auer G, Bondeson L, Grimelius L, Farnebo L-O (1992) *Prognostic factors in parathyroid cancer: a review of 95 cases*. World J Surg 16:724–731.
42. Chen Q, Kaji H, Nomura R, Sowa H, Yamauchi M, Tsukamoto T, Yamaguchi T, Kobayashi A, Sugimoto T, Chihara K. *Trial to predict malignancy of affected parathyroid glands in primary hyperparathyroidism*. Endocr J. 2003;50:527–534.



## 6. ЗАКЉУЧЦИ

1. Примећено је да постоји већа стопа ангиогенезе и ћелијске пролиферације у малигним туморима у односу на бенигне, што указује на улогу ових тумора у малигнитету и агресивнијем понашању.
2. У овој студији, у поређењу са бенигним туморима, примећено је значајно повећање крвних судова у малигним туморима, што указује да развој крвних судова одражава инвазивност тумора паратироидне жлезде.
3. Открили смо да је Ki67 пролиферативни индекс и експресија ендоглина много већа у паратироидним карциномима него у аденомима што нам може помоћи у разликовању између ова два тумора.
4. Утврдили смо да су Ki67 и MVD добри предиктори за постављање дијагнозе карцинома паратироиде и да постоји високо статистички значајна корелација између ова два биомаркера. Показали смо и њихову корелацију са осталим обележјима.
5. Закључили смо да је серумски ниво преоперативног РТН користан за предикцију паратироидних карцинома и да он високо статистички значајно корелише још са тежином тумора, са промером тумора, са вредностима Са преоперативно и са Ki67 и MVD.
6. Величина паратироидних тумора може бити важан фактор у предвиђању РС код пацијената са РНРТН.
7. Такође смо утврдили да је већа вероватноћа да болесник са великом тежином тумора има карцином него аденом.
8. У закључку, очекујемо да ће ови резултати допринети бољем разумевању понашања ових тумора, помоћи у прогнози и допринети развоју нових терапијских приступа и могућих предиктивних дијагностичких метода.

## 7. ПРИЛОЗИ

### 7.1 КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**

|  |   |
|--|---|
| <b>Редни број:</b><br><b>РБ</b>            | 2008/91   |
| <b>Идентификациони број:</b><br><b>ИБР</b> |   |
| <b>Тип документације:</b><br><b>ТД</b>     | Монографска публикација   |
| <b>Тип записа:</b><br><b>ТЗ</b>            | Текстуални штампани материјал   |
| <b>Врста рада:</b><br><b>ВР</b>            | Докторска дисертација   |
| <b>Аутор:</b><br><b>АУ</b>                 | Др Зорка Инић   |
| <b>Ментор/коментор:</b><br><b>МН</b>       | Проф. др Иван Пауновић  |
| <b>Наслов рада:</b><br><b>НР</b>           | „Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде“ |
| <b>Језик публикације:</b><br><b>ЈП</b>     | Српски (ћирилица)   |
| <b>Језик извода:</b>                       | Српски/Енглески   |

|   |  |
|---|--|
| <b>ЈИ</b>   |  |
| <b>Земља публикавања:</b><br><b>ЗП</b>                | Србија   |
| <b>Уже географско подручје:</b><br><b>УГП</b>         | Шумадија   |
| <b>Година:</b><br><b>ГО</b>                           | 2015.  |
| <b>Издавач:</b><br><b>ИЗ</b>                          | Ауторски репринт   |
| <b>Место и адреса:</b><br><b>МС</b>                   | 34000 Крагујевац,<br>Светозара Марковића 69  |
| <b>Физичи опис рада:</b><br><b>ФО</b>                 | 97/7/24/15/23/24   |
| <b>Научна област:</b>                                 | Медицина   |
| <b>Научна дисциплина:</b><br><b>ДИ</b>                | Онкологија, хирургија, патологија  |
| <b>Предметна одредница/ кључне речи:</b><br><b>ПО</b> | Карцином паратироидне жлезде, CD 105,<br>Кі67, неоангиогенеза, пролиферација   |
| <b>УДК</b>  |  |
| <b>Чува се:</b><br><b>ЧУ</b>                          | У библиотеци факултета медицинских наука<br>у Крагујевцу   |
| <b>Важна напомена:</b><br><b>МН</b>                   |  |
| <b>Извод:</b><br><b>ИД</b>                            | УВОД: Тешко је разликовати паратироидне<br>карциноме (РС) од паратироидних аденома<br>само на основу хистопатолошких |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>карактеристика. На основу постојеће литературе, ова докторска дисертација је прва која истражује експресију CD105 (ендоглина) у ангиогеним ендотелним ћелијама РС. CD 105 антитела су погодна у одређивању микроваскуларне густине (MVD). Ki67 се користи као маркер ћелијске пролиферације.</p> <p>ЦИЉ: Одређивање експресије маркера ћелијске пролиферације (Ki67) и неоангиогенезе (CD 105) и њихове повезаности са серумским нивоима PTH и класичним прогностичким параметрима паратироидних аденома и карцинома.</p> <p>МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ: Ретроспективна анализа спроведена је на 50 болесника код којих је патохистолошки потврђен примарни хиперпаратироидизам: 10 пацијената оболелих од карцинома паратироидне жлезде и 40 од аденома. Нормалне паратироидне жлезде су коришћене као контролна група. У стандардној имунохистохемијској процедури, моноклонска антитела ендоглина су примењена за детекцију ангиогених ендотелних ћелија. Имунолошко бојење је процењено анализом слике и статистичка анализа је касније извршена.</p> <p>РЕЗУЛТАТИ: Закључено је да Ki67 био виши у РС пацијената (медијана = 523,43) у поређењу са пацијентима оболелим од аденома (медијана = 297,41). Mann–Whitney U тестом добијена је високо статистички значајна разлика између ове две групе (<math>U = 10.50</math>; <math>Z = 4.598</math>; <math>p &lt; 0.001</math>). MVD била је већа у РС пацијената (медијана = 901,14) у односу на пацијенате оболеле од аденома (медијана = 431.24). Mann–Whitney U тестом добијена је такође високо статистички значајна разлика између група (<math>U = 41,50</math>; <math>Z = 3,845</math>; <math>p &lt; 0,001</math>). У овој студији, експресија ендоглин није пронађена у крвним судовима нормалних</p> |
|--|---|

|   |  |
|---|--|
|   | <p>паратиреоидних жлезда. Из ROC криве се може видети да оба маркера имају добру предиктивну вредност за дијагнозу карцинома. Показана је и њихова корелација са осталим обележјима. Закључили смо да је серумски ниво преоперативног РТН користан за предикцију паратироидних карцинома и да он високо статистички значајно корелише још са тежином тумора, са промером тумора, са вредностима Са преоперативно и са Ki-67 и MVD. Величина паратироидних тумора може бити важан фактор у предвиђању паратироидних карцинома код пацијената са примарним хиперпаратироидизмом. Такође, смо утврдили да је већа вероватноћа да болесник са великом тежином тумора има карцином него аденом.</p> <p><b>ЗАКЉУЧАК:</b> Примећено је у студији да постоји већа стопа ангиогенезе и ћелијске пролиферације у малигним туморима у односу на бенигне, што указује на улогу ових тумора у малигнитету и агресивнијем понашању. Штавише, експресиони профили биомаркера Ki67 и CD105 у овој студији представљају потенцијалне маркере малигнитета или циљеве нове терапије у болесника са карциномом паратироидне жлезде (PC).</p> |
| <p><b>Датум прихватања теме од стране ННВ:</b></p> <p><b>ДП</b></p> | <p>05.02.2014.</p>   |
| <p><b>Датум одбране:</b></p> <p><b>ДО</b></p>                       |  |
| <p><b>Чланови комисије:</b></p> <p><b>КО</b></p>                    | <p>1. Проф. Др Александар Ђукић, председник, Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу</p> <p>2. Доц. Др Слободанка Митровић, члан, Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу</p> <p>3. Проф. др Светислав Татић, члан, Медицински факултет Универзитета у Београду</p>  |

|  |  |
|--|--|
|  | <p>4. Проф. Др Снежана Јанчић, члан, Факултет<br/>медицинских наука Универзитета у<br/>Крагујевцу</p> <p>5. Проф. Др Слободан Миљисављевић, члан,<br/>Факултет медицинских наука Универзитета у<br/>Крагујевцу</p> |
|--|--|

## 7.2 KEY WORDS DOCUMENTATION

**UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICINE KRAGUJEVAC**

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| <b>Accession number:</b><br>ANO      | 2008/91  |
| <b>Identification number:</b><br>INO |  |
| <b>Documentation type:</b><br>DT     | Monographic publications   |
| <b>Type of record:</b><br>TR         | Printed text material  |
| <b>Contents code:</b><br>CC          | PhD Thesis   |
| <b>Author:</b><br>AU                 | Zorka Inic, MD   |
| <b>Menthor/co-mentor</b><br>MN       | Ivan Paunović, MD PhD  |
| <b>Title:</b><br>TI                  | "Immunohistochemical study of neovascularization and proliferative activity in tumours of the parathyroid gland" |
| <b>Language of text:</b><br>LT       | Serbian  |
| <b>Language of abstract:</b>         | Serbian/English  |
| <b>Country of publication:</b>       | Serbia   |

|  |  |
|--|--|
| <b>CP</b><br><b>CP</b>                       |  |
| <b>Locality of publication:</b><br><b>LP</b> | Šumadija District  |
| <b>Publication year:</b><br><b>PY</b>        | 2015   |
| <b>Publisher:</b><br><b>PU</b>               | Author reprint   |
| <b>Publication place:</b><br><b>PP</b>       | Kragujevac 34000, Svetozara Markovića 69   |
| <b>Physical description</b><br><b>PD</b>     | 97/7/24/15/23/24   |
| <b>Scientific field:</b><br><b>SF</b>        | Medicine   |
| <b>Scientific discipline:</b><br><b>SD</b>   | Oncology, Surgery, Pathology   |
| <b>Subject/key words:</b><br><b>SKW</b>      | Parathyroid carcinoma, CD 105, Ki67, proliferation, neoangiogenesis,   |
| <b>UDC</b>                                   |  |
| <b>Holding data:</b>                         | Faculty of medical sciences Library  |
| <b>Note:</b><br><b>N</b>                     |  |
| <b>Abstract:</b><br><b>AB</b>                | INTRODUCTION: It is difficult to distinguish parathyroid carcinoma (PC) from parathyroid adenoma on the basis of histopathological features alone. As far as is known to the authors based on the existing literature, the present study |



|  |  |
|--|--|
|  | <p>is the first to investigate CD105 (Endoglin) expressed in angiogenic endothelial cells of PC. CD 105 antibodies are suitable in determining microvessel density (MVD). Ki67 is used as a marker for cell proliferation.</p> <p>AIM: To determine expression of two markers of cell proliferation (Ki67) and their angiogenesis (CD 105 ) and as well as correlation with serum PTH levels and classic prognostic parameters of parathyroid adenoma and carcinoma.</p> <p>MATERIALS AND METHODS: A retrospective analysis of 50 patients who have pathologically confirmed primary hyperparathyroidism (PHPT) was conducted: 10 patients suffering from PC and 40 patients suffering from adenoma. Normal parathyroid glands served as the control group. In a standard immunohistochemical procedure, monoclonal antibodies to Endoglin, were applied to detect angiogenic endothelial cells. Immunostaining was estimated through image analysis and a statistical analysis was subsequently performed.</p> <p>RESULTS: It was concluded that Ki67 was higher in PC patients (median= 523.43) compared to adenoma patients (median = 297.41). A Mann–Whitney U-test shows the difference to be significant between the two groups (U = 10.50; Z = 4.598; p &lt; 0.001). MVD was higher in PC patients (median= 901.14) than in adenoma patients (median = 431.24). A Mann–Whitney U-test also has shown the difference to be significant (U = 41.50; Z = 3.845; p&lt;0.001). In this study, the expression of Endoglin was not found in the blood vessels of normal parathyroid glands. The ROC curve also demonstrates that both markers have a beneficial predictive value in the diagnosis of cancer. Their correlation with other factors was also found. It was concluded that preoperative serum levels of PTH are useful in the prediction of parathyroid</p> |
|--|--|

|  |   |
|--|---|
|  | <p>carcinoma, as PTH is highly statistically significantly since in correlates with the weight of the tumour, with the diameter of the tumour, with the values of Ca preoperative and Ki67, as well as MVD. Parathyroid tumour size can be an important factor in predicting parathyroid carcinoma in patients with primary hyperparathyroidism. In addition, it was found that a patient with a greater tumour weight will also have a higher probability of cancer than of adenoma.</p> <p>CONCLUSION: The study has observed that there is a higher rate of angiogenesis and cellular proliferation in malignant tumours compared to benign tumours, indicating their role in the malignancy and aggressive behaviour of these tumours. Moreover, the expression profile of the biomarkers Ki67 and CD105 in this study represents potential markers of malignancy or targets for novel therapies in patients with parathyroid carcinoma (PC).</p> |
| <p><b>Accepted by the Scientific Board on:</b></p> <p><b>ASB</b></p>                                   | <p><b>05.02.2014.</b></p>   |
| <p><b>Defended on:</b></p> <p><b>DE</b></p>  |   |
| <p><b>Thesis defended board</b></p> <p><b>(Degree/name/surname/title/faculty)</b></p> <p><b>DB</b></p> | <p>1. Prof. dr. Aleksandar Djukić, president<br/>Faculty of Medical sciences University Kragujevac</p> <p>2. Ass. Prof. Slobodanka Mitrović, member<br/>Faculty of Medical sciences University Kragujevac</p> <p>3. Prof. dr. Svetislav Tatić, member<br/>Faculty of Medicine University of Belgrade</p> <p>4. Prof. dr. Snežana Jančić, member<br/>Faculty of Medical sciences University Kragujevac</p>   |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>5. Prof. dr. Slobodan Milisavljević, member</p> <p>Faculty of Medical sciences University<br/>Kragujevac</p> |
|--|---|

### 7.3. ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

|   |
|---|
| <b><i>I. Аутор</i></b>  |
| Име и презиме: др Зорка Инић  |
| Датум и место рођења: 04.12.1981. Косовска Митровица  |
| Садашње запослење: специјализант опште хирургије Института за онкологију и радиологију Србије, Београд  |
|   |
| <b><i>II. Докторска дисертација</i></b>   |
| <b>Наслов: „Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде“</b>  |
| Број страница: 97   |
| Број слика: 24 фотографије, 15 графикана и 23 табеле  |
| Број библиографских података: 243   |
| Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, Клинички центар Србије   |
| Научна област (УДК): Медицина (онкологија, хирургија, патологија)   |
| Ментор: Проф. др Иван Пауновић  |
|   |
| <b><i>III. Оцена и одбрана</i></b>  |
| Датум пријаве теме: 26.08.2013.   |
| Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-66/13 05.02.2014.   |
| Комисија за оцену подобности теме и кандидата:<br><ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Небојша Арсенијевић</li><li>2. Проф. др Александар Ђукић</li><li>3. Проф. др Иван Пауновић</li><li>4. Проф. др Светислав Татић</li><li>5. Проф. др Снежана Јанчић</li><li>6. Проф. др Слободан Милисављевић</li></ol> |
| Комисија за оцену докторске дисертације:<br><ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Александар Ђукић, председник</li><li>2. Доц. др Слободанка Митровић</li><li>3. Проф. др Светислав Татић</li><li>4. Проф. др Снежана Јанчић</li><li>5. Проф. др Слободан Милисављевић</li></ol>                              |
| Комисија за одбрану докторске дисертације:<br><ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Александар Ђукић, председник</li><li>2. Доц. др Слободанка Митровић</li><li>3. Проф. др Светислав Татић</li><li>4. Проф. др Снежана Јанчић</li><li>5. Проф. др Слободан Милисављевић</li></ol>                            |
| Датум одбране дисертације:  |

**ОБРАЗАЦ 1.**

**Изјава о ауторству**

Потписани-а Др Зорка ИНИЋ  
број уписа 2008/91

**Изјављујем**

да је докторска дисертација под насловом  
Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације  
и пролиферативне активности тумора паратиroidне  
жлезде

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис аутора**

У Крагујевцу, 15.10.2015.

ИНИЋ Зорка

ОБРАЗАЦ 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Др Зорка Инић  
Број уписа 2008/91  
Студијски програм Докторске академске студије  
Наслов рада Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и  
Ментор Пролиферативне активности тумора паратироидне  
жлезде  
проф др Иван Пучновић  
Потписани Др Зорка Инић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Крагујевцу.

Потпис аутора

У Крагујевцу, 15.10.2015.

Инић Зорка

ОБРАЗАЦ 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Имунохистохемијско проучавање новачку чаризије и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде  
која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство - некомерцијално - без прераде
4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, чији је кратак опис дат је на обрасцу број 4.).

Потпис аутора

У Крагујевцу, 15. 10. 2015.

Лена Зорис