

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Бранислав Р. Ровчанин

**АНАЛИЗА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА У
ТКИВУ ПАПИЛАРНОГ КАРЦИНОМА
ШТИТАСТЕ ЖЛЕЗДЕ**

Докторска дисертација

Београд, 2017.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Branislav R. Rovcanin

**OXIDATIVE STRESS ANALYSIS IN
TISSUE OF PAPILLARY THYROID
CARCINOMA**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2017.

Ментор:

Проф. др Иван Пауновић, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду

Коментор:

Проф. др Кристина Гопчевић, ванредни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду

Комисија:

1. **Проф. др Светислав Татић**, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Београду, научна област: патологија
2. **Проф. др Александра Исаковић**, ванредни професор, Медицински факултет Универзитета у Београду, научна област: медицинска и клиничка биохемија
3. **Проф. др Гордана Коцић**, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Нишу, научна област: медицинска и клиничка биохемија

Изјаве захвалности

Својим уваженим менторима, проф. др Ивану Пауновићу и проф. др Кристини Гопчевић се најискреније захваљујем на драгоцену помоћ, указаном поверењу и саветима приликом израде докторске дисертације, као и на вишегодишњем пријатељству и непрекидној подршци у раду.

Великодушно се захваљујем члановима Комисије, проф. др Светиславу Татићу, проф. др Александри Исаковић и проф. др Гордани Коцић на корисним саветима приликом уобличавања коначног облика ове дисертације и на дугогодишњој помоћи у раду и усавршавању.

Пријатељу и колеги, др Душану Кекићу дугујем захвалност на помоћи током експерименталне фазе истраживања, као и на деценијској сарадњи у многобројним истраживачким областима.

За неизмерну љубав према биолошкој науци и доживотну инспирацију за бављење науком дугујем највећу могућу захвалност својим првим менторима, проф. Љубици Веселиновић, проф. Драгани Узелац и покојној проф. Љиљани Поповић-Митровић.

Проф. др Александру Диклићу, доц. др Владану Живаљевићу и прим. др Горану Зорићу се захваљујем на свакодневној колегијалности, едукацији и уступљеном клиничком материјалу који је био неопходан за ово истраживање.

Својој породици и пријатељима, који су ме верно пратили у свим животним аспектима, исказујем неизмерну захвалност.

АНАЛИЗА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА У ТКИВУ ПАПИЛАРНОГ КАРЦИНОМА ШТИТАСТЕ ЖЛЕЗДЕ

САЖЕТАК

Увод: Папиларни карцином је најчешћи малигни тумор штитасте жлезде и чини преко 80% малигнитета штитасте жлезде. Постоји више патохистолошких варијанти папиларног карцинома штитасте жлезде, од којих су најчешће класична варијанта, фоликулска варијанта, микрокарцином и солидна варијанта. Код највећег броја оболелих је клинички ток индолентан и прогноза изузетно добра, док се код мањег броја пацијената болест може испољити у агресивном облику. Етиологија настанка папиларног карцинома штитасте жлезде првенствено се везује за изложеност јонизујућем зрачењу, као и за генетске, хормонске и срединске чиниоце. Значај оксидативног стреса у патогенези папиларног карцинома штитасте жлезде је до сада проучаван, али не постоји довољно података како би се могао објаснити утицај на развој тумора и његове фенотипске особине.

Циљ: Циљ студије је да се квантификује оксидативни стрес у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у односу на нормално ткиво штитасте жлезде оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде као и у односу на ткиво бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Анализиран је и утицај демографских, клиничких и придружених фактора, као и патолошких особина тумора.

Материјал и методе: У циљу карактеризације ткивног редокс статуса квантификовани су следећи биомаркери: концентрација малондиалдехида, завршних производа оксидације протеина, тотални оксидативни статус, тотални антиоксидативни статус, индекс оксидативног стреса, укупни садржај тиола, као и активности супероксид дисмутазе, каталазе, глутатион пероксидазе и глутатион редуктазе. Наведени параметри су одређени квантитативно у ткивним хомогенатима употребом одговарајућих спектрофотометријских метода.

Резултати: Доказано је да ткиво папиларног карцинома штитасте жлезде поседује већу антиоксидативну способност од нормалног ткива штитасте жлезде, а да се не разликује у погледу редокс статуса од ткива бенигне полинодозне струме. Између прооксидантних и антиоксидантних биомаркера постоји већи број корелација у свим

испитиваним ткивима, што говори о постојању адекватног биолошког одговора који компензује ефекте повећаног оксидативног оптерећења. Различите патохистолошке варијанте папиларног карцинома штитасте жлезде се међусобно не разликују у погледу оксидативно/антиоксидативног статуса, као ни тумори у различитом ТНМ стадијуму. У погледу редокс статуса није уочена разлика између тумора који поседују својство инвазије капсуле у односу на оне који то својство немају, док је код тумора са мултицентричном дисеминацијом показан нижи интензитет липидне пероксидације. Пол оболелих није представљао фактор који је утицао на редокс статус оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме, док је код пушача у ткиву карцинома установљен нижи ниво ензимске антиоксидативне заштите, а код пушача оболелих од бенигне полинодозне струме већи степен оксидативног стреса. Фактори као што су претходно постојање обољења штитасте жлезде у породици и ретростернална штитаста жлезда су значајно утицали на вредности испитиваних биомаркера редокс статуса у обе експерименталне групе. Када је испитана предиктивна вредност биохемијских параметара у функцији истовремене појаве више различитих патолошких особина тумора, утврђено је да поједини биомаркери могу бити значајни предиктори инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације изражене у функцији величине тумора и ТНМ стадијума.

Закључак: Овом студијом је показано да ткивни редокс статус има значаја у патогенези папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме. Додатни значај представља чињеница да су одређени биомаркери по први пут квантификовани у ткиву штитасте жлезде. На основу резултата и закључака истраживања, одређивање параметара редокс статуса папиларног карцинома штитасте жлезде би се могло искористити као користан инструмент за процену биолошког понашања тумора.

Кључне речи: папиларни карцином штитасте жлезде, бенигна полинодозна струма штитасте жлезде, оксидативни стрес, биомаркер

Научна област: Медицина

Ужа научна област: Молекуларна медицина

OXIDATIVE STRESS ANALYSIS IN TISSUE OF PAPILLARY THYROID CARCINOMA

ABSTRACT

Introduction: Papillary thyroid carcinoma is the most common malignant tumor of the thyroid gland and it comprises more than 80% of all thyroid malignancies. There are different pathohistological variants of papillary thyroid carcinoma, while the most common are classical variant, follicular variant, papillary microcarcinoma and solid variant. The clinical course of papillary thyroid carcinoma is indolent and the prognosis is excellent in most patients, while in a small number of them the disease can present in aggressive form. Ionizing radiation represents the most influential risk factor for development of papillary thyroid carcinoma, beside the genetical, hormone and environmental factors. The importance of oxidative stress in pathogenesis of papillary carcinoma was previously investigated, but there are no sufficient data that could provide a better understanding of tumor initiation and its phenotype characteristics.

Aim: The aim of the study is to quantify oxidative stress in tissue of papillary thyroid carcinoma and to confront these results with the values obtained in normal thyroid tissue of papillary thyroid carcinoma patients and with thyroid tissue of benign multinodular goiter patients, along with the analysis of influence of demographic, clinical and confounding factors, and with tumor pathological characteristics. These biomarkers were assayed spectrophotometrically in tissue homogenates.

Material and methods: The following biomarkers were used for characterization of tissue redox status: malondialdehyde, advanced oxidation protein products, total oxidative status, total antioxidative status, oxidative stress index, total amount of thiols, as well as the activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase.

Results: It was demonstrated that the papillary carcinoma tissue has higher antioxidative capacity than normal thyroid tissue, and that its redox status doesn't differ from the benign multinodular goiter tissue. There are a great number of correlations between prooxidant and antioxidant biomarkers in all investigated tissues, which refer to the existence of

adequate biological response which compensates, increased oxidative overload effects. There is no difference in oxidative/antioxidative status between different pathohistological variants of papillary thyroid carcinoma as well as between tumors in different TNM stage. In terms of redox status, tumors which have the capsular invasion do not differ from tumors without that feature, while the lower lipid peroxidation was found in tumors with multicentric dissemination. The gender was not the factor which had significant influence on the redox status of papillary carcinoma and benign multinodular goiter patients, while the smokers had lower enzymatic antioxidant protection in tumor tissue and higher oxidative stress level in benign multinodular goiter individuals. Factors such as previous family history of thyroid disease and retrosternal thyroid gland significantly influenced the values of investigated redox status biomarkers in both experimental groups. When the predictive value of biochemical parameters was investigated in terms of simultaneous existence of more different tumor pathological features, it was demonstrated that individual biomarkers can be significant predictors of capsular invasion and multicentric dissemination expressed in terms of tumor size and TNM stage.

Conclusion: The study revealed that tissue redox status has importance in pathogenesis of papillary carcinoma and benign multinodular thyroid goiter. Additional contribution represents the fact that certain biomarkers were assayed for the first time in thyroid tissue. According to the study results and conclusions, determination of papillary thyroid carcinoma redox status could be used as useful instrument for estimation of tumor biological behavior.

Key words: papillary thyroid carcinoma, benign multinodular goiter, oxidative stress, biomarker

Scientific field: Medicine

Specific scientific field: Molecular medicine

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
1.1 Папиларни карцином штитасте жлезде	1
1.2 Генетски фактор у настанку папиларног карцинома штитасте жлезде	3
1.3 Патолошке особине и типови папиларног карцинома штитасте жлезде	4
1.4 Дијагностика папиларног карцинома штитасте жлезде	7
1.5 Лечење папиларног карцинома штитасте жлезде	8
1.6 Биолошки редокс процеси - основни појмови	9
1.7 Хемијски принципи и биолошки значај слободних радикала	10
1.8 Ефекти слободних радикала на биомакромолекуле	12
1.9 Антиоксидативни заштитни механизми	14
1.10 Оксидативни стрес	16
1.11 Методе за лабораторијско испитивање оксидативног стреса	16
2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	19
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	20
3.1 Протокол експеримента	20
3.2 Узорковање ткивног материјала	21
3.3 Хомогенизација ткивног материјала	22
3.4 Одређивање концентрације протеина у ткивним хомогенатима	22
3.5 Одређивање концентрације малондиалдехида у ткивним хомогенатима	22
3.6 Одређивање садржаја завршних производа оксидације протеина	23
3.7 Одређивање тоталног оксидативног статуса	24
3.8 Одређивање тоталног антиоксидантног статуса	24
3.9 Одређивање индекса оксидативног стреса	25
3.10 Одређивање укупног садржаја тиола	25
3.11 Одређивање активности супероксид дисмутазе	25
3.12 Одређивање активности каталазе	26
3.13 Одређивање активности глутатион пероксидазе	26
3.14 Одређивање активности глутатион редуктазе	26
3.15 Хемикалије и потрошни материјал	27

3.16 Статистичка анализа	27
4. РЕЗУЛТАТИ	29
4.1 Клиничке карактеристике пацијената	29
4.2 Патолошке карактеристике папиларног карцинома штитасте жлезде	30
4.3 Биохемијски параметри оксидативно/антиоксидативног статуса	32
4.4 Корелациона анализа биохемијских и клиничких параметара	35
4.5 Анализа биохемијских параметара у функцији патолошких особина папиларног карцинома штитасте жлезде	38
4.6 Анализа биохемијских параметара у функцији пола пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде	48
4.7 Анализа биохемијских параметара у функцији пола пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде	49
4.8 Анализа биохемијских параметара у функцији пушачког статуса пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде	51
4.9 Анализа биохемијских параметара у функцији пушачког статуса пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде	53
4.10 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде	54
4.11 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде	56
4.12 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања ретростерналне штитасте жлезде код пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде	58
4.13 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања ретростерналне штитасте жлезде код пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде	60
4.14 Предиктивна вредност биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома за постојање више различитих карактеристика тумора	62

5. ДИСКУСИЈА	72
6. ЗАКЉУЧЦИ	89
7. ЛИТЕРАТУРА	90

1. УВОД

Модерна медицина заснована на доказима почива на сувереним и валидним резултатима претходних истраживачких студија које су конципиране према строгим и објективним методолошким нормама. За бенефит од достигнућа савремених дијагностичко терапијских модалитета, медицина дугује пре свега резултатима добијеним у фундаменталним научним студијама. Молекуларно биолошке, биохемијске и генетске студије су већ више деценија међу најбројнијим које се публикују у најпрестижнијим светским биомедицинским часописима, а из којих проистичу конкретни резултати на које се потом ослања свакодневна клиничка пракса.

Предмет овог истраживања представља синтезу између базичне биомедицинске науке и свакодневне клиничке праксе. У њему се на моделу ткива папиларног карцинома и бенигне струме штитасте жлезде обрађује профил редокс биолошких догађаја, као и њихова зависност од основних клиничких карактеристика обољења и пацијената. С тим у вези, у уводном делу текста биће изнете најважније чињенице о оба ентитета, а које су неопходне за анализу резултата и образовање закључака.

1.1 Папиларни карцином штитасте жлезде

Папиларни карцином штитасте жлезде је најчешћи малигни тумор штитасте жлезде и чини преко 80% малигну обољења штитасте жлезде. Инциденца обољевања показује тренд пораста у протеклих неколико деценија широм света, чак и у оним регионима који се одликују постојањем значајних географских варијација у учесталости обољевања [1]. Етиологија настанка папиларног карцинома штитасте жлезде везује се за генетске, хормонске и срединске чиниоце, при чему изложеност јонизујућем зрачењу представља најјачи појединачни егзогени фактор ризика за обољевање. О значају овог физичког етиолошког фактора говори чињеница да је након хаварије нуклеарног постројења у Чернобиљу 1986. године дошло до упечатљивог пораста стопе обољевања одраслих и деце од папиларног карцинома штитасте жлезде у Украјини, Белорусији и другим земљама бившег Совјетског

Савеза, које се налазе у региону места несреће [2]. Такође, у прилог значаја јонизујућег зрачења као јаког фактора ризика говори и чешће обољевање од папиларног карцинома штитасте жлезде код оних особа које су претходно биле изложене радиотерапијским дозама зрачења због лечења других малигних обољења [3]. Када су узму у обзир едафски фактори, документована је већа стопа обољевања у планинским крајевима, у односу на приморске регионе, што сугерише да је смањен унос јода карактеристичан за исхрану у планинским пределима потенцијални фактор ризика за обољевање од папиларног карцинома штитасте жлезде [4]. Иако се изузетно ретко дијагностикује као конгенитални тумор, папиларни карцином штитасте жлезде може да настане у било ком животном добу човека. Највећи број оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде се налази у животном добу између треће и пете деценије живота. Постоје и значајне разлике у дистрибуцији стопе обољевања код полова, па је тако чешћа појава папиларног карцинома штитасте жлезде код жена, са односом од 2:1 у односу на мушкарце [5]. Папиларни карцином штитасте жлезде је код највећег броја пацијената асимптоматска болест, док се код преосталих углавном презентује као солитарни нодус у штитастој жлезди. Цервикална лимфонодопатија код мањег броја пацијената представља први симптом папиларног карцинома штитасте жлезде. Непалпабилни тироидни нодуси се најчешће инцидентално откривају приликом ултрасонографских, компјутеризовано томографских или прегледа главе и врата нуклеарном магнетном резонанцом. Они нодуси чији је пречник мањи од 1 cm су означени као папиларни микрокарцином и углавном немају клинички значај, поготово код особа млађих од 40 година, будући да је код њих стопа двадесетогодишњег преживљавања преко 98%, па чак и код појединаца са палпабилним тумором [6]. Аспирациона биопсија танком иглом (FNAB - Fine Needle Aspiration Biopsy) је дијагностички инструмент који се употребљава за пункцију нодуса штитасте жлезде код особа код којих се сумња на постојање папиларног карцинома штитасте жлезде. На овај начин се такође врши и пункција увећаног суспектног цервикалног лимфног нодуса, када се може установити метастатски папиларни карцином штитасте жлезде будући да пацијенти могу имати и локално дисеминовану болест како код палпабилног, тако и код непалпабилног примарног тумора.

1.2 Генетски фактор у настанку папиларног карцинома штитасте жлезде

Иако је на основу досадашњих истраживања показан јасан значај генетских фактора у настанку папиларног карцинома штитасте жлезде, до сада нису пронађени појединачни генетски маркери који се јасно везују за његов настанак, као што је то случај са мутацијама RET гена код медуларног карцинома штитасте жлезде [7]. С друге стране, одређене мутације су идентификоване као изузетно значајне за патогенезу папиларног карцинома штитасте жлезде, па се због тог својства у одређеним установама користе и као додатни дијагностички, прогностички и терапијски биомаркери [8]. За присуство мутације V600E у BRAF гену показана је релативна конзистенција у случају папиларног и анапластичног карцинома штитасте жлезде, па се захваљујући томе користи као значајно диференцијално дијагностичко средство за диференцирање папиларног карцинома штитасте жлезде од осталих малигних тумора штитасте жлезде. Ипак, учесталост ове мутације је изузетно варијабилна, тако је код фоликуларне варијанте папиларног карцинома штитасте жлезде присутна у само 5-20% случајева, док је код класичне варијанте присутна у знатно већем броју случајева (35-70%). Такође, BRAF мутације су повезане и са предикцијом појединих фенотипских особина тумора, као што је одговор на терапију радиоактивним јодом J^{131} [9]. У папиларном карциному штитасте жлезде се могу наћи реаранжмани RET/PTC са изузетно варијабилном фреквенцијом у различитим хуманим популацијама (5-80%). У оквиру ових реаранжмана често се уочавају фузије тирозин киназног домена RET гена, при чему је RET/PTC1 најчешћа форма код одраслих, док је RET/PTC3 фузија најчешћа код деце. Активирајуће тачкасте мутације N-RAS протоонкогена су присутне у мањем броју случајева, а њихова највећа фреквенција јављања је код фоликуларне варијанте папиларног карцинома штитасте жлезде [10]. Папиларни карцином штитасте жлезде је описан и код пацијената са породичном аденоматозном полипозом колона, наследним неполипозним карциномом колона, атаксијом телангиектазијом, као и код Кауденовог синдрома, који подразумева постојање вишеструких хамартома широм организма [11].

1.3 Патолошке особине и типови папиларног карцинома штитасте жлезде

Макроскопски изглед тумора показује значајну варијабилност. Већина тумора има чврсту конзистенцију, ређе цистичну структуру, сиво-белу боју, са калцификацијама и могу бити локализовани у било ком анатомском делу штитасте жлезде. Папиларни карцином штитасте жлезде може да поседује својство инфилтративног раста, као и да испољава екстратироидну локализацију, захватајући околна ткива и органе на врату [12]. Некроза и акутна инфламација нису карактеристике типичног облика папиларног карцинома штитасте жлезде, већ сугеришу да се ради о туморима у узнапредовалом стадијуму. Дијагноза папиларног карцинома штитасте жлезде како у цитолошком, тако и у хистолошком материјалу се заснива на идентификацији карактеристичне једарне морфологије. Папиларни карцином штитасте жлезде може се јавити у више патохистолошких варијанти.

Класична варијанта

Микроскопски се класична варијанта папиларног карцинома штитасте жлезде карактерише присуством папила са централним фиброваскуларним језгром, које је покривено са једним или више слојева ћелија које поседују велика овална хипохроматична једра. Такође, карактеристике једара папиларног карцинома штитасте жлезде су и постојање једарних жлебова, иако они нису карактеристични искључиво за папиларни карцином штитасте жлезде, већ могу бити присутни и код других бенигну обольења штитасте жлезде. Уколико су присутна псамомска тела, она потичу од некротисаних папила у којима се акумулира калцијум [13]. Поред папила чије је присуство у тумору доминантно, у папиларним карциномима штитасте жлезде се могу јавити и фоликуларне структуре. Папиларни карцином штитасте жлезде врши инвазију лимфатика унутар штитасте жлезде, што узрокује високу инциденцу метастаза у регионалним лимфним нодусима, као и мултицентричну лимфогену дисеминацију унутар саме жлезде. Процењује се да око 50% пацијената у тренутку презентације болести има регионалне метастазе у лимфним нодусима, што не утиче значајно на дуготрајну прогнозу болести [14].

Највећи број тумора се приликом иницијалне дијагнозе налази у T1 стадијуму и показује добру диференцијацију, али се у неким од њих могу наћи и зоне слабе диференцијације са повећаним митотским индексом и ћелијском атипичношћу, и тада је значајно лошија прогноза у односу на добродиферентоване туморе. Иако веома ретка, у оквиру тумора се може јавити и анапластична трансформација, која чини дуготрајну прогнозу значајно гором у односу на туморе без овог својства [15]. Удаљене метастазе у плућима и костима се јављају у 5-7% пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, али се чак и упркос њиховом постојању преживљавање може продужити уколико постоји добар одговор на радиојодну терапију [16].

Микрокарцином

Према СЗО у папиларни микрокарцином се сврставају тумори мањи од 1 cm, који су релативно чести и најчешће инцидентално откривени, како на прегледима, тако и приликом аутопсије. Њихов ток је у највећем броју случајева индолентан, иако су описане како регионалне, тако и удаљене метастазе [17]. У студији Ногучија и сарадника је саопштено да је код више од половине пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде установљена микропапиларна варијанта, која је успешно дијагностикована високо резолутивним ултрасонографским прегледом са потврдом дијагнозе на основу аспирационе биопсије под контролом ултразвука. Код највећег броја оболелих од овог типа карцинома је индикована мање обимна хируршка процедура која подразумева тироидну лобектомију, без потребе за постоперативном супресијом ТСХ и радиојодном аблацијом. Код мањег броја пацијената постоји екстратироидна дисеминација примарног тумора, када је потребно урадити тоталну тироидектомију [18].

Фоликуларна варијанта

Ова форма се одликује фоликуларном структуром и може се јавити у облику дифузне фоликуларне варијанте и инкапсулиране фоликуларне варијанте, која у

односу на претходно наведену има значајно бољу прогнозу. Прогноза фоликуларне варијанте се не разликује значајно од прогнозе класичне варијанте папиларног карцинома штитасте жлезде, осим уколико постоје регионалне или удаљене метастазе, када је прогноза лоша. Дијагностички се овај тип тумора може често заменити са фоликуларним аденомом или аденоматозним нодусом [19].

Солидна варијанта

Ова честа форма тумора се одликује солидним растом у више од 50% масе тумора и најчешће се среће код деце и млађих особа, а забележена је код око 30% оболелих након Чернобилске катастрофе. Прогноза је контраверзна, зато што постоје студије које су показале да има прогнозу сличну класичној варијанти, док су описани и случајеви са агресивнијим биолошким понашањем и неповољним клиничким исходом [20].

Високоћелијска варијанта

Високоћелијска (Tall-cell) варијанта папиларног карцинома карактерише се присуством великих тумора, који имају екстратиرويدну пропацију, висок митотски индекс и васкуларну инвазију. Унутар тумора може доћи и до дедиференцијације у сквамозни или анапластични карцинома, па се овај тип папиларног карцинома штитасте жлезде карактерише лошијом прогнозом у односу на друге подтипове, поготово код старијих особа [21].

Колумнарна варијанта

Овај тип папиларног карцинома штитасте жлезде представља ретку форму болести. Слично као и код високоћелијског типа, тумори су макроскопски велики и често се екстратиرويدно пропагирају. У односу на остале подтипове папиларног карцинома штитасте жлезде прогноза је лошија, јер највећи број смртних случајева наступа током првих 5 година од постављања дијагнозе [22].

Друге варијанте

У ретке варијанте папиларног карцинома штитасте жлезде спадају и Вартин-слична варијанта, дифузно склерозирајућа, инкапсулирана, крибриформно-моруларна, макрофоликуларна и онкоцитна варијанта [23, 24].

1.4 Дијагностика папиларног карцинома штитасте жлезде

Када се установи присуство како палпабилног, тако и непалпабилног нодуса у штитастој жлезди, неопходно је извршити његову дијагностичку евалуацију. Палпаторно, папиларни карцином штитасте жлезде је чврсте конзистенције, а уколико је фиксиран или код пацијента постоје знаци инвазије као што је промуклост, може се са великом сигурношћу очекивати и да постоји метастатска болест. Значајно дијагностичко средство представља ултрасонографска или компјутеризовано томографска карактеризација, која са доста великом сигурношћу може да изазове сумњу лекара на малигну природу нодуса. На основу параметара као што су облик, однос попречне и уздужне димензије, структура нодуса, ехогеност, присуство микрокалцификација и инвазије околних структура формирана је дијагностичка скала која се назива ТИРАДС (TIRADS - Thyroid image reporting and data system) скор. Ова скала на основу ултрасонографских параметара, може са одређеним степеном вероватноће указати на малигну природу нодуса у штитастој жлезди [25]. Специфичан циркулаторни тумор маркер за папиларни карцином штитасте жлезде не постоји. Одређивање концентрације тиреоглобулина у крви има ограничену информативност када је у питању њена вредност као тумор маркера за добро диферентоване карциноме штитасте жлезде. Ова вредност добија свој значај након операције када се користи као показатељ евентуалне рецидивантне природе болести и постојања метастаза [26]. Након сумње на малигну природу нодуса, неопходно је спровести аспирациону биопсију, на основу које се карцином може успешно дијагностиковати уколико је цитолошки материјал квалитетно узет и интерпретиран од стране искусног патолога. С обзиром да аспирациона биопсија има недостатака, попут неадекватно узоркованог материјала или погрешне

интерпретације, неопходно је да се хирург ослони и на клиничке карактеристике приликом доношења одлуке о операцији [27]. Дефинитивна дијагноза се може поставити тек након операције, када се патохистолошким прегледом успоставља дефинитивна дијагноза.

1.5 Лечење папиларног карцинома штитасте жлезде

Иницијални и једини адекватни терапијски модалитет за лечење папиларног карцинома штитасте жлезде представља операција, која може бити допуњена радиојодним третманом. Постоје бројне дебате које се баве питањем обима операције, употребе и дозирања радиојодне терапије. Разлози за тоталну тироидектомију приликом инцијалне операције су: велика учесталост билатералних карциномских фокуса, могућност за појаву рекурентне болести у контралатералном лобусу, повећано преживљавање код пацијената са тумором већим од 1,5 cm у случају спровођења тироидектомије, већа ефикасност радиотерапије у постоперативном третману, серумске вредности тиреоглобулина се могу користити као маркер рекурентне болести, као и чињеница да реоперација ради комплетирања тироидектомије носи са собом већи ризик од компликација попут лезије повратног ларингеалног рекурентног живца и трајног хипопаратироидизма [28]. Са друге стране, разлози за операцију која подразумева „мање од тоталне тироидектомије“ су: окултна мултицентричност није клинички значајна, више од половине локалних рецидива се могу успешно уклонити приликом друге операције, тотална тироидектомија не уклања микрометастазе у лимфним нодусима, као и значајно мањи ризик од настанка специфичних компликација у односу на тоталну тироидектомију [28]. Додатно отворено питање представља одређивање оптималне дозе радиојодне терапије, која још увек није усаглашена. Постоји тренд да се радиојодна терапија селективно користи само код оних пацијената са метастазама код којих се сматра да ће бити постигнут добар одговор, јер употреба овог терапијског модалитета није без ризика. Истовремено, радиојодна аблација није једина терапијска могућност у лечењу метастатске болести, већ се задовољавајући терапијски ефекат може постићи и хируршком терапијом која подразумева

спровођење различитих врста дисекција лимфних нодуса врата и евентуално метастатектомије удаљених секундарних депозита [29]. Хемотерапија је показала велика ограничења у лечењу папиларног карцинома штитасте жлезде, а делимична ефикасност је забележена код употребе цисплатине или доксорубицина код пацијената са коштаним метастазама. Употреба тирозин киназних инхибитора, микро РНК и других модерних облика антинеопластичних лекова у лечењу папиларног карцинома штитасте жлезде је обећавајућа, али је и даље далеко од рутинске примене у свакодневној клиничкој пракси широм света [30].



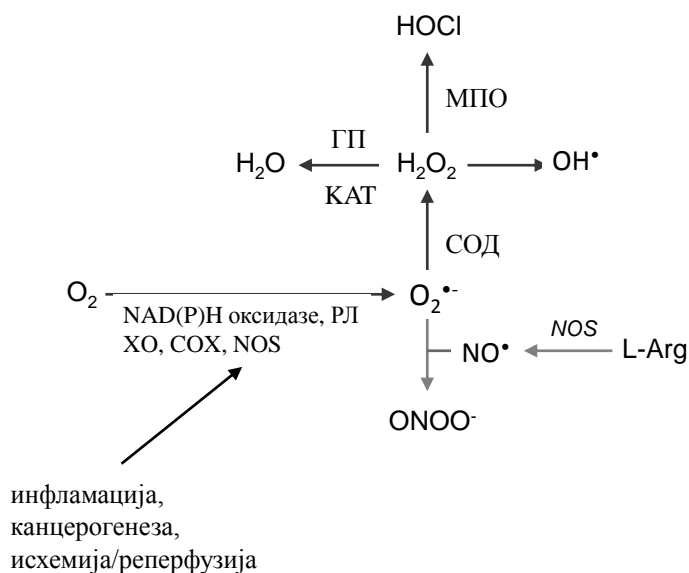
1.6 Биолошки редокс процеси – основни појмови

Приликом многобројних и комплексних метаболичких процеса у организму, молекули подлежу бројним хемијским изменама које укључују и реакције оксидације и редукције. Под оксидацијом се подразумева способност молекула да преда електрон, док је редукција процес у коме молекула прима електрон. Оксидација и редукција могу својим хемијским променама да учине молекуле нестабилним и потенцијално високо реактивним, и да при томе у интеракцији са другим молекулима изазову оштећења ћелијских и субћелијских компоненти као што су мембране, протеини и ДНК [31]. У биолошком смислу се терминолошки појам оксиданти везује за оне молекуле који имају афинитет да предају неспарене електроне неком другом молекулу, вршећи при томе његову хемијску трансформацију. Њихов афинитет за примаоца електрона их чини хемијски агресивним, па су термини „слободни радикали“ и „прооксиданти“, додатни литературно прихваћени називи за оне атоме и молекуле који имају својства оксиданата. С друге стране, они молекули који имају могућност да приме неспарени електрон оксиданата и тиме доведу до своје редукције, и при томе спрече оштећење биолошки значајних молекула називају се антиоксиданти [32]. Тако на ћелијском и супраћелијском нивоу постоји интеракција између оксиданата/редуцената, тј. оксиданата/антиоксиданата која се другачије назива редокс равнотежа, а богатство

синонима и различитих термина за један исти појам осликава екстензивност њиховог проучавања током дугог временског периода.

1.7 Хемијски принципи и биолошки значај слободних радикала

Слободни радикали (оксиданти, прооксиданти) су молекули које поседују један или више неспарених електрона у атомским или молекулским орбиталама [33]. У току редокс реакција које су у основи различитих биохемијских путева настају реактивни кисеонични радикали, скраћено РОС (ROS - Reactive Oxygen Species) (Слика 1). У РОС спадају супероксидни радикал ($O_2^{\cdot-}$), пероксидни радикал (ROO^{\cdot}), хидроксилни радикал (HO^{\cdot}), алкоксилни радикал (RO^{\cdot}), азот оксидни радикал (NO^{\cdot}) и синглетни кисеоник (1O_2). Наведени слободни радикали садрже један неспарен електрон у својим валентним орбиталама, што их чини изузетно афинитетним и реактивним према другим молекулима, којима предајући електрон постижу минимум слободне енергије и термодинамичку стабилизацију [34]. Супероксидни радикал се формира у митохондријама редукцијом кисеоника једним електроном и његово штетно дејство се доминантно огледа у индуковању липидне пероксидације и оксидативном оштећењу ћелијских мембрана. У физиолошким условима не изазива токсичне ефекте, јер подлеже каталитичкој разградњи доминантно под дејством ензима супероксид дисмутазе (СОД) који га трансформише у мање реактиван водоник пероксид [35].



Слика 1. Дијаграм хемијских реакција које узрокују настанак РОС. Као неки од могућих иницијатора продукције прооксиданата наведени су инфламаторни процес, канцерогенеза и исхемијско/реперфузијско оштећење. Наведена стања доводе до активације и/или појачане експресије ензима који оксидују кисеоник у супероксидни радикал. Скраћенице: РЛ-респираторни ланац, XO-ксантин оксидаза, COX-циклооксигеназа, NOS-азот оксид синтаза, СОД-супероксид дисмутаза, ГП-глутатион пероксидаза, КАТ-каталаза, МПО-мијелопероксидаза.

Водоник пероксид у ћелијама настаје редукцијом молекула кисеоника са два електрона, најчешће у реакцијама у којима учествују различити ензими из групе оксидаза. Иако представља најстабилнији интермедијарни продукт редукције кисеоника, водоник пероксид испољавајући директне токсичне ефекте, доводи и до поремећаја у депоновању калцијума у митохондријама. У овим околностима долази до последичног нагомилавања калцијума у цитосолу и губитка слободних сулфхидрилних група протеина, што представља критичан догађај у генези ћелијских оштећења у условима оксидативног стреса, услед смањења унутарћелијског антиоксидативног капацитета. Ћелије такође имају развијене механизме помоћу којих се штите од водоник пероксида снажним ензимским

деловањем глутатион пероксидазе (ГП) у митохондријама и цитосолу и каталазе (КАТ) у пероксизомима [36]. Хидроксилни радикал је хемијски и биолошки најреактивнији интермедијерни производ делимичне редукције кисеоника. Претежно настаје у случају када се водоник пероксид не разграђује и да при томе реагује са ферио (Fe^{2+}) јонима, формирајући потентнији РОС, какав је хидроксилни радикал (Фентонова реакција). Деловањем *in situ*, хидроксилни радикал доводи до оштећења митохондријске мембране стварајући услове за смањење адекватне производње АТП-а и тиме изазива деплецију ћелијских енергетских ресурса. Поред митохондријске мембране, оштећује и ћелијску мембрану модификујући мембранске протеине и изазивајући липидну пероксидацију која представља довољан услов за иреверзибилно оштећење ћелије [37]. Синглетни кисеоник настаје трансфером енергије на кисеонични атом, при чему долази до промене спина једног од електрона, што доводи до значајног увећања његове реактивности. У таквом физичко хемијском стању, синглетни кисеоник има капацитет да доведе до значајне токсичности током различитих биолошких процеса [38]. Захваљујући својим хемијским особинама, РОС могу да секундарно доведу до настанка и других врста слободних радикала, као што су реактивни азотни радикали, скраћено РНС (RNS - Reactive Nitrogen Species). У њих се убрајају пероксинитрит (ONOO^\cdot), азот диоксид (NO_2^\cdot), нитрозопероксикарбонат (ONOOOCO_2^\cdot), као и бројни други секундарни органски азотни слободни радикали [39].

1.8 Ефекти слободних радикала на биомакромолекуле

Липиди

Пероксидација полинезасићених масних киселина које улазе у састав фосфолипида ћелијских мембрана је процес у току кога незасићена масна киселина ступа у реакцију са РОС, при чему настаје липидни пероксидни радикал који започиње самопропагирајућу ланчану реакцију пероксидације ћелијске мембране [40]. Пероксидација мембранских липида се углавном јавља као последица оксидативног стреса у ћелији која је претходно била у стању редокс равнотеже, доводећи до

значајних штетних ефеката који ремете нормалну функцију мембране. Уколико се мембранска липидна пероксидација не заустави неким од доступних антиоксидантних механизма, долази до оштећења плазмалеме, које утиче на ћелијско преживљавање [41].

Протеини

Хемијска природа протеина условљава постојање великог броја потенцијално реактивних функционалних група које могу бити оштећене у току интензивне оксидације. Последице оваквих оштећења су како разградња, тако и хемијска трансформација у метаболите који више не могу да обављају своју изворну биолошку улогу. Слободни радикали могу променити структуру кључних аминокиселина у протеинима за које се везују јони метала или лиганди, доводећи при томе до поремећаја у функцији ензима, унутарћелијских и/или ванћелијских гласника, пептидних метаболита и антигена/антитела [42]. Истовремено, структурни протеини могу бити оштећени прооксидантима до те мере да долази до делимичног или потпуног губитка њихове функције и настанка парапротеинских облика који показују антигене особине. Наведене модификације протеина могу бити препознате као сигналне секвенце од стране специфичних ћелијских протеаза које деградирају такве протеине у процесу убиквитин-протеазомалног система протеолизе [43].

Нуклеинске киселине

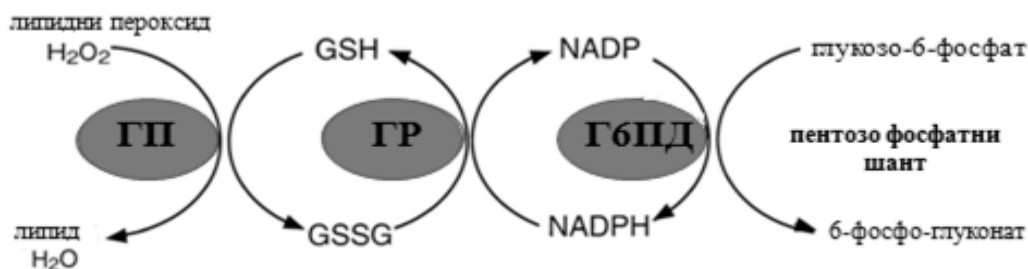
Нуклеинске киселине подлежу оксидативном оштећењу претежно у реакцији са хидроксилним кисеоничним радикалом, који може да узрокује настанак више од 20 различитих једноланчаних или дволанчаних прекида или формирања хидроксилних деривата азотних база, од којих је најпознатији 8-оксо-дезоксигуанозин. Уколико се у процесу репарације молекула ДНК не отклоне последице хемијске модификације ДНК молекула под дејством слободних радикала, онда настају мутације које могу бити одговорне за генетске дефекте изазване оксидативним стресом, које водити у правцу ћелијске смрти или канцерогенезе [44].

1.9 Антиоксидативни заштитни механизми

У физиолошким околностима, концентрација РОС је релативно ниска, захваљујући антиоксидативним заштитним механизмима који делују како у најранијим тренуцима формирања слободних радикала, тако и током њихових одмаклих ефеката у ћелијској средини. У антиоксидативне молекуле спадају различита једињења, па је од бројних критеријума за поделу најзначајнија она на ензимске и неензимске [45].

Ензимски антиоксиданти

Супероксид дисмутаза (СОД) је мултимерни металоензим, који представља прву линију одбране од РОС и врши дисмутацију супероксидног у пероксидни кисеонични радикал. Код човека су окарактерисане три различите изоформе СОД (цитосолна $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ -зависна (СОД 1), митохондријска Mn^{2+} -зависна (СОД 2) и ванћелијска $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ -зависна СОД 3)) [46]. Пероксидни радикал који настаје као резултат деловања СОД се редукује у молекул воде посредством селено-зависне глутатион пероксидазе, која постоји у најмање 5 изоформи код сисара и самостално ефикасно делује против липидних и других врста органских хидропероксида. За своје деловање против водоник пероксида, глутатион пероксидаза (ГП) користи редуковани глутатион, који се при томе трансформише у оксидовану форму. За регенерацију глутатиона неопходан је редуковани коензим NADPH који се користи у реакцији редукције оксидованог глутатиона под дејством глутатион редуктазе (ГР) и чини га поново доступним за процес антиоксидативног деловања. Извор редукованог NADPH представља ензим глукозо-6-фосфат дехидрогеназа, који редукује оксидовану форму NADP. Спрега реакција које чине ГП, ГР, глутатиона, глукозо 6-фосфат дехидрогеназе се назива глутатионски редокс циклус (Слика 2).



Слика 2. Глутатионски редокс циклус. За неутрализацију водоник пероксида и липидних пероксида користи се редуковани глутатион (GSH), који се користи приликом каталитичке активности ГП, а поново се регенерише из оксидоване (GSSG) у редуковану форму под дејством ензима ГР. Донор протона приликом редукције оксидованог глутатиона представља NADPH, који се редукује под дејством ензима глукозо-6-фосфат дехидрогеназе (Г6ПД), а протоне користи из купловане реакције оксидације глукозо-6-фосфата у 6-фосфо-глуконат која припада пентозо фосфатном шанту.

У одређеним случајевима, глутатион се може и директно везати за одређени прооксидантни супстрат или ксенобиотик, а овај вид реакције катализује ензим глутатион С-трансфераза (ГСТ) [47]. Поред ГП и КАТ представља ензим чији је супстрат водоник пероксид. Глутатионски редокс циклус је главни извор заштите од слабе и умерене количине пероксидних радикала, док је активност КАТ од значаја у стањима када настаје висока концентрација водоник пероксида [48].

Неензимски антиоксиданти

Поред ензимских, постоје и неензимске компоненте антиоксидативне заштите у које спадају витамини Е и Ц, билирубин, мокраћна киселина, каротеноиди, трансферин, феритин, лактоферин, албумин, хемоглобин, хемопексин, убихинон, глутатион, мелатонин итд. Поред ензимских антиоксиданата, неензимске компоненте синергистички делују у одбрани од штетних ефеката прооксиданата. Могу деловати и као хелатори прелазних метала и на тај начин индиректно спречити настанак слободних радикала по типу Фентонове реакције [49].

1.10 Оксидативни стрес

Реактивни слободни радикали играју кључну улогу у бројним физиолошким стањима која подразумевају процесе имунске одбране, инфламације и ћелијске сигнализације. Оксидативни стрес је стање које означава квантитативну експанзију слободних радикала, како због њихове повећане продукције, тако и/или због смањеног деловања антиоксидативних заштитних механизма [50]. За оксидативни стрес се може рећи да представља нормалну појаву на нивоу ћелије и ткива, јер је уско повезан са процесима стварања енергије у ћелији, одбране од патогена током „респираторног праска“ фагоцита и неких врста ћелијске сигнализације. Када се поремети фина равнотежа и када се исцрпе природни механизми одбране, па концентрација слободних радикала превазиђе антиоксидативне капацитете организма, приликом чега се мења оксидативни статус, тада ћелија улази у стање повећаног оксидативног оштећења. Оксидативни стрес може проузроковати разноврсна оштећења ћелије и њених финих структура, дисрегулацију метаболичких путева, путева преживљавања и сигналних каскада [51]. Према схватању савремене медицине, штетан ефекат оксидативног стреса представља снажан етиолошки фактор у настанку многих акутних и хроничних болести у које спадају: кардиоваскуларна обољења, запаљенске болести попут реуматоидног артритиса и васкулитиса, неуролошка обољења, дијабетес, фиброза плућа, катаракта, итд. [52]. Посебан значај оксидативног стреса се огледа у еволуцији малигне трансформације, где представља како узрок, тако и пратећу појаву која је карактеристика метаболизма малигне ћелије [53].

1.11 Методе за лабораторијско испитивање оксидативног стреса

Имајући у виду чињеницу да је оксидативни стрес препознат као значајан феномен који је укључен у бројне физиолошке и патолошке процесе, његово лабораторијско испитивање се вишедеценијски налази у фокусу бројних истраживача. Имајући у виду да је до сада у индексираним часописима објављен импозантан број публикација које обрађују феномен оксидативног стреса, јасно је да је том значајном

доприносу целокупне научне заједнице морао да претходи развој адекватних биомаркера и одговарајуће методологије за његово испитивање. Према дефиницији Националног Института за здравље САД, биомаркер је „она карактеристика која се објективно мери и процењује као показатељ нормалних биолошких процеса, патолошких процеса или фармаколошког одговора на терапеутску интервенцију“ [54]. Данас постоји велики број биомаркера који анализирају да ли у испитиваном биолошком материјалу постоји оксидативни стрес, колики је његов интензитет и какви су ефекти на појединачне групе биомолекула, што се првенствено односи на липиде, протеине и нуклеинске киселине [55]. Један од значајних проблема у тачном одређивању концентрације слободних радикала је њихов веома кратак полуживот, па је опште прихваћен принцип у лабораторијској методологији да се квантификују стабилни крајњи продукти настали у реакцијама слободних радикала и различитих биолошки значајних молекула. С друге стране, и овај приступ има недостатак, а то је могућност да се оваквим одређивањем не може веродостојно проценити реалан редокс статус у ћелијама и ткивима [56]. Када је у питању оксидативно оштећење липида, одређивање концентрације малондиалдехида (МДА) и изопростана представља два највише коришћена биомаркера за процену њиховог оксидативног оштећења. У друге маркере оксидативног оштећења липида спадају липидни хидропероксиди, флуоресцентни производи липидне пероксидације и оксистероли [57]. За процену степена оксидативног оштећења протеина користи се одређивање садржаја завршних производа оксидације протеина, скраћено АОПП (AOPP – Advanced Oxidation Protein Products), нитротирозина и карбонилних група [58]. Оксидативно оштећење молекула ДНК се процењује одређивањем концентрације 8-хидрокси-дезоксигуанозина, продукта оксидације гуанина, који је посебно подложен оксидацији у односу на друге азотне базе [44]. Такође, доступне су и методе за одређивање активности антиоксидативних ензима, као и других неензимских компоненти антиоксидативног заштитног система. У највећем броју студија се квантификује активност СОД, КАТ, ГП, ГР и ГСТ, као и концентрација глутатиона, витамина Ц и Е и других неензимских антиоксиданата. Одређивање укупног садржаја тиола у испитиваном материјалу пружа добар увид у општи редуктивни потенцијал ћелије, који потиче од сулфхидрилних група протеина и пептида [59]. У

истраживачкој пракси се за процену ћелијског редокс статуса увек користи више наведених оксидативних и антиоксидативних биомаркера, будући да ниједан од наведених маркера не поседује апсолутну информативност, валидност и специфичност. С тим у вези се и квалитет редокс студија огледа у броју употребљених биомаркера и њиховом потенцијалу да обухвате детекцију оштећења различитих биолошки значајних молекула. Развијене су методе чији је хемизам адаптиран тако да може да пружи увид у укупни ћелијски оксидантни и антиоксидантни статус, узимајући у обзир ефекат свих оксиданата и антиоксиданата. У својим радовима, Ерел и сарадници су успоставили методе за одређивање „тоталног оксидантног статуса – (ТОС)“, „тоталног антиоксидантног статуса – (ТАС)“ и индекса оксидативног стреса – (ИОС), омогућавајући испитивање кумулативног ефекта свих хемијских врста оксиданата и антиоксиданата на ћелије и ткива [60, 61]. Истраживања на предмету откривања нових биомаркера оксидативног стреса се настављају, као и на валидацији претходно наведених, о чему сведочи и непрекидан прилив нових научних публикација из ове области, које се у све већој мери ослањају на модерна технолошка достигнућа у молекуларној биологији.

2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

У досадашњим истраживањима не постоји довољно података о редокс статусу у папиларном карциному штитасте жлезде, а ограничен број студија се заснива првенствено на евалуацији маркера оксидативног стреса у системској циркулацији.

Циљ истраживања је молекуларна карактеризација оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву штитасте жлезде оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме, кроз:

1. Одређивање биохемијских параметара оксидативног стреса у туморском и околном здравом ткиву пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, као и у ткиву штитасте жлезде пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме.
2. Испитивање међузависности биохемијских параметара оксидативног стреса, као и њихове зависности од демографских, клиничких и патолошких параметара.

За биохемијске маркере оксидативног стреса дефинисане у првом циљу истраживања одабрани су: концентрација МДА, АОПП, затим ТОС, ТАС и ИОС, укупни садржај тиола, као и активности ензима антиоксидативне заштите СОД, КАТ, ГП, ГР.

Демографски параметри подразумевају пол и узраст, клинички параметри обухватају пушачки статус, постојање обољења штитасте жлезде у породици, присуство ретростерналне струме, циркулишуће вредности тироидних хормона и анти tiroидних антитела, ултрасонографску величину тумора, док патолошки подаци обухватају патохистолошки тип папиларног карцинома штитасте жлезде, ТНМ стадијум тумора, постојање инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације тумора.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1 Протокол експеримента

Селекција пацијената

Сви пацијенти који су укључени у студију су били пацијенти Центра за ендокрину хирургију, Клиничког Центра Србије у Београду.

Експерименталним дизајном формиране су две групе пацијената:

1. група од 70 оперисаних пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде
2. контролна група од 50 пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде.

Студија је дизајнирана тако да се састоји од две контролне групе. Једна од њих представља сопствену контролу околног здравог ткива штитасте жлезде код пацијената оперисаних због папиларног карцинома штитасте жлезде, док другу контролну групу чине узорци ткива бенигне полинодозне струме штитасте жлезде, који су сакупљени од различитих пацијената.

У студију су укључени пацијенти оба пола и свих узрасних категорија (Табела 1). Од пацијената су сакупљени основни демографски подаци, подаци о животним навикама, подаци о породичној историји обољења штитасте жлезде и коморбидитетима.

Табела 1. Основни подаци о пацијентима оболелим од папиларног карцинома штитасте жлезде (ПК) и бенигне полинодозне струме (БС) штитасте жлезде.

Параметар	ПК	БПС	P
Број пацијената	n = 70	n = 50	
Старост (године)	54,03 ± 1,72 ^a	63 ± 15 ^b	0,147 [‡]
Пол (мушки/женски)	22/48	12/38	0,373 [†]

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина \pm стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквартилним опсегом. [†] Хи-квадрат тест; [‡] Ман-Витнијев тест

Пацијенти који су укључени у студију су према дефинитивном патохистолошком налазу одабрани из веће групе пацијената оперисаних како због малигних, тако и због бенигних обољења штитасте жлезде.

Преоперативна дијагноза је постављена на основу цитолошког налаза добијеног након аспирационе биопсије танком иглом, која је рутински спроведена код свих пацијената укључених у студију током преоперативне обраде. Дефинитивна дијагноза је постављена на основу постоперативног патохистолошког прегледа препарата штитасте жлезде.

Да би се у највећој могућој мери смањио ефекат различитих унутрашњих и спољашњих придружених фактора, у студију нису укључени пацијенти који имају системска обољења, дијабетес, нестабилну ангину пекторис, други малигнитет, хронична обољења јетре и бубрега, акутно или хронично инфективно обољење и који су на хроничној имуносупресивној, антиреуматској и антикоагулантној терапији.

За потребе овог истраживања, сакупљени су и клинички подаци који се односе на циркулишуће вредности хормона штитасте жлезде, тиреоглобулина (ТГ), анти-тиреоглобулинских (ТГ-ат) и анти-тиреопероксидазних (ТПО-ат) антитела, ултрасонографске величине патолошких промена, док су од патолошких података узети у обзир патохистолошки тип папиларног карцинома штитасте жлезде, ТНМ стадијум тумора, инвазивност капсуле и мултицентрична дисеминација тумора.

3.2 Узорковање ткивног материјала

После операције, од сваког пацијента оболелог од папиларног карцинома штитасте жлезде је сакупљен узорак туморског ткива и здравог ткива штитасте жлезде са највеће могуће удаљености од примарног тумора. Код контролних пацијената

узорковано је ткиво бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Непосредно након тироидектомије, стерилним скалпелом је ексцидирано око 1 cm³ ткива и пребачен у стерилне пластичне епендорф епрувете запремине 1,5 ml. Суви узорци у епендорф епруветама су складиштени на -80°C до тренутка даље обраде.

Експериментални део истраживања урађен је у Лабораторији за биолошку хемију Института за хемију у медицини, Медицинског факултета у Београду.

3.3 Хомогенизација ткивног материјала

Након кратког испирања узорака стерилним физиолошким раствором, узорци ткива су механички хомогенизовани у електричном ротационом хомогенизеру. Сваком узорку ткива је додато 500 µl фосфатног пуфера (c=0,05 mol/l, pH=7,0) и таква смеша је хомогенизована у епруветама које су својим дном биле урођене у лед, како би се избегло загревање материјала током процеса хомогенизације. Након 30-60 s, хомогенизација је окончана, а пуферовани ткивни хомогенат је пребачен у стерилне епендорф епрувете запремине 1,5 ml, аликвотиран и чуван на -80°C до предстојећих биохемијских анализа [62].

3.4 Одређивање концентрације протеина у ткивним хомогенатима

Концентрација протеина у узорцима ткивних хомогената одређена је спектрофотометријском методом по Брадфорду [63]. Спектрофотометријском квантификацијом у видљивом делу спектра на $\lambda=595$ nm, очитане су апсорбанце узорака, а линеарном регресијом су на основу стандардне праве добијене концентрације протеина ткивних хомогената и изражене као милиграм протеина по милилитру ткивног хомогената [mg/ml].

3.5 Одређивање концентрације малондиалдехида у ткивним хомогенатима

У циљу одређивања укупне концентрације малондиалдехида, примењена је спектрофотометријска ТБАРС метода [64]. Ткивним хомогенатима је прво додат

10% водени раствор натријум додецил сулфата у запреминском односу 1:1, а потом бојени реагенс, који је садржао тиобарбитурну киселину ($c=7 \text{ mmol/l}$) растворену у 20% воденом раствору сирћетне киселине, а којој је потом додата једнака запремина воденог раствора натријум хидроксида ($c=1 \text{ mol/l}$). Смеша је инкубирана 30 минута у термоблоку на 100°C , а по истеку инкубационог периода, реакција је заустављена пребацивањем узорака на лед. Након 10 минута инкубације на леду, узорци су центрифугирани на 4.000 обртаја у минути током 5 минута, како би се преципитирао талог денатурираних протеина. Бистри супернатант је пребачен у епрувете, а потом је абсорбанца очитана на $\lambda=532 \text{ nm}$. Концентрација малондиалдехида у ткивном хомогенату добијена је коришћењем Ламбер-Беровог закона, као количник абсорбанце и моларног екстинкционог коефицијента хромогеног производа ($\epsilon=1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) и изражена у јединицама μmol малондиалдехида по милиграму протеина ткивног хомогената [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина].

3.6 Одређивање садржаја завршних производа оксидације протеина

Садржај завршних производа оксидације протеина (АОПП) ткивних хомогената, одређен је UV-спектрофотометријском методом по Витко-Сарсату [65]. Метода се заснива на мерењу пораста абсорбанце приликом реакције калијум јодида и завршних производа оксидације протеина дитиروزинске природе у киселој средини. Реакциона смеша се састојала од 5 μl ткивног хомогената, 195 μl фосфатног пуфера ($c=20 \text{ mmol/l}$, $\text{pH}=7,4$), 20 μl сирћетне киселине концентрације 0,5 mol/l и 10 μl воденог раствора калијум јодида концентрације 1,16 mol/l . Смеша је инкубирана 10 минута на 37°C , а абсорбанца очитана на $\lambda=340 \text{ nm}$. За стандардизацију методе коришћен је водени раствор хлорамина-Т у концентрацијама 0-100 $\mu\text{mol/l}$. Добијени резултати су изражени у јединицама μmol хлорамин-Т еквивалената по милиграму протеина ткивног хомогената [$\mu\text{mol}/$ хлорамин-Т еквивалената/ mg протеина].

3.7 Одређивање тоталног оксидативног статуса

Тотални оксидативни статус (ТОС) ткивних хомогената, одређен је на основу спектрофотометријске методе по Ерелу [60]. Метода се заснива на оксидацији феро јона (Fe^{2+}) у фери јон (Fe^{3+}) у присуству различитих оксиданата у киселој средини и мерења концентрације Fe^{3+} јона бојеним индикатором ксиленол-оранжом. Реакциона смеша се састојала од 10 μl ткивног хомогената, 200 μl реагенса 1 (кисели раствор ксиленол-оранжа у сумпорној киселини, концентрације 25 mmol/l, уз додатак глицерола и натријум хлорида) и 50 μl реагенса 2 (кисели раствор Морове соли ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$) у сумпорној киселини, концентрације 25 mmol/l, уз додатак орто-дианизидина). Смеша је инкубирана 10 минута на 37°C , а абсорбанца очитана на $\lambda=560$ nm. За стандардизацију методе коришћен је водени раствор водоник пероксида у концентрацијама 0-100 $\mu\text{mol/l}$. Добијени резултати су изражени у јединицама $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ еквивалената по милиграму протеина ткивног хомогената [$\mu\text{mol/ H}_2\text{O}_2$ еквивалената/mg протеина].

3.8 Одређивање тоталног антиоксидантног статуса

Тотални антиоксидантни статус (ТАС) ткивних хомогената, одређен је спектрофотометријском методом по Ерелу [61]. Метода се заснива на способности антиоксиданата у узорку да инхибирају формирање АБТС \cdot^+ радикал катјона који настаје оксидацијом АБТС (2,2'-азино-ди-(3-етилбенз-тиазолин-сулфонат)) у киселој средини. Реакциона смеша се састојала од 5 μl ткивног хомогената, 200 μl реагенса 1 (ацетатни пуфер концентрације 40 mmol/l, pH=5,8) и 20 μl реагенса 2 (раствор АБТС у ацетатном пуферу концентрације 30 mmol/l, pH=3,6, уз додатак H_2O_2). Смеша је инкубирана 10 минута на 37°C , а абсорбанца очитана на $\lambda=660$ nm. За стандардизацију методе коришћен је водени раствор Тролокса у концентрацијама 0-100 $\mu\text{mol/l}$. Добијени резултати су изражени у јединицама μmol Тролокс еквивалената по милиграму протеина ткивног хомогената [$\mu\text{mol/Тролокс}$ еквивалената/mg протеина].

3.9 Одређивање индекса оксидативног стреса

Индекс оксидативног стреса (ИОС) је израчунат за сваки узорак као количник тоталног оксидативног статуса и тоталног антиоксидативног статуса, и изражен као бездимензионална вредност.

3.10 Одређивање укупног садржаја тиола

Укупни садржај тиола у ткивним хомогенатима одређен је спектрофотометријском методом по Елману [66]. Принцип методе се заснива на интеракцији између тиола и ДТНБ (5,5'-дитиобис-(2-нитробензоева киселина)), при чему настаје колорни анјон који показује максималну апсорпцију светлости на $\lambda=412$ nm. Реакциона смеша се састојала од 100 μ l ткивног хомогената, 20 μ l раствора ДТНБ концентрације 0,01 mol/l у 0,2 mol/l Na_2HPO_4 и 900 μ l 0,002 mol/l EDTA раствореног у Na_2HPO_4 (c=0,2 mol/l). Метода је калибрисана са градијентним раствором ацетил цистеина у распону концентрације 0-100 μ mol/l, а добијени резултати су изражени као микромоларна концентрација тиола по милиграму протеина ткивног хомогената [μ mol/mg протеина].

3.11 Одређивање активности супероксид дисмутазе

Активност супероксид дисмутазе (СОД) у ткивним хомогенатима, одређена је спектрофотометријски, методом по Сану и Зигману [67]. Метода се заснива на инхибицији аутооксидације адреналина у адренохром у базној средини. Реакциона смеша се састојала од 100 μ l ткивног хомогената, 100 μ l реагенса [100 μ l адреналина (0,18 g/l у 0,1 mol/l HCl) и 1,8 ml Tris-HCl пуфера (0,05 mol/l, pH=10,2)]. Промена абсорбанце на $\lambda=340$ nm је праћена током 10 минута реакције, а активност ензима је изражена као јединица ензимске активности по милиграму протеина ткивног хомогената [U/mg протеина].

3.12 Одређивање активности каталазе

Активност каталазе (КАТ) у ткивним хомогенатима је одређена спектрофотометријски методом по Роланду и Ирвину [68]. Метода се заснива на директном мерењу разградње водоник пероксида под дејством каталазе. Реакциона смеша се састојала од 100 μl ткивног хомогената, 1 ml реагенса [1 ml 0,18% H_2O_2 , раствореног у фосфатном пуферу ($c=0,05 \text{ mol/l}$, $\text{pH}=7,0$) и 2 ml фосфатног пуфера ($c=0,05 \text{ mol/l}$, $\text{pH}=7,0$)]. Промена абсорбанце на $\lambda=240 \text{ nm}$ је праћена током 6 минута реакције, а активност ензима је изражена као јединица ензимске активности по милиграму протеина ткивног хомогената [U/mg протеина].

3.13 Одређивање активности глутатион пероксидазе

Активност глутатион пероксидазе у ткивним хомогенатим одређена је спектрофотометријском методом по Венделу [69]. Метода се заснива на праћењу оксидације редукованог NADPH у NADP под дејством глутатион редуктазе који се троши у реакцији редукције оксидованог глутатиона под дејством глутатион пероксидазе. Реакциона смеша се састојала од 100 μl ткивног хомогената, 220 μl реагенса [100 μl воденог раствора NADPH ($c=8,4 \text{ mmol/l}$), 10 μl глутатион редуктазе ($U=100 \text{ U/mg/ml}$), 10 μl воденог раствора Na-азида ($c=1,125 \text{ mol/l}$) и 100 μl воденог раствора глутатиона ($c=0,02 \text{ mol/l}$)] и 2,8 ml фосфатног пуфера ($c=0,05 \text{ mol/l}$, $\text{pH}=7,0$). Промена абсорбанце на $\lambda=340 \text{ nm}$ је мерена током 6 минута реакције, а активност ензима је изражена као јединица ензимске активности по милиграму протеина ткивног хомогената [U/mg протеина].

3.14 Одређивање активности глутатион редуктазе

Активност глутатион редуктазе у ткивним хомогенатима одређена је спектрофотометријском методом по Карлбергу и Манервику [70]. Метода се заснива на праћењу оксидације редукованог NADPH и NADP под дејством глутатион редуктазе, приликом регенерације глутатиона из оксидованог у

редуковани облик. Реакциона смеша се састојала од 100 μl серума, 200 μl реагенса [100 μl воденог раствора глутатиона ($c=0,01 \text{ mol/l}$), 50 μl воденог раствора NADPH ($c=8,4 \text{ mmol/l}$), 50 μl воденог раствора EDTA ($c=1 \text{ mmol/l}$) и 1,6 ml фосфатног пуфера ($c=0,1 \text{ mol/l}$, $\text{pH}=7,0$). Промена апсорбанце на $\lambda=340 \text{ nm}$ је мерена током 6 минута реакције, а активност ензима је изражена као јединица ензимске активности по милиграму протеина ткивног хомогената [U/mg протеина].

3.15 Хемикалије и потрошни материјал

Хемикалије које су коришћене у експерименталној фази истраживања за квантификацију биохемијских параметара су набављене од Sigma-Aldrich Corporation (Сент Луис, САД). Реагенси за одређивање концентрације тироидних хормона, тиреоглобулина и антитироидних антитела су набављени од DiaSorin S.p.A, (Салуђа, Италија), а ELISA китови од Omega Diagnostics (Алва, Шкотска). Потрошни лабораторијски материјал је набављен од Eppendorf (Хамбург, Немачка).

3.16 Статистичка анализа

Резултати биохемијских параметара, као и демографски, клинички и патолошки подаци приказани су табеларно.

Нумеричка обележја су описана класичним методама дескриптивне статистике: у зависности од нормалности расподеле, од мера централне тенденције коришћена је аритметичка средина или медијана, а од мера варијабилитета стандардна грешка или интерквartilни опсег.

Анализа хомогености варијабли извршена је тестирањем нормалности расподеле по Колмогоров-Смирнов тесту, а у зависности од добијених резултата у даљој анализи су коришћене параметарске или непараметарске методе инференцијалне статистике. Испитивање значајности разлике вредности студијских параметара између експерименталних група извршено је коришћењем параметарских или непараметарских статистичких тестова (Студентов т-тест за невезан и везан узорак, Ман Витнијев тест, Вилкоксонев тест суме рангова). У зависности од нормалности

расподеле, значајност разлике између биохемијских параметара у туморском и околном здравом ткиву испитана је Студентовим т-тестом за везани узорак или Вилкоксоновим тестом суме рангова. Вредност испитиваних биохемијских параметара анализирана је и у функцији патолошких карактеристика тумора, у које спадају патохистолошки тип тумора, ТНМ стадијум, инвазивност капсуле и мултицентрична дисеминација. За процену значајности разлике испитиваних обележја посматрања која су груписана по наведеним карактеристикама коришћен је Студентов т-тест или Ман Витнијев тест. За процену разлике између биохемијских параметара груписаних према ТНМ стадијуму, коришћена је параметарска (АНОВА) или непараметарска (Краскал-Волис) анализа варијансе. Постојање међусобне корелације између биохемијских параметара, као и између биохемијских параметара са једне и демографских, клиничких и патолошких параметара са друге стране, испитана је коришћењем Пирсоновог или Спирмановог корелационог теста. За испитивање јачине предиктивне вредности биохемијских и клиничких параметара на патолошке карактеристике тумора у које спадају патохистолошки тип тумора, ТНМ стадијум, инвазивност капсуле и мултицентрична дисеминација коришћена је двостепена кластер анализа. У свим примењеним статистичким аналитичким методама прихваћени ниво значајности био је $p < 0,05$. Целокупна статистичка обрада података урађена је помоћу софтверског пакета Statistical Package for Social Sciences, SPSS 20.0 statistics (SPSS Inc, IBM, USA).

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1 Клиничке карактеристике пацијената

Клиничке карактеристике пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме штитасте жлезде су приказане у Табели 2.

Табела 2. Клиничке карактеристике пацијената оболелих од папиларног карцинома (ПК) штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме (БПС) штитасте жлезде.

Параметар	ПК	БПС	P
БМИ [kg/m ²]	23,26 ± 0,35 ^a	21,6 ± 0,44 ^a	0,004 ^{*§}
Пушење (да/не)	15/55	16/34	0,192 [†]
Обољење у породици (да/не)	19/51	17/33	0,419 [†]
Ретростерналност (да/не)	8/62	9/41	0,309 [†]
Величина нодуса [mm]	3,1 ± 0,18 ^a	3,57 ± 0,22 ^a	0,096 [§]
*Концентрација Т3 у крви	1,7 ± 0,61 ^b	1,81 ± 0,08 ^a	0,416 [‡]
*Концентрација Т4 у крви	111,12 ± 3,31 ^a	115,7 ± 4,1 ^a	0,383 [§]
&Концентрација ТСХ у крви	1,14 ± 1,38 ^b	1,18 ± 0,15 ^a	0,083 [‡]
^Концентрација ФТ3 у крви	4,8 ± 0,16 ^a	4,8 ± 0,27 ^a	0,908 [§]
^Концентрација ФТ4 у крви	14,68 ± 0,44 ^a	15,02 ± 0,63 ^a	0,659 [§]
'Концентрација ТГ у крви	203,9 ± 345,7 ^b	205,5 ± 54,2 ^a	0,324 [‡]
"Концентрација ТГ-ат у крви	20,0 ± 13,76 ^b	20,0 ± 10,1 ^b	0,505 [‡]
"Концентрација ТПО-ат у крви	14,84 ± 125,9 ^b	10,0 ± 24,09 ^b	0,021 ^{*‡}

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. *Концентрација је изражена у јединицама [pmol/l]. &Активност је изражена у јединицама [μIU/ml]. ^Концентрација је изражена у јединицама [pg/ml]. 'Концентрација је изражена у јединицама [ng/ml]. "Активност је изражена у јединицама [IU/ml]. [†]Хи-квадрат тест; [§] Студентов т-тест за независне узорке; [‡]Ман-Витнијев тест

Пацијенти из експерименталне и контролне групе се разликују у погледу индекса телесне масе (БМИ), који је статистички значајно већи у групи оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде у односу на контролну групу. Према пушачком статусу, присуству обољења штитасте жлезде у породици, ретростерналној пропагацији и ултрасонографској величини патолошке промене у штитастој жлезди не постоји статистички значајна разлика између група. Такође, пацијенти се не разликују значајно ни према вредностима хормонских параметрима функције штитасте жлезде, као ни по вредностима тиреоглобулина у циркулацији. Уочена је значајно виша вредност титра ТПО антитела код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, али се ови подаци морају узети са резервом, као и подаци везани за титар ТГ антитела, будући да постоји значајан проценат недостајућих података за пацијенте у обе експерименталне групе.

4.2 Патолошке карактеристике папиларног карцинома штитасте жлезде

Код пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде је патохистолошком анализом детектовано постојање четири различита типа папиларног карцинома штитасте жлезде, који су приказани у Табели 3.

Табела 3. Дистрибуција учесталости различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде.

Тип папиларног карцинома штитасте жлезде	Број оболелих	[%]
Фоликуларни тип	23/70	32,9 %
Микрокарцином	21/70	30,0 %
Класични тип	15/70	21,4 %
Солидни тип	11/70	15,7 %

Доминантни патохистолошки тип је фоликуларна варијанта папиларног карцинома штитасте жлезде, као и микрокарцином, док су класични и солидни тип присутни

код мањег броја пацијената. Други патохистолошки типови папиларног карцинома штитасте жлезде нису детектовани.

Подела према ТНМ стадијуму папиларног карцинома штитасте жлезде је приказана у Табели 4.

Табела 4. ТНМ стадијум пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде.

ТНМ	Стадијум	Број пацијената	[%]
Т	1	33/70	47,2 %
	2	18/70	25,7 %
	3	18/70	25,7 %
	4	1/70	1,4 %
Н	0	16/70	22,9 %
	1	10/70	14,2 %
	x	44/70	62,9 %
М	0	70/70	100 %
	1	0/70	0 %

Код највећег броја пацијената се папиларни карцином штитасте жлезде налази у Т1 стадијуму, док је код само једног пацијента детектован Т4 стадијум папиларног тумора. Код око једне седмине оболелих је са сигурношћу утврђена дисеминација папиларног карцинома штитасте жлезде у регионалним лимфним нодусима, док удаљене метастазе нису дијагностиковане ни код једног пацијента са папиларним карциномом штитасте жлезде.

Анализиране су и патолошке особине папиларног карцинома штитасте жлезде, као што су инвазија капсуле и мултицентрична дисеминација, чија је учесталост јављања приказана у Табели 5.

Табела 5. Фенотипске карактеристике папиларног карцинома штитасте жлезде.

Карактеристика тумора	Број оболелих	[%]
Инвазија капсуле (да/не)	22/48	31,4/68,6 %
Мултицентричност (да/не)	23/47	32,9/67,1 %

Постојање инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације папиларног карцинома штитасте жлезде је установљено код приближно једне трећине пацијената.

4.3 Биохемијски параметри оксидативно/антиоксидативног статуса

Биохемијски параметри оксидативно/антиоксидативног статуса одређени су код пацијената са папиларним карциномом штитасте жлезде, као и код пацијената из контролне групе који су оболели од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, биохемијски параметри су одређени у здравом ткиву штитасте жлезде, као и у туморском ткиву, док су код пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме, биохемијски параметри квантификовани у ткиву струме штитасте жлезде. Табела 6 приказује дескриптивне податке биохемијских параметара, који су квантификовани у наведеним ткивима.

Табела 6. Дескриптивна статистика параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у здравом и туморском ткиву пацијената оболелих од папиларног карцинома (ПК) штитасте жлезде, и у ткиву штитасте жлезде пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме (БПС).

Параметар	ПК		БПС
	здрово ткиво	туморско ткиво	
'МДА	3,59 ± 2,34 ^b	3,3 ± 2,94 ^b	3,15 ± 3,72 ^b
"АОПП	3,06 ± 1,89 ^b	3,01 ± 2,29 ^b	3,84 ± 2,53 ^b
*ТОС	0,28 ± 0,17 ^b	0,27 ± 0,21 ^b	0,35 ± 0,24 ^b
&ТАС	0,05 ± 0,02 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	0,06 ± 0,02 ^b
ИОС	4,44 ± 0,2 ^a	4,12 ± 0,19 ^a	4,59 ± 0,3 ^a
^Тиоли	4,7 ± 4,62 ^b	2,9 ± 3,17 ^b	3,37 ± 0,31 ^a
†СОД	1,96 ± 5,31 ^b	1,61 ± 6,13 ^b	3,7 ± 5,94 ^b
†КАТ	4,23 ± 22,22 ^b	4,27 ± 18,9 ^b	3,74 ± 15,01 ^b
†ГП	0,46 ± 0,04 ^a	0,77 ± 0,79 ^b	0,64 ± 0,07 ^a
†ГР	0,98 ± 1,23 ^b	1,81 ± 2,83 ^b	1,42 ± 1,62 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т}$ еквивалената/ mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс}$ еквивалената/ mg протеина]. ^Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике испитана је адекватним тестовима инференцијалне статистике. Испитана је разлика у вредности биохемијских параметара између: здравог ткива штитасте жлезде и туморског ткива оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде; здравог ткива штитасте жлезде оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде и ткива бенигне полинодозне струме; туморског ткива оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде и ткива бенигне полинодозне струме. Резултати процене значајности разлике између наведених подгрупа су приказани у Табели 7.

Табела 7. Резултати процене значајности разлике вредности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између експерименталних подгрупа.

Параметар	Р-вредност		
	ПК-3 vs. ПК-Т	ПК-3 vs. БПС	ПК-Т vs. БПС
МДА	0,168 ^a	0,242 ^c	0,818 ^c
АОПП	0,207 ^a	0,144 ^c	0,254 ^c
ТОС	0,408 ^a	0,056 ^c	0,110 ^c
ТАС	0,001*^a	0,044 ^c	0,582 ^c
ИОС	0,038*^b	0,751 ^b	0,372 ^b
Тиоли	0,001*^a	0,001*^c	0,936 ^b
СОД	0,336 ^a	0,124 ^c	0,134 ^c
КАТ	0,869 ^a	0,936 ^c	0,646 ^b
ГП	0,001*^a	0,001*^b	0,071 ^c
ГР	0,001*^a	0,022*^c	0,161 ^c

Примедба: ^a Вилкоксонев тест. ^b Студентов т-тест за зависни узорак. ^c Ман-Витнијев тест

Резултати имплицирају да се нормално ткиво штитасте жлезде значајно разликује од ткива папиларног карцинома штитасте жлезде у погледу више испитиваних биохемијских параметара који сугеришу да туморско ткиво поседује вишеструко компетентне антиоксидативне механизме, поготово у погледу ензима глутатионског циклуса. Ткиво бенигне струме такође поседује значајне антиоксидативне капацитете када се упореди са нормалним ткивом штитасте жлезде. Ткиво папиларног карцинома штитасте жлезде и ткиво бенигне полинодозне струме се не разликују ни по једном испитаном параметру, па се може рећи да је ткиво карцинома по својим редокс особинама блиско особинама бенигног обољења какво је бенигна полинодозна струма штитасте жлезде.

4.4 Корелациона анализа биохемијских и клиничких параметара

У студијском дизајну је предвиђено испитивање постојања корелације између биохемијских, демографских, клиничких и патолошких параметара. Корелациона анализа је спроведена између оних параметара који према својим механицистичким, метаболичким и клиничким карактеристикама могу бити доведени у међусобну повезаност.

Значајне корелације између студијских параметара у здравом ткиву оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде

У нормалном ткиву штитасте жлезде оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде су пронађене статистички значајне корелације између следећих параметара:

- МДА и укупног садржаја тиола ($\rho=0,390$; $p<0,001$)
- МДА и активности ГР ($\rho=0,359$; $p=0,002$)
- АОПП и концентрације Т3 у крви ($\rho=0,283$; $p=0,019$)
- АОПП и концентрације ТГ у крви ($\rho=0,523$; $p<0,001$)
- АОПП и ТОС ($\rho=0,998$; $p=0,016$)
- АОПП и ИОС ($\rho=0,817$; $p<0,001$)
- АОПП и активности СОД ($\rho=0,322$; $p=0,007$)
- АОПП и активности КАТ ($\rho=0,382$; $p=0,001$)
- ТОС и концентрације Т3 у крви ($\rho=0,285$; $p=0,019$)
- ТОС и концентрације ТГ у крви ($\rho=0,515$; $p<0,001$)
- ТОС и активности СОД ($\rho=0,312$; $p=0,009$)
- ТАС и активности СОД ($\rho=0,359$; $p=0,002$)
- ТАС и активности КАТ ($\rho=0,414$; $p<0,001$)
- ИОС и концентрације ТГ у крви ($\rho=0,521$; $p<0,001$)
- ИОС и активности СОД ($\rho=0,239$; $p=0,046$)
- ИОС и активности КАТ ($\rho=0,266$; $p=0,026$)
- укупног садржаја тиола и пушачког статуса ($\rho=0,429$; $p<0,001$)

- укупног садржаја тиола и активности ГР ($\rho=0,255$; $p=0,033$)
- укупног садржаја тиола и концентрације ТСХ у крви ($\rho=-0,260$; $p=0,03$)
- укупног садржаја тиола и активности СОД ($\rho=-0,273$; $p=0,022$)
- активности СОД и активности КАТ ($\rho=0,244$; $p=0,042$)
- активности ГП и пола пацијената ($\rho=0,245$; $p=0,041$)
- активности ГР и концентрације ФТ4 у крви ($\rho=-0,363$; $p<0,001$)

Значајне корелације између студијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде

У ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде су пронађене статистички значајне корелације између следећих параметара:

- МДА и ТАС ($\rho=0,328$; $p=0,006$)
- МДА и укупног садржаја тиола ($\rho=0,406$; $p<0,001$)
- МДА и активности СОД ($\rho=0,316$; $p=0,005$)
- МДА и активности ГР ($\rho=0,480$; $p<0,001$)
- АОПП и ТОС ($\rho=0,984$; $p<0,001$)
- АОПП и ИОС ($\rho=0,756$; $p<0,001$)
- АОПП и ТАС ($\rho=0,693$; $p<0,001$)
- АОПП и укупног садржаја тиола ($\rho=-0,274$; $p=0,022$)
- АОПП и активности СОД ($\rho=0,491$; $p<0,001$)
- АОПП и активности КАТ ($\rho=0,282$; $p=0,018$)
- ТОС и активности СОД ($\rho=0,505$; $p<0,001$)
- ТОС и активности КАТ ($\rho=0,280$; $p=0,019$)
- ТАС и активности СОД ($\rho=0,454$; $p<0,001$)
- ТАС и активности КАТ ($\rho=0,309$; $p=0,009$)
- ТАС и активности ГП ($\rho=0,239$; $p=0,046$)
- ИОС и активности СОД ($\rho=0,370$; $p=0,002$)
- ИОС и активности ГП ($\rho=-0,272$; $p=0,022$)
- ИОС и активности ГР ($\rho=-0,261$; $p=0,029$)

- укупног садржаја тиола и активности ГР ($\rho=0,248$; $p=0,038$)
- СОД и концентрације ТГ у крви ($\rho=0,265$; $p=0,042$)
- активности КАТ и концентрације ТПО-ат у крви ($\rho=0,377$; $p=0,012$)
- активности ГП и концентрације ФТ4 у крви ($\rho=-0,345$; $p=0,009$)
- активности ГП и активности ГР ($\rho=0,491$; $p<0,001$)
- активности ГР и старости пацијента ($\rho=-0,311$; $p=0,01$)
- активности ГР и концентрације ФТ4 у крви ($\rho=-0,319$; $p=0,017$)

Значајне корелације између студијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде

У ткиву бенигне струме штитасте жлезде су пронађене статистички значајне корелације између следећих параметара:

- МДА и ТАС ($\rho=0,352$; $p=0,012$)
- МДА и укупног садржаја тиола ($\rho=0,338$; $p=0,016$)
- МДА и активности СОД ($\rho=0,495$; $p<0,001$)
- МДА и активности ГР ($\rho=0,336$; $p=0,017$)
- АОПП и ТОС ($\rho=0,956$; $p<0,001$)
- АОПП и ТАС ($\rho=0,599$; $p<0,001$)
- АОПП и ИОС ($\rho=0,685$; $p<0,001$)
- ТОС и ретростерналне прогнатије струме ($\rho=0,314$; $p=0,026$)
- ТОС и концентрације ТСХ у крви ($\rho=0,337$; $p=0,018$)
- ТОС и активности СОД ($\rho=0,442$; $p=0,001$)
- ТОС и ТАС ($\rho=0,513$; $p<0,001$)
- ТОС и активности ГР ($\rho=0,295$; $p=0,038$)
- ТАС и величине струме ($\rho=-0,384$; $p=0,006$)
- ТАС и концентрације Т4 у крви ($\rho=-0,362$; $p=0,015$)
- ТАС и активности СОД ($\rho=0,587$; $p<0,001$)
- ИОС и активности КАТ ($\rho=-0,298$; $p=0,038$)
- укупног садржаја тиола и величине струме ($P=0,457$; $p=0,001$)

- укупног садржаја тиола и активности ГР ($\rho=0,326$; $p=0,021$)
- активности СОД и ретростерналне пропагације струме ($\rho=0,301$; $p=0,034$)
- активности СОД и концентрације ТСХ у крви ($\rho=0,344$; $p=0,016$)
- активности КАТ и старости пацијента ($\rho=0,430$; $p<0,001$)
- активности ГП и активности ГР ($\rho=0,330$; $p=0,019$)
- активности ГР и концентрације ФТ4 у крви ($\rho=-0,339$; $p=0,04$)

Корелације између вредности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде и патолошких карактеристика

Испитано је постојање повезаности између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде и његових патолошких карактеристика и пронађене су статистички значајне корелације између следећих параметара:

- активности СОД и мултицентричне дисеминације тумора ($\rho=0,290$; $p=0,015$)
- активности СОД и постојања метастаза у лимфним нодусима ($\rho=-0,270$; $p=0,024$)

4.5 Анализа биохемијских параметара у функцији патолошких особина папиларног карцинома

Код пацијената са папиларним карциномом штитасте жлезде су анализиране патолошке карактеристике тумора, ради бољег увида у његова биолошка својства. У наведене параметре су уврштени: патохистолошки тип папиларног карцинома штитасте жлезде, ТНМ стадијум, инвазија капсуле и интратироидна мултицентрична дисеминација.

Биохемијски параметри оксидативно/антиоксидативног статуса су појединачно анализирани у функцији постојања значајности разлике унутар наведених патолошких карактеристика.

Анализа биохемијских параметара у функцији патохистолошког типа папиларног карцинома штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара у функцији различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде је приказана у Табелама 8, 9, и 10.

Табела 8. Дескрипција биохемијских параметара код различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде.

Тип папиларног карцинома	'МДА	"АОПП	*ТОС
Фоликуларни тип	3,69 ± 0,69 ^a	3,45 ± 2,47 ^b	0,29 ± 0,22 ^b
Микрокарцином	4,16 ± 0,66 ^a	2,84 ± 2,81 ^b	0,26 ± 0,25 ^b
Класични тип	2,72 ± 0,72 ^a	4,04 ± 0,87 ^a	0,36 ± 0,08 ^a
Солидни тип	4,89 ± 0,87 ^a	3,37 ± 0,53 ^a	0,31 ± 0,05 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т еквивалената}/\text{mg}$ протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина].

Табела 9. Дескрипција биохемијских параметара код различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде.

Тип папиларног карцинома	&ТАС	ИОС	^Тиоли
Фоликуларни тип	0,06 ± 0,02 ^b	3,87 ± 0,36 ^a	5,45 ± 1,02 ^a
Микрокарцином	0,06 ± 0,03 ^b	4,22 ± 0,33 ^a	3,96 ± 0,88 ^a
Класични тип	0,06 ± 0,02 ^b	4,40 ± 0,44 ^a	2,80 ± 0,42 ^a
Солидни тип	0,07 ± 0,01 ^a	4,08 ± 0,45 ^a	5,09 ± 1,06 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су

приказани као медијана са интерквартилним опсегом. [&]Концентрација је изражена у јединицама [μmol /Гролокс еквивалената/ mg протеина]. [^]Концентрација је изражена у јединицама [μmol / mg протеина].

Табела 10. Дескрипција биохемијских параметара у функцији патохистолошког типа папиларног карцинома штитасте жлезде.

Тип папиларног карцинома	[†] СОД	[†] КАТ	[†] ГП	[†] ГР
Фоликуларни тип	2,41 ± 6,39 ^b	3,17 ± 6,64 ^b	1,01 ± 0,20 ^a	2,4 ± 2,59 ^b
Микрокарцином	2,21 ± 9,56 ^b	17,26 ± 4,84 ^a	0,65 ± 0,07 ^a	2,15 ± 0,33 ^a
Класични тип	1,0 ± 2,2 ^b	12,11 ± 4,17 ^a	0,85 ± 0,14 ^a	2,45 ± 0,86 ^a
Солидни тип	1,38 ± 4,52 ^b	12,82 ± 12,06 ^b	1,38 ± 0,44 ^a	2,86 ± 0,61 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквартилним опсегом. [†]Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Након спроведених тестова за процену значајности разлике (Табела 11), показано је да се различити патохистолошки типови папиларног карцинома штитасте жлезде не разликују у вредностима испитаних параметара оксидативно/антиоксидативног статуса.

Табела 11. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,268 ^a	0,953 ^b	0,992 ^b	0,902 ^b	0,782 ^a	0,262 ^a	0,761 ^b	0,590 ^b	0,136 ^a	0,351 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћена је параметарска АНОВА са Бонферони *Post hoc* тестом. ^b За процену значајности разлике коришћен је Краскал Волисов X тест.

Анализа биохемијских параметара у функцији ТНМ стадијума тумора

Дескрипција биохемијских параметара у зависности од ТНМ стадијума тумора приказана у Табелама 12, 13 и 24.

Табела 12. Дескрипција биохемијских параметара у зависности од ТНМ стадијума тумора.

ТНМ	Стадијум	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС
Т	1	3,71 ± 0,45 ^a	2,89 ± 2,28 ^b	0,26 ± 0,18 ^b	0,06 ± 0,01 ^b
	2	4,26 ± 0,86 ^a	3,40 ± 2,61 ^b	0,31 ± 0,25 ^b	0,06 ± 0,05 ^b
	3	3,55 ± 0,67 ^a	4,18 ± 0,82 ^a	0,38 ± 0,07 ^a	0,08 ± 0,01 ^a
	4	3,90 ^c	2,14 ^c	0,19 ^c	0,06 ^c
Н	0	2,96 ± 0,73 ^a	3,16 ± 0,27 ^a	0,28 ± 0,02 ^a	0,07 ± 0,003 ^a
	1	3,65 ± 1,06 ^a	3,77 ± 0,93 ^a	0,33 ± 0,09 ^a	0,08 ± 0,01 ^a
М	x	4,16 ± 0,42 ^a	2,91 ± 3,11 ^b	0,26 ± 0,28 ^b	0,06 ± 0,02 ^b
	0	3,3 ± 2,94 ^b	3,01 ± 2,29 ^b	0,27 ± 0,21 ^b	0,06 ± 0,02 ^b
	1	/	/	/	/

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^c У студијској групи је присутан само један пацијент у овом стадијуму. 'Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [μmol/ хлорамин-Т еквивалената/mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [μmol/ H₂O₂ еквивалената/mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [μmol/Тролокс еквивалената/mg протеина].

Табела 13. Дескрипција биохемијских параметара у зависности од ТНМ стадијума тумора.

ТНМ	Стадијум	ИОС	^Тиоли	†СОД	†КАТ
Т	1	3,93 ± 0,31 ^a	2,98 ± 2,44 ^b	2,26 ± 8,0 ^b	2,14 ± 22,64 ^b
	2	4,42 ± 0,3 ^a	4,99 ± 1,22 ^b	1,8 ± 5,55 ^b	3,32 ± 15,42 ^b
	3	4,24 ± 0,39 ^a	4,46 ± 1,05 ^a	1,16 ± 4,12 ^b	8,2 ± 19,72 ^b
	4	3,29 ^c	4,16 ^c	1,56 ^c	4,1 ^c
Н	0	3,88 ± 0,21 ^a	3,56 ± 0,81 ^a	1,59 ± 0,58 ^a	4,86 ± 1,78 ^a
	1	3,78 ± 0,67 ^a	3,44 ± 1,42 ^a	3,79 ± 1,41 ^a	8,08 ± 2,46 ^a
	x	4,29 ± 0,26 ^a	3,4 ± 3,07 ^b	2,37 ± 10,27 ^b	5,72 ± 26,87 ^b
М	0	4,12 ± 0,19 ^a	2,9 ± 3,17 ^b	1,61 ± 6,13 ^b	4,27 ± 18,9 ^b
	1	/	/	/	/

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^c У студијској групи је присутан само један пацијент у овом стадијуму. ^Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Табела 14. Дескрипција биохемијских параметара у зависности од ТНМ стадијума тумора.

ТНМ	Стадијум	†ГП	†ГР
Т	1	0,71 ± 0,08 ^a	2,29 ± 0,26 ^a
	2	1,04 ± 0,24 ^a	3,25 ± 1,4 ^b
	3	1,22 ± 0,28 ^a	3,47 ± 0,76 ^a
	4	0,97 ^c	2,15 ^c
Н	0	0,85 ± 0,13 ^a	2,08 ± 0,44 ^a
	1	0,83 ± 0,19 ^a	2,16 ± 0,54 ^a
	x	0,79 ± 0,77 ^b	1,98 ± 2,93 ^b
М	0	0,77 ± 0,79 ^b	1,81 ± 2,83 ^b
	1	/	/

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквартилним опсегом. ^c У студијској групи је присутан само један пацијент у овом стадијуму. [†]Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса је испитана употребом одговарајућих тестова, при чему Т4 туморски стадијум није анализиран, с обзиром да у студији постоји само један пацијент који испуњава те критеријуме. Такође, разлика није испитана у функцији присуства или одсуства удаљених метастаза, с обзиром да ни код једног пацијента оне нису дијагностиковане. Табела 15. приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од Т стадијума тумора, где се може уочити да ниједан биохемијски параметар не показује статистички значајну разлику у зависности од туморског стадијума.

Табела 15. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у зависности од Т стадијума тумора.

P-вредност									
МДА	АОПН	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,899 ^a	0,381 ^b	0,441 ^b	0,557 ^b	0,704 ^a	0,914 ^b	0,662 ^b	0,555 ^b	0,214 ^a	0,519 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

Табела 16 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од постојања метастаза у лимфним нодусима, где се може уочити да ниједан биохемијски параметар не показује статистички значајну разлику у зависности од постојања метастаза у лимфним нодусима.

Табела 16. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у зависности од постојања метастаза у лимфним нодусима.

P-вредност									
МДА	АОПШ	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,369 ^a	0,956 ^b	0,705 ^b	0,672 ^b	0,529 ^a	0,082 ^b	0,947 ^b	0,408 ^b	0,911 ^b	0,462 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

Анализа биохемијских параметара у функцији постојања инвазије капсуле

Дескрипција биохемијских параметара у зависности од присуства или одсуства инвазије капсуле је приказана у Табелама 17 и 18.

Табела 17. Дескрипција биохемијских параметара у функцији присуства или одсуства инвазије капсуле.

Инвазија капсуле	'МДА	"АОПШ	*ТОС	&ТАС	ИОС
Присутна	3,6 ± 0,83 ^a	3,38 ± 2,45 ^b	0,30 ± 0,22 ^b	0,06 ± 0,04 ^b	4,15 ± 0,24 ^a
Одсутна	3,91 ± 0,34 ^a	2,93 ± 2,36 ^b	0,26 ± 0,22 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	4,06 ± 0,32 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т}$ еквивалената/ mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс}$ еквивалената/ mg протеина].

Табела 18. Дескрипција биохемијских параметара у функцији присуства или одсуства инвазије капсуле.

Инвазија капсуле	[^] Тиоли	[†] СОД	[†] КАТ	[†] ГП	[†] ГР
Присутна	2,38 ± 2,32 ^b	1,03 ± 2,81 ^b	3,8 ± 17,76 ^b	0,95 ± 0,1 ^a	2,62 ± 0,43 ^a
Одсутна	3,09 ± 3,87 ^b	2,37 ± 7,86 ^b	5,49 ± 20,7 ^b	0,62 ± 0,73 ^b	1,79 ± 2,65 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. [^]Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. [†]Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Након спроведених тестова за процену значајности разлике (Табела 19), показано је да се папиларни карциноми штитасте жлезде који поседују инвазију капсуле не разликују у вредностима испитаних параметара оксидативно/антиоксидативног статуса од карцинома који то својство не поседују.

Табела 19. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у зависности од присуства или одсуства инвазије капсуле.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,733 ^a	0,359 ^b	0,404 ^b	0,376 ^b	0,821 ^a	0,324 ^b	0,075 ^b	0,950 ^b	0,129 ^b	0,75 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

Анализа биохемијских параметара у функцији постојања мултицентричне дисеминације тумора

Дескрипција биохемијских параметара у зависности од присуства или одсуства мултицентричне дисеминације тумора је приказана у Табелама 20 и 21.

Табела 20. Дескрипција биохемијских параметара у функцији присуства или одсуства мултицентричне дисеминације тумора.

Мултицентричност	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС	ИОС
Присутна	3,03 ± 0,32 ^a	2,92 ± 1,84 ^b	0,25 ± 0,12 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	4,0 ± 0,32 ^a
Одсутна	4,2 ± 0,48 ^a	3,24 ± 3,2 ^b	0,3 ± 0,3 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	4,2 ± 0,24 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [μmol/ хлорамин-Т еквивалената/mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [μmol/ H₂O₂ еквивалената/mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [μmol/Тролокс еквивалената/mg протеина].

Табела 21. Дескрипција биохемијских параметара у функцији присуства или одсуства мултицентричне дисеминације тумора.

Мултицентричност	^Тиоли	†СОД	†КАТ	†ГП	†ГР
Присутна	2,91 ± 1,85 ^b	0,96 ± 2,54 ^b	9,56 ± 2,6 ^a	1,07 ± 0,22 ^a	2,64 ± 0,45 ^a
Одсутна	3,19 ± 3,83 ^b	2,48 ± 7,87 ^b	4,44 ± 20,8 ^b	0,86 ± 0,11 ^a	1,81 ± 2,41 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Након спроведених тестова за процену значајности разлике (Табела 22), показано је да папиларни карциноми штитасте жлезде који поседују мултицентричну дисеминацију имају значајно нижу вредност концентрације МДА у односу на карциноме који то својство не поседују.

Табела 22. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у зависности од присуства или одсуства мултицентричне дисеминације тумора.

Р-вредност									
МДА	АОПШ	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,048*^a	0,323 ^b	0,204 ^b	0,118 ^b	0,651 ^a	0,540 ^b	0,016 ^b	0,712 ^b	0,412 ^a	0,915 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

Код тумора који поседују мултицентричну дисеминацију је установљено постојање статистички значајне корелације између концентрације МДА и активности СОД ($\rho=0,474$; $p=0,022$).

Код тумора који не поседују мултицентричну дисеминацију је установљено постојање статистички значајне корелације између следећих параметара:

- МДА и ТАС ($\rho=0,432$; $p=0,002$)
- МДА и укупног садржаја тиола ($\rho=0,423$; $p=0,003$)
- МДА и активности ГР ($\rho=0,569$; $p<0,001$)

4.6 Анализа биохемијских параметара у функцији пола пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде код мушкараца и жена је приказана у Табелама 23 и 24.

Табела 23. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији пола пацијената.

Пол	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС	ИОС
Мушкарци	3,79 ± 0,69 ^a	3,42 ± 3,43 ^b	0,31 ± 0,36 ^b	0,06 ± 0,06 ^b	4,55 ± 0,31 ^a
Жене	3,82 ± 0,4 ^a	2,9 ± 2,3 ^b	0,26 ± 0,2 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	3,93 ± 0,24 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т еквивалената}/\text{mg}$ протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс еквивалената}/\text{mg}$ протеина].

Табела 24. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији пола пацијената.

Пол	^Тиоли	†СОД	†КАТ	†ГП	†ГР
Мушкарци	5,04 ± 1,09 ^a	2,43 ± 7,84 ^b	9,26 ± 2,5 ^a	0,76 ± 0,08 ^a	2,02 ± 0,36 ^a
Жене	2,85 ± 2,93 ^a	1,47 ± 5,54 ^b	4,52 ± 21,2 ^b	1,0 ± 0,15 ^a	1,96 ± 3,03 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од пола је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 25 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од пола пацијената, где се може уочити да се мушкарци и жене не разликују значајно ни по једном биохемијском параметару у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде.

Табела 25. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од пола пацијената.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,960 ^a	0,132 ^b	0,206 ^b	0,950 ^b	0,120 ^a	0,695 ^b	0,429 ^b	0,761 ^b	0,151 ^a	0,151 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.7 Анализа биохемијских параметара у функцији пола пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде код мушкараца и жена је приказана у Табелама 26 и 27.

Табела 26. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме у функцији пола пацијената.

Пол	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС	ИОС
Мушкарци	4,09 ± 1,28 ^a	3,68 ± 1,76 ^b	0,41 ± 0,12 ^b	0,06 ± 0,03 ^b	5,15 ± 0,36 ^a
Жене	4,13 ± 0,56 ^a	3,72 ± 2,75 ^b	0,34 ± 0,25 ^b	0,07 ± 0,02 ^b	4,41 ± 0,33 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквартилним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т еквивалената}/\text{mg}$ протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс еквивалената}/\text{mg}$ протеина].

Табела 27. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме у функцији пола пацијената.

Пол	[^] Тиоли	[†] СОД	[†] КАТ	[†] ГП	[†] ГР
Мушкарци	4,08 ± 0,64 ^a	2,02 ± 6,15 ^b	3,32 ± 4,9 ^b	0,67 ± 0,11 ^a	1,64 ± 0,32 ^a
Жене	3,27 ± 0,32 ^a	2,8 ± 5,55 ^b	3,09 ± 17,3 ^b	0,66 ± 0,08 ^a	1,62 ± 1,52 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквартилним опсегом. [^]Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. [†]Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме у зависности од пола је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 28 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од пола пацијената, где се може уочити да ниједан биохемијски параметар не показује статистички значајну разлику у зависности од пола пацијената у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде.

Табела 28. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у зависности од пола пацијената.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,993 ^a	0,666 ^b	0,247 ^b	0,131 ^b	0,260 ^a	0,695 ^b	0,856 ^b	0,780 ^b	0,941 ^a	0,691 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.8 Анализа биохемијских параметара у функцији пушачког статуса пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде код пушача и непушача је приказана у Табелама 29 и 30.

Табела 29. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији пушачког статуса пацијената.

Пушачки статус	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС	ИОС
Пушачи	4,96 ± 1,06 ^a	3,7 ± 2,49 ^b	0,33 ± 0,32 ^b	0,06 ± 0,04 ^b	4,33 ± 0,45 ^a
Непушачи	3,5 ± 0,33 ^a	2,9 ± 2,32 ^b	0,26 ± 0,2 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	7,07 ± 0,21 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т}$ еквивалената/ mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс}$ еквивалената/ mg протеина].

Табела 30. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији пушачког статуса пацијената.

Пушачки статус	[^] Тиоли	[†] СОД	[†] КАТ	[†] ГП	[†] ГР
Пушачи	3,64 ± 0,87 ^a	6,73 ± 1,65 ^a	9,99 ± 4,67 ^a	0,65 ± 0,11 ^a	2,62 ± 0,39 ^a
Непушачи	2,93 ± 3,32 ^b	1,32 ± 3,94 ^b	4,71 ± 20,3 ^b	1,0 ± 0,13 ^a	1,72 ± 2,8 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. [^]Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. [†]Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од пушачког статуса је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 31 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од пушачког статуса, где се може уочити постојање статистички значајно веће активности ГП код непушача у односу на пушаче.

Табела 31. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од пушачког статуса пацијената.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,203 ^a	0,216 ^b	0,200 ^b	0,587 ^b	0,610 ^a	0,452 ^b	0,07 ^b	0,359 ^b	0,037* ^a	0,371 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.9 Анализа биохемијских параметара у функцији пушачког статуса пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде код пушача и непушача је приказана у Табелама 32 и 33.

Табела 32. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у функцији пушачког статуса пацијената.

Пушачки статус	'МДА	"АОПН	*ТОС	&ТАС	ИОС
Пушачи	4,27 ± 1,16 ^a	5,83 ± 1,22 ^a	0,53 ± 0,11 ^a	0,07 ± 0,02 ^b	5,48 ± 0,47 ^a
Непушачи	4,06 ± 0,56 ^a	3,16 ± 2,56 ^b	0,34 ± 0,24 ^b	0,07 ± 0,02 ^b	4,2 ± 0,33 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т}$ еквивалената/ mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс}$ еквивалената/ mg протеина].

Табела 33. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у функцији пушачког статуса пацијената.

Пушачки статус	^Тиоли	†СОД	†КАТ	†ГП	†ГР
Пушачи	3,72 ± 0,64 ^a	4,91 ± 11,62 ^b	0,26 ± 15,3 ^b	0,58 ± 0,14 ^a	2,92 ± 1,14 ^a
Непушачи	3,35 ± 0,32 ^a	2,42 ± 5,61 ^b	4,14 ± 14,4 ^b	0,7 ± 0,07 ^a	1,83 ± 0,24 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме у зависности од пушачког статуса је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 34 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од пушачког статуса, где се може уочити постојање статистички значајно већег нивоа ИОС у ткиву бенигне полинодозне струме пушача у односу на непушаче.

Табела 34. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у зависности од пушачког статуса пацијената.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,945 ^a	0,119 ^b	0,190 ^b	0,779 ^b	0,037*^a	0,772 ^a	0,339 ^b	0,093 ^b	0,464 ^a	0,216 ^a

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.10 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде код особа са и без породичне историје обољења штитасте жлезде је приказана у Табелама 35 и 36.

Табела 35. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената.

Породична историја	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС	ИОС
Позитивна	3,84 ± 0,75 ^a	2,56 ± 1,88 ^b	0,23 ± 0,16 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	3,7 ± 0,38 ^a
Негативна	3,8 ± 0,39 ^a	3,39 ± 3,13 ^b	0,3 ± 0,28 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	4,28 ± 0,22 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т еквивалената}/\text{mg}$ протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс еквивалената}/\text{mg}$ протеина].

Табела 36. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената.

Породична историја	^Тиоли	†СОД	†КАТ	†ГП	†ГР
Позитивна	4,94 ± 0,96 ^a	2,96 ± 0,79 ^a	9,53 ± 3,46 ^a	1,04 ± 0,28 ^a	2,74 ± 0,45 ^a
Негативна	2,77 ± 2,52 ^b	1,82 ± 7,69 ^b	4,44 ± 24,5 ^b	0,77 ± 0,63 ^b	1,8 ± 2,3 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 37 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената, где се може уочити постојање статистички значајно нижег нивоа ТОС у туморском ткиву пацијената који поседују породичну историју обољења штитасте жлезде у односу на пацијенте који не поседују то својство.

Табела 37. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од постојања обољења штитасте жлезде у породици.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,961 ^a	0,067 ^b	0,044*^b	0,150 ^b	0,197 ^a	0,166 ^b	0,332 ^b	0,588 ^b	0,953 ^b	0,611 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.11 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме код особа са и без породичне историје обољења штитасте жлезде приказана у Табелама 38 и 39.

Табела 38. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената.

Породична историја					
историја	'МДА	"АОПП	*ТОС	&ТАС	ИОС
Позитивна	4,23 ± 0,88 ^a	3,55 ± 2,68 ^a	0,32 ± 0,24 ^b	0,07 ± 0,02 ^b	5,73 ± 1,91 ^a
Негативна	4,06 ± 0,65 ^a	3,73 ± 2,54 ^b	0,39 ± 0,21 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	4,59 ± 0,38 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [μmol/хлорамин-Т еквивалената/mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [μmol/ H₂O₂ еквивалената/mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [μmol/Тролокс еквивалената/mg протеина].

Табела 39. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме у функцији постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената.

Породична историја					
историја	^Тиоли	†СОД	†КАТ	†ГП	†ГР
Позитивна	2,81 ± 0,39 ^a	5,36 ± 7,67 ^b	5,68 ± 22,1 ^b	0,58 ± 0,08 ^a	1,82 ± 0,34 ^a
Негативна	3,81 ± 0,39 ^a	2,23 ± 5,0 ^b	2,11 ± 12,0 ^b	0,71 ± 0,09 ^a	2,34 ± 0,56 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^Концентрација је изражена у јединицама [μmol/mg протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме у зависности од постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 40 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од постојања обољења штитасте

жлезде у породици пацијената, где се може уочити да ниједан биохемијски параметар не показује статистички значајну разлику у зависности од постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде.

Табела 40. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме у зависности од постојања обољења штитасте жлезде у породици пацијената.

P-вредност									
МДА	АОПШ	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,843 ^a	1,0 ^b	0,660 ^b	0,506 ^b	0,965 ^a	0,098 ^a	0,138 ^b	0,115 ^b	0,284 ^a	0,854 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.12 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања ретростерналне штитасте жлезде код пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде код особа са и без ретростерналне пропагације штитасте жлезде је приказана у Табелама 41 и 42.

Табела 41. Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде.

Ретростерналност	'МДА	"АОПШ	*ТОС	&ТАС	ИОС
Присутна	1,83 ± 0,27 ^a	3,77 ± 0,39 ^a	0,34 ± 0,04 ^a	0,06 ± 0,01 ^a	4,93 ± 0,48 ^a
Одсутна	3,59 ± 2,87 ^b	2,95 ± 2,48 ^b	0,27 ± 0,23 ^b	0,06 ± 0,02 ^b	4,02 ± 0,21 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т}$ еквивалената/ mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс}$ еквивалената/ mg протеина].

Табела 42. Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у функцији постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде.

Ретростерналност	^Тиоли	†СОД	†КАТ	†ГП	†ГР
Присутна	$2,81 \pm 0,79^a$	$2,88 \pm 1,62^a$	$4,01 \pm 2,27^a$	$0,7 \pm 0,16^a$	$1,52 \pm 0,22^a$
Одсутна	$2,99 \pm 3,22^b$	$1,61 \pm 6,6^b$	$4,82 \pm 20,4^b$	$0,96 \pm 0,11^a$	$1,96 \pm 3,19^b$

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. ^Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. †Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде пацијената је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 43 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде пацијената, где се може уочити постојање статистички значајно ниже концентрације МДА у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде пацијената који поседују ретростерналну пропагацију штитасте жлезде.

Табела 43. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде у зависности од постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде.

Р-вредност									
МДА	АОПШ	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,005*^b	0,332 ^b	0,319 ^b	0,213 ^b	0,113 ^a	0,280 ^b	0,366 ^b	0,104 ^b	0,207 ^a	0,241 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.13 Анализа биохемијских параметара у функцији постојања ретростерналне штитасте жлезде код пацијената оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде

Дескрипција биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме код особа са и без ретростерналне пропагације штитасте жлезде је приказана у Табелама 44 и 45.

Табела 44. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у функцији постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде.

Ретростерналност	'МДА	"АОПШ	*ТОС	&ТАС	ИОС
Присутна	3,35 ± 0,9 ^a	2,64 ± 0,49 ^a	0,24 ± 0,05 ^a	0,06 ± 0,004 ^a	4,31 ± 0,78 ^a
Одсутна	4,29 ± 0,6 ^a	4,11 ± 2,84 ^b	0,41 ± 0,25 ^b	0,07 ± 0,04 ^b	4,66 ± 0,3 ^a

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. 'Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. "Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{хлорамин-Т}$ еквивалената/ mg протеина]. *Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{H}_2\text{O}_2$ еквивалената/ mg протеина]. &Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{Тролокс}$ еквивалената/ mg протеина].

Табела 45. Дескрипција биохемијских параметара у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у функцији постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде.

Ретростерналност	[^] Тиоли	[†] СОД	[†] КАТ	[†] ГП	[†] ГР
Присутна	3,94 ± 0,84 ^a	1,51 ± 0,34 ^a	7,39 ± 2,27 ^a	0,75 ± 0,11 ^a	1,81 ± 0,4 ^a
Одсутна	3,36 ± 0,31 ^a	4,9 ± 6,91 ^b	2,96 ± 16,2 ^b	0,64 ± 0,07 ^a	1,58 ± 1,48 ^b

Примедба: ^a Подаци са нормалном расподелом су приказани као аритметичка средина ± стандардна грешка. ^b Подаци који немају нормалну расподелу су приказани као медијана са интерквartilним опсегом. [^]Концентрација је изражена у јединицама [$\mu\text{mol}/\text{mg}$ протеина]. [†]Активност ензима је изражена у јединицама [U/mg протеина].

Значајност разлике између биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме у зависности од постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде пацијената је испитана коришћењем одговарајућих статистичких тестова. Табела 46 приказује резултате тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара у зависности од постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде пацијената, где се може уочити постојање статистички значајно нижег нивоа ТОС, као и ниже активности СОД у ткиву бенигне полинодозне струме пацијената који поседују ретростерналну пропагацију штитасте жлезде.

Табела 46. Резултати тестова за процену значајности разлике биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде у зависности од постојања ретростерналне пропагације штитасте жлезде.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,422 ^a	0,063 ^b	0,028*^b	0,133 ^b	0,686 ^a	0,489 ^a	0,035*^b	0,679 ^b	0,445 ^a	0,820 ^b

Примедба: ^a За процену значајности разлике коришћен је Студентов т тест за независне узорке. ^b За процену значајности разлике коришћен је Ман Витнијев тест.

4.14 Предиктивна вредност биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде за постојање више различитих карактеристика тумора

Двостепена кластер анализа је употребљена да би се испитала предиктивна вредност биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на више од једне карактеристике папиларног карцинома штитасте жлезде.

Формирање различитих кластера извршено је на основу анализе параметара величине тумора, патохистолошког типа, ТНМ стадијума, инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације. У обзир су узети они кластери који су поседовали квалитетан скор модела (>0,5) и однос између величине кластера <3. Након груписања пацијената у појединачне кластере, спроведен је *Post hoc* Краскал Волис Х тест и испитана значајност разлике у дистрибуцији биохемијских параметара између испитаника у различитим кластерима.

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле зависне од величине тумора

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле и величине тумора како би се сагледао утицај биохемијских параметара на биолошко својство инвазивности тумора у зависности од његове величине.

Скор квалитета кластера износи 0,99, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 2,18. У Табели 47 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се види да ниједан од биохемијских параметара не утиче значајно на појаву инвазије капсуле зависне од величине тумора.

Табела 47. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу инвазије капсуле зависне од величине тумора. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,453	0,839	0,867	0,201	0,709	0,588	0,241	0,759	0,294	0,736

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на мултицентричну дисеминацију зависну од величине тумора

Кластери су образовани на основу постојања мултицентричне дисеминације и величине тумора како би се сагледао утицај биохемијских параметара на биолошко својство мултицентричности тумора у зависности од његове величине.

Скор квалитета кластера износи 0,7, креирана су 3 кластера, а однос између њихових величина износи 1,61. У Табели 48 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис X теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да вредност ТАС и активности СОД представљају значајне предикторе за појаву мултицентричности зависне од величине тумора.

Табела 48. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу мултицентричне дисеминације зависне од величине тумора. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис X тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,131	0,605	0,444	0,026*	0,295	0,503	0,036	0,843	0,354	0,639

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле и мултицентричну дисеминацију зависну од величине тумора

Кластери су образовани на основу постојања и инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од величине тумора како би се сагледало утицај биохемијских параметара на оба биолошка својства у функцији од величине папиларног карцинома. Скор квалитета кластера износи 0,6, креирана су 2 кластера, а однос између њихових величина износи 2,18. У Табели 49 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис X теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да ниједан биохемијски параметар не представља значајан предиктор за истовремену инвазију капсуле и мултицентричну дисеминацију у зависности од величине тумора.

Табела 49. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од величине тумора. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,110	0,359	0,404	0,376	0,800	0,324	0,075	0,950	0,129	0,752

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле зависне од Т туморског стадијума

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле зависне од Т туморског стадијума, како би се сагледао утицај биохемијских параметара на постојање инвазије капсуле у функцији различитог Т туморског стадијума.

Скор квалитета кластера износи 0,8, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 2,9. У Табели 50 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да је активност ГП значајан предиктор инвазије капсуле зависне од Т туморског стадијума.

Табела 50. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу инвазије капсуле зависне од Т туморског стадијума. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,935	0,835	0,936	0,817	0,792	0,978	0,316	0,563	0,043*	0,520

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на мултицентричну дисеминацију зависну од Т туморског стадијума

Кластери су образовани на основу постојања мултицентричне дисеминације зависне од Т туморског стадијума, како би се сагледао утицај биохемијских параметара на постојање мултицентричне дисеминације у функцији различитог Т туморског стадијума.

Скор квалитета кластера износи 0,8, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 2,8. У Табели 51 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да вредност ТАС представља значајан предиктор појаве мултицентричне дисеминације зависне од Т туморског стадијума.

Табела 51. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања мултицентричне дисеминације зависне од Т туморског стадијума. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПШ	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,524	0,139	0,091	0,025*	0,712	0,356	0,099	0,769	0,244	0,690

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле и мултицентричну дисеминацију зависну од Т туморског стадијума

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од Т туморског стадијума, како би се сагледао утицај биохемијских параметара на постојање оба патолошка својства изражена у функцији Т туморског стадијума.

Скор квалитета кластера износи 0,7, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 2,7. У Табели 52 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да вредност ТАС и активност СОД представљају значајне предикторе за појаву оба патолошка својства зависна од Т туморског стадијума.

Табела 52. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од Т туморског стадијума. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,324	0,092	0,074	0,015*	0,464	0,884	0,021*	0,658	0,052	0,429

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле зависне од Н туморског стадијума

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле зависне од Н туморског стадијума, како би се сагледао утицај биохемијских параметара на постојање инвазије капсуле у функцији различитог Н туморског стадијума.

Скор квалитета кластера износи 0,7, креирана су 3 кластера, а однос између њихових величина износи 2,47. У Табели 53 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да ниједан биохемијски параметар не представља значајан предиктор инвазије капсуле зависне од Н туморског стадијума.

Табела 53. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања инвазије капсуле зависне од Н туморског стадијума. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,233	0,732	0,740	0,899	0,596	0,696	0,057	0,520	0,103	0,862

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на мултицентричну дисеминацију зависну од Н туморског стадијума

Кластери су образовани на основу постојања мултицентричне дисеминације зависне од Н туморског стадијума, како би се сагледао утицај биохемијских параметара на постојање мултицентричне дисеминације у функцији различитог Н туморског стадијума.

Скор квалитета кластера износи 0,7, креирана су 3 кластера, а однос између њихових величина износи 2,12. У Табели 54 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да је активност СОД значајан предиктор појаве мултицентричне дисеминације зависне од Н туморског стадијума.

Табела 54. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања мултицентричне дисеминације зависне од Н туморског стадијума. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,157	0,943	0,903	0,813	0,398	0,257	0,019*	0,266	0,820	0,502

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле и мултицентричну дисеминацију зависну од Н туморског стадијума

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од Н туморског стадијума, како би се сагледао утицај биохемијских параметара појаву оба патолошка својства изражена у функцији Н туморског стадијума.

Скор квалитета кластера износи 0,6, креирана су 3 кластера, а однос између њихових величина износи 1,82. У Табели 55 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис Х теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да ниједан биохемијски параметар не представља значајан предиктор појаве оба патолошка својства зависна од Н туморског стадијума.

Табела 55. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од Н туморског стадијума. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис Х тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,174	0,639	0,643	0,523	0,929	0,560	0,137	0,624	0,296	0,652

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле зависне од патохистолошког типа тумора

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле зависне од патохистолошког типа тумора, како би се сагледао утицај биохемијских параметара на постојање инвазије капсуле у функцији различитог патохистолошког типа тумора. Скор квалитета кластера износи 0,8, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 1,83. У Табели 55 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис X теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да ниједан биохемијски параметар не представља значајан предиктор појаве инвазије капсуле зависне од патохистолошког типа тумора.

Табела 56. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања инвазије капсуле зависне од патохистолошког типа тумора. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис X тест.

Р-вредност									
МДА	АОПН	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,280	0,673	0,718	0,814	0,491	0,344	0,289	0,372	0,302	0,408

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на мултицентричну дисеминацију зависну од патохистолошког типа тумора

Кластери су образовани на основу постојања мултицентричне дисеминације зависне од патохистолошког типа тумора, како би се сагледало утицај биохемијских параметара на постојање инвазије капсуле у зависности од патохистолошког типа тумора.

Скор квалитета кластера износи 0,7, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 1,27. У Табели 57 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис X теста којим је процењена предиктивност параметара између кластера, где се уочава да ниједан биохемијски параметар не представља значајан предиктор појаве мултицентричне дисеминације зависне од патохистолошког типа тумора.

Табела 57. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања мултицентричне дисеминације зависне од патохистолошког типа тумора. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис X тест.

Р-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,231	0,848	0,884	0,855	0,710	0,648	0,477	0,609	0,194	0,213

Утицај биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса на инвазију капсуле и мултицентричну дисеминацију зависну од патохистолошког типа тумора

Кластери су образовани на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од патохистолошког типа тумора, како би се сагледало утицај биохемијских параметара на постојање оба патолошка својства изражена у функцији патохистолошког типа тумора.

Скор квалитета кластера износи 0,6, креирана су 4 кластера, а однос између њихових величина износи 1,54. У Табели 58 су приказани резултати *Post hoc* спроведеног Краскал Волис X теста којим је процењена предиктивност биохемијских параметара између кластера, где се уочава да ниједан биохемијски параметар не представља

значајан предиктор појаве оба патолошка својства зависна од патохистолошког типа тумора.

Табела 58. Резултати процене предиктивности биохемијских параметара оксидативно/антиоксидативног статуса између кластера формираних на основу постојања инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације зависне од патохистолошког типа тумора. За процену разлике између кластера употребљен је Краскал Волис X тест.

P-вредност									
МДА	АОПП	ТОС	ТАС	ИОС	Тиоли	СОД	КАТ	ГП	ГР
0,216	0,794	0,782	0,782	0,723	0,991	0,059	0,706	0,174	0,646

5. ДИСКУСИЈА

Папиларни карцином штитасте жлезде представља најчешћи малигни тумор штитасте жлезде, који чини преко 80% пацијената који имају неки облик малигне болести штитасте жлезде [71, 72]. Прецизна патохистолошка дијагноза папиларног карцинома штитасте жлезде представља рутину за компетентног патолога, али недостатак јасних клиничких критеријума за одређивање еволуције обољења представља значајан проблем [73]. Неоспоран је пораст инциденце обољевања широм света, за шта је поред повећане изложености спољашњим етиолошким чиниоцима одговорна и повећана детекција, претежно ултразвучним прегледом праћеним аспирационом биопсијом. Овај феномен је у стручним круговима изазвао и покретање дебате о „претераном дијагностиковању“, упркос чињеници да је неоспорно да се учесталост обољевања од папиларног карцинома штитасте жлезде заиста повећава [28]. Поред јонизујућег зрачења, које је препознато као најзначајнији егзогени фактор ризика за настанак папиларног карцинома штитасте жлезде, и даље је отворено питање о значају других фактора ризика попут загађивача, концентрације ТСХ у циркулацији, гојазности и удружености са другим обољењима штитасте жлезде [74]. Папиларни карцином штитасте жлезде је излечив код највећег броја оперисаних, а терапија J^{131} је допунског карактера и зависи од старости пацијента и дефинитивног патохистолошког налаза. Значајан проблем који је и даље нерешен је рекурентна болест, која је код одређеног броја пацијената резистентна на радиојодну терапију. У сржи овог проблема налазе се биолошке особине тумора, које детерминишу агресивност, динамику пораста, степен диференцијације и евентуалне дедиференцијације [75]. Једини начин који може да пружи бољи увид у механизам и еволуцију папиларне канцерогенезе представља темељно проучавање молекуларних патофизиолошких механизма у папиларном карциному штитасте жлезде. Подаци добијени у оваквим студијама су искоришћени и показали су обећавајуће резултате у терапији папиларног карцинома, па се очекује да би даљи развој циљане терапији пружио веће шансе за излечење нарочито оних оболелих који у овом тренутку имају лошу прогнозу болести [76]. Публикован је значајан број студија о проблематици папиларног карцинома штитасте жлезде на

молекуларно биолошком и биохемијском нивоу. Наведене студије су се бавиле питањем етиопатогенезе, дијагнозе, прогнозе и терапије овог обољења са аспекта ћелијских и субћелијских механизма [77]. Папиларни карцином штитасте жлезде је био предмет проучавања и молекуларно генетичких студија коришћењем модерних технолошких достигнућа као што је Next-Generation Sequencing. Коришћењем ове методе откривене су нове соматске мутације, као и већи генски реаранжмани који могу да представљају иницијалне факторе у настанку тумора [78]. Студије које су се бавиле секвенцирањем целокупног егзома показале су да карциноми штитасте жлезде имају релативно ниску стопу соматских мутација, у поређењу са другим хуманим малигнитетима [79]. Папиларни карцином штитасте жлезде је проучаван и са аспекта регулације генске експресије на нивоу гена и микро РНК, на основу чега су откривене значајне групе гена које се везују за прогресију тумора [80]. Хронична експозиција тироцита слободним кисеоничним радикалима може да доведе до нагомилавања генских мутација, па тако висока оксидативна оптерећеност штитасте жлезде представља значајан ризик за развој канцерогенезе [81].

Број публикованих студија које се баве проблематиком оксидативног стреса у папиларном карциному штитасте жлезде је ограничен и углавном конципиран на анализи серумских биомаркера прооксиданата и антиоксиданата, док постоји видљив недостатак резултата добијених на материјалу ткива тумора.

Карактеризација оксидативно/антиоксидативног статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде је одређена као фундаментални циљ ове студије. Од посебног значаја је чињеница да су два биомаркера (АОПП и укупни садржај тиола) обухваћена студијским дизајном по први пут окарактерисана код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, што ће бити детаљно изложено у предстојећем тексту. Истраживање је конципирано у виду експерименталне биохемијске студије у којој су квантификовани биомаркери оксидативног стреса у ткиву папиларног карцинома, уз примену две контролне групе. Једна од њих је представљала сопствену контролну групу сачињену од исечака здравог ткива штитасте жлезде оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, који је сакупљен са највеће могуће удаљености од локације примарног тумора. Другу, независну контролну групу су чинили узорци штитасте жлезде оболелих од бенигне

полинодозне струме штитасте жлезде. Оксидативни стрес је процес на који утиче велики број како спољашњих, тако и унутрашњих етиолошких фактора. У њих спадају различити егзогени токсини, изложеност зрачењу, генетска конституција, животно доба, тип исхране, присуство обољења попут исхемијске болести срца, дијабетеса, карцинома, хроничних инфламаторних обољења, употреба лекова итд. [82]. Управо је овај изузетно велики број придружених фактора који утичу на редокс статус у организму један велики методолошки изазов у смислу стандардизације испитаника и смањења њиховог утицаја у највећој могућој мери на добијене резултате. Тако је и у овом експерименту уложен максимални могући напор да се у студију укључе они пацијенти који су у највећој мери ослобођени присуства најзначајнијих придружених фактора, а у циљу добијања што валиднијих резултата. Појединци из експерименталне и контролне групе су групно мечовани према полу, узрасту, пушачком статусу, постојању породичне историје обољења штитасте жлезде, клиничким карактеристикама тироидне функције и статусу антитироидних антитела. Може се уочити да у случају индекса телесне масе и титра ТПО-ат, постоје статистички значајне разлике између експерименталне и контролне групе. Забележен је значајно виши индекс телесне масе код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде у односу на пацијенте оболеле од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Иако је гојазност идентификована као заједнички фактор ризика за настанак различитих хуманих малигнитета [83], ова разлика највероватније не представља значајан придружени фактор, будући да до сада није доведена у корелацију са ризиком од обољевања од папиларног карцинома штитасте жлезде. Квон и сарадници су у својој студији показали да се гојазност не доводи у везу са настанком папиларног карцинома штитасте жлезде, као ни са степеном агресивности његовог клиничког тока и дужином преживљавања у периоду без појаве рекурентне болести [84]. Код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде је регистрован значајно већи титар ТПО-ат у односу на оболеле од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Ова разлика је у сагласности са резултатима више студија, у којима је забележена узрочност између постојања Хашимотовог тироидитиса и папиларног карцинома штитасте жлезде, сугеришући на имунолошку етиолошку повезаност између ова два обољења [85-87]. Један од потенцијалних

механизама који појединце са повишеним титром антитироидних антитела предиспонира за настанак папиларног карцинома штитасте жлезде је постојање хроничног аутоимунског запаљенског процеса, у коме постоји повећана продукција прооксиданата који могу водити у правцу канцерогенезе [88]. Патохистолошком анализом је установљено присуство четири различита типа папиларног карцинома штитасте жлезде. Фоликулска варијанта је детектована код највећег број оболелих, затим микропапиларна и класична, док је солидна варијанта била заступљена код најмањег броја пацијената оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде. Оболелих од фоликулске варијанте је било два пута више од пацијената са солидном варијантом, па је установљена дистрибуција учесталости различитих патохистолошких типова била у задовољавајућем односу за постизање валидних статистичких закључака. Учесталост појаве различитих типова папиларног карцинома штитасте жлезде је изузетно варијабилна у публикованим резултатима, али су класична и фоликулска варијанта најчешће варијанте, са чиме су у сагласности и резултати добијени у овој студијској популацији [89-91]. Највећи број пацијената је имао тумор у Т1 стадијуму, док је само један од њих имао Т4 стадијум, што говори у прилог томе да је преоперативна дијагноза код највећег броја испитаника постављена у раној фази развоја болести. Ултрасонографска дијагностика се сматра за поуздано средство за преоперативно одређивање Т туморског стадијума, о чему говоре и резултати студије Парка и сарадника [92]. Папиларни карцином штитасте жлезде се најчешће презентује у Т1 (55-60%) или у Т2 стадијуму (14-22%), Т3 стадијум је карактеристичан за мање од 20% оболелих, док је Т4 туморски стадијум изузетно редак и јавља се код 1-3% пацијената [93-95]. Расподела учесталости Т туморских стадијума код испитиваних пацијената одговара литературним дистрибуцијама и говори у прилог квалитета узорачке популације, осим у случају Т3 стадијума. У овом тренутку није могуће дати јасан разлог за овакву дистрибуцију, а уколико би се и на већем узорку оболелих показало да је Т3 стадијум чешћи него у литератури, узрок би могао да буде или неблагоприятна дијагноза болести или већим гравитирањем пацијената са одмаклим стадијумом болести ка терцијарној здравственој установи. Постојање метастаза у лимфним чворовима врата је у зависности од установе забележено код око 30-40% оболелих

од папиларног карцинома штитасте жлезде [96]. С обзиром да је код највећег броја пацијената папиларни карцином штитасте жлезде откривен у T1 и T2 стадијуму, није било неопходно спровести дисекцију лимфних нодуса врата. Тако је код значајног броја испитаника непознато да ли постоје метастазе у лимфним чворовима врата, а уколико се ови појединци изузму, учесталост појаве лимфних метастаза је у сагласности са претходно наведеним литературним подацима. Фенотипске карактеристике тумора као што су инвазија капсуле и мултицентрична интратироидна дисеминација су установљене код око трећине пацијената, упркос томе што је највећи број тумора детектован у ниском стадијуму. Према студији Фурлана и сарадника, инвазија капсуле је присутна код око 53% оболелих, а према студији Чена и сарадника чак код 68% оболелих, што је значајно већи проценат у односу на резултате добијене у овом истраживању [97, 98]. Пропорција пацијената код који је установљена мултицентрична дисеминација се налази унутар опсега досадашњих публикованих учесталости, које су варијабилне у зависности од студијске популације [99, 100]. Ниједан пацијент није имао симптоме или знаке удаљених метастаза, чак ни они који су имали T3 и T4 стадијум, што не искључује могућност асимптоматских промена.

Молекуларна карактеризација студијских биомаркера је спроведена на материјалу ткива штитасте жлезде добијеног након хируршке интервенције. Концепт двоструке контролне групе, зависне и независне, имао је два циља. Први од њих је да се одређивањем параметара у здравом ткиву оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде апроксимирају вредности параметара које су карактеристичне за нормално ткиво штитасте жлезде, будући да је папиларни карцином штитасте жлезде добро ограничен тумор. Други циљ је био да се упореде вредности биомаркера у бенижном обољењу штитасте жлезде, какво је бенигна полинодозна струма и да се на тај начин установи биохемијска позиција папиларног карцинома штитасте жлезде између нормалног ткива са једне и ткива бенигне промене са друге стране. За потпуно схватање патофизиолошких односа које осликавају вредности биохемијских параметара одређених у студији, упоређене су и вредности добијене у нормалном ткиву са вредностима у бенижној полинодозној струми, како би се испитала блискост бенигне промене нормалном ткиву у контексту редокс статуса.

У поређењу са нормалним ткивом штитасте жлезде, туморско ткиво се карактерише значајно вишим степеном укупне антиоксидативне способности, која се огледа у вишем нивоу ТАС и већим активностима ГП и ГР. Додатно, вредности ИОС, које осликавају укупан однос између количине оксиданата и антиоксиданата су ниже у туморском у односу на здраво ткиво. Овакав налаз значајно говори у прилог појачане антиоксидативне способности туморског ткива у односу на нормално ткиво, а једно од могућих објашњења ове појаве је везано за чињеницу да значајно мања концентрација тиола у туморском у односу на здраво ткиво представља последицу компензаторног дејства које може да спречи ефекте прооксиданата који се генеришу. Тиреоцити своју физиолошку улогу обављају у условима високог оксидативног оптерећења, будући да непрекидно производе водоник пероксид, који је неопходан за синтезу хормона штитасте жлезде [101]. Синхроно повећање активности ензима глутатионског циклуса је индикативна појава која упућује на то да је доминантни слободни радикал који се у штитастој жлезди производи водоник пероксид, с обзиром да активност ГП и ГР представља прву линију одбране од овог типа слободног кисеоничног радикала [102]. Ову тезу додатно подржава налаз да је повећана активност ГП и ГР у туморском ткиву праћена сниженом концентрацијом тиола у поређењу са здравим ткивом. Низак ниво тиола указује да је редуковани глутатион квантитативно најзаступљенији у укупном пулу тиола, па је његово оксидовање у процесу неутрализације водоник пероксида узроковало пад концентрације тиола у туморском ткиву. На анималном моделу, показано је да је укупна концентрација тиола квантитативно најзначајнији чинилац који одређује ТАС у ткивним хомогенатима, при чему у студији није анализирано тироидно ткиво [103]. Да би се ова хипотеза испитала, у будућности би требало поред укупног садржаја тиола одредити и концентрацију глутатиона у анализираном материјалу и посматрати је у односу на активност ензима глутатионског циклуса. Интригантан је налаз да туморско ткиво не показује разлику у вредностима биохемијских параметара оксидативног стреса у односу на ткиво бенигне полинодозне струме, што на нивоу редокс статуса категоризује папиларни карцином штитасте жлезде у исту групу у којој се налази и бенигно обољење штитасте жлезде. Између здравог ткива штитасте жлезде и ткива бенигне полинодозне струме постоји разлика у

концентрацији тиола, који имају већу концентрацију у здравом ткиву штитасте жлезде, док је активност ГП и ГР значајно виша у ткиву бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Интензивна активност ензима глутатионског циклуса у ткиву бенигне полинодозне струме уз ниже нивое слободних тиола, упућује да се у ткиву бенигне полинодозне струме одвија већа продукција водоник пероксида у односу на здраво ткиво штитасте жлезде. Компензаторно деловање ГП и ГР уз доступност редукованих тиолских супстрата сугерише да се повећана продукција слободних радикала успешно неутралише. Очигледан паралелизам између туморског и ткива струме, по питању сниженог нивоа слободних тиола и повећане активности ГП и ГР, упућује да се у штитастој жлезди пад концентрације тиола највероватније може приписати потрошњи редуковане форме глутатиона. Повишена активност ГП и ГР у туморском ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде је публикована и у студији Стенлија и сарадника [104]. Поред високе активности ензима глутатионског циклуса, показано је да постоји висока количина редукованог глутатиона у туморском ткиву, што говори о значају глутатиона за антиоксидативне процесе у штитастој жлезди. У истој студији је поред наведених параметара доказана и значајно већа концентрација МДА и активност СОД у туморском ткиву, за разлику од резултата добијених у овом истраживању. Разлика у примењеним биохемијским методама, недостатку анализе патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде, као и разлике у одабиру испитаника између две студије су фактори који су могли довести до разлике у резултатима наведених параметара. У здравом ткиву штитасте жлезде је уочено постојање више значајних директних корелација између биохемијских параметара. На основу постојања већег броја значајних корелација између прооксидантних и антиоксидантних маркера може се рећи да здраво ткиво штитасте жлезде поседује физиолошку особину да се одупре оксидативном стресу ангажовањем више различитих ензимских и неензимских чинилаца антиоксидативног протективног система. Показано је да су ТОС и ИОС нормалног ткива у значајној корелацији са нивоом АОПП, што упућује на то да ћелијски протеини трпе ефекте оксидативне трансформације, понашајући се као неспецифични акцептори слободних радикала [105]. У групи корелација утврђених између компоненти антиоксидативног система се може уочити да је ниво ТАС завистан од активности СОД и КАТ, као и да је

међусобна корелација између СОД и КАТ одраз синергистичког деловања на биохемијском путу дисмутације супероксидног, а потом и пероксидног радикала. У прилог постојања компетентног глутатионског антиоксидативног циклуса говори и директна корелација између активности ГР и укупног садржаја тиолних група, којима припада и редукована форма глутатиона. У погледу постојања корелација између биохемијских и клиничко/патолошких параметара у здравом ткиву, откривен је већи број директних повезаности између редокс параметара и параметара функције штитасте жлезде (концентрација хормона штитасте жлезде и концентрације ТГ у крви). Овакав однос између наведених параметара указује да је интензитет редокс метаболизма у директној вези са метаболичком и синтетском функцијом штитасте жлезде. Штитаста жлезда у којој се одвија интензивна синтетска активност се одликује и компетентнијом антиоксидативном способношћу. Могући механизам се може односити на супресивно деловање веће концентрације ТСХ у крви на садржај ткивних тиола о чему сведочи постојање негативне корелације између наведених параметара. Директна корелација између пушења и концентрације тиола додатно потврђује да је количина сулфхидрилних група најважнија прва линија биолошке одбране здравог ткива од ефеката повећане количине прооксиданата код пушача. У ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде установљен је велики број значајних корелација између појединих биохемијских параметара, на основу чега се може закључити да постоји значајан биолошки одговор малигне туморске ћелије на повећану продукцију слободних радикала. Попут здравог ткива, и у туморском ткиву постојање директних корелација између вредности АОПП са једне и ТОС и ИОС с друге стране потврђује закључак да је оксидативно оштећење ћелијских протеина евидентна последица повећане прооксидације. Туморско ткиво по питању корелационих односа између антиоксидативних механизма има исте карактеристике као и здраво ткиво штитасте жлезде. Додатно, уочене су и директне корелације између ТАС и активности ГП, као и између активности ГП и ГР, која говори о још већој ангажованости антиоксидативних механизма у туморској ћелији у поређењу са здравим ткивом. Овај однос се може двојачко тумачити: као биолошко својство туморске ћелије папиларног карцинома штитасте жлезде да поседује вишу антиоксидативну

способност *per se* у односу на здраво ткиво, или као компензаторни одговор на појачану продукцију слободних радикала у туморској ћелији. Будући да није установљена значајно већа концентрација прооксидантних маркера у туморској ћелији у односу на здраво ткиво, највероватније је да је други предложени механизам одговоран за постојање наведених корелација између параметара. Знатно већи број установљених корелација између прооксидантних и антиоксидантних маркера је одраз значајно интензивнијег одговора који постоји у малигној ћелији као реакција на појачану продукцију прооксиданата. Постојање негативне корелације између ИОС са ГП и ГР указује да степен оксидативног стреса највише зависи од продукције водоник пероксида, чији ефекти стимулишу значајну ангажованост антиоксидативних ензима глутатионског циклуса. У ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде је такође показана директна зависност између активности антиоксидантних ензима и параметара тироидне функције. Нарочито је интересантан негативан однос између активности СОД и постојања метастаза у лимфним нодусима. Пацијенти са екстратироидном дисеминацијом поседују ниже вредности СОД, што се може тумачити као предиспонирајући фактор за настанак метастатског потенцијала. Веза између снижене активности СОД и прогресије карцинома је показана на примеру бројних хуманих малигнитета у које спадају карцином дојке, плућа, букалне слузнице и лимфома [106]. Код старијих пацијената оболелих од папиларног карцинома је у ткиву тумора забележена нижа активност ГР, што може деловати као један од предиспонирајућих фактора за дедиференцијацију и агресивнији ток папиларног карцинома штитасте жлезде, карактеристичан за старије животно доба [107]. Корелације између биохемијских параметара у бенигној полинодозној струми у највећој мери одговарају корелацијама које су установљене у здравом ткиву штитасте жлезде и у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде. На основу односа АОПП са ТОС и ИОС, закључује се да је такође и у бенигној полинодозној струми доминантни ефекат оксидативног стреса оштећење ћелијских протеина. Међусобна корелација између ензима глутатионског циклуса, као и између активности ГР и садржаја тиола, значи да и бенигно ткиво штитасте жлезде поседује одређена заједничка својства са ткивом папиларног карцинома штитасте жлезде. Постојање већег броја корелација између вредности маркера прооксидације

и антиоксиданата сугерише да и ткиво бенигне полинодозне струме попут папиларног карцинома штитасте жлезде има способност да на више нивоа одговори на услове оксидативног оштећења. Показано је да ретростернална пропација бенигне полинодозне струме директно зависи од количине слободних радикала у ткиву, на чију продукцију стимулативно делује повећана концентрација ТСХ у крви. Веза између оксидативног стреса и развоја бенигне полинодозне струме је показана на молекуларном нивоу уз коришћење анималног модела [108]. Када се налазу негативне корелације између ТСХ и садржаја тиола у туморском ткиву дода и директна веза између ТСХ и продукције прооксиданата у бенигној полинодозној струми. Јасно је видљива могућност да ТСХ представља чинилац чијом се концентрацијом у крви може манипулисати суплементационом терапијом I-тироксином у циљу контроле редокс статуса ткива штитасте жлезде. Са порастом садржаја прооксиданата у ретростерналној струми се очигледно активира повећана продукција супероксидног радикала, што се осликава у постојању директне корелације између активности СОД и ретростерналне пропације струме. Негативна корелација између активности ГР и садржаја ФТ4 је још један показатељ да са повећањем функције штитасте жлезде расте и продукција прооксиданата, уз могућност посредне атенуације активности ГР и снижења ТАС које је карактеристично за струме већих димензија. Старост пацијената је идентификована као фактор који је повезан са сниженом активношћу КАТ у ткиву бенигне полинодозне струме.

У студијској популацији оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде је установљено постојање четири различита патохистолошка типа. У складу са циљевима истраживања, испитано је постојање разлике и повезаности између биохемијских, клиничких и патолошких параметара у зависности од патохистолошког типа тумора. Недостатак значајне разлике у дистрибуцији биохемијских параметара између различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде упућује на постојање заједничке биолошке основе која детерминише редокс статус у папиларној неоплазији. Недостатак студија које се баве проблематиком карактеризације метаболичких процеса различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде и анализе

њихових заједничких карактеристика представља интересантно истраживачко поље, које би допринело приближавању ка стратегији за развој лекова за више типова папиларног карцинома штитасте жлезде. Анализом фенотипских карактеристика тумора, показано је да се тумори који поседују способност инвазије капсуле не разликују од тумора који то својство немају. С друге стране, показано је да је код мултицентричних тумора значајно нижи ниво липидне пероксидације, а својство мултицентричности директно корелише са активношћу СОД. У овом тренутку није могуће пружити егзактно објашњење за овакав контраверзан налаз без дубљих молекуларних анализа. Према канонском схватању оксидативни стрес представља мотор канцерогенезе, прогресије тумора и настанка метастатске болести. Али упркос овом догматском становишту појављују се нови докази који показују да је и туморској ћелији неопходно да се одбрани од оксидативног стреса, па тако метастатско ширење може представљати начин за „бег“ туморске ћелије из неповољне редокс средине на месту примарног тумора [109]. Уколико се узме у обзир ово становиште, оно би могло да представља објашњење индолентног биолошког тока папиларног карцинома штитасте жлезде, који према резултатима студије поседује изузетно развијену антиоксидативну способност. Када је у питању ТНМ стадијум, није установљена значајна разлика у вредности било ког биохемијског параметра између тумора у различитим стадијумима, што показује да је редокс статус папиларне канцерогенезе независан од величине тумора и његове прогресије. Поред међугрупних поређења између пацијената, испитан је и утицај пола, пушачког статуса, постојања породичне историје обољења штитасте жлезде, као и ретростерналне пропагације на добијене резултате биохемијских параметара. Установљено је да се мушкарци и жене не разликују у погледу редокс статуса, како у групи оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, тако и у контролној групи оболелих од бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Пушење представља значајан придружени фактор који утиче на вредности појединих биохемијских параметара у експерименталној и у контролној групи. Код пушача оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде је у туморском ткиву значајно нижа активност ГП у односу на оболеле непушаче. Ово смањење активности ГП не утиче на укупну антиоксидативну способност туморског ткива, нити изазива

повећање вредности маркера оксидативног стреса, али се свакако може разумети као фактор ризика који доводи до већег прооксидативног оптерећења туморске ћелије. Утицај пушења на редокс статус је још израженији код оболелих од бенигне полинодозне струме, јер је установљен значајно виши ниво ИОС код пушача, који упућује да пушење изазива оксидативни стрес у ткиву бенигне полинодозне струме. Интригантан резултат представља налаз да је код особа које су имале претходно обољење штитасте жлезде у породици установљена значајно нижа вредност ТОС у односу на особе које нису имале оболеле сроднике. Овај налаз за сада има ограничену вредност, будући да је ниво значајности дискретан, па би било неопходно повећати узорак да би се испитала веродостојност овог налаза, који у овом тренутку не може бити објашњен на основу доступних података. Код оболелих од бенигне полинодозне струме утицај постојања обољења штитасте жлезде у породици није утицао на разлику у вредностима биохемијских параметара редокс статуса. Пацијенти код којих је папиларни карцином штитасте жлезде био локализован у ретростернално постављеној штитастој жлезди, имају високо значајно ниже вредности липидних пероксида. На снижење интензитета липидне пероксидације може деловати повећана количина ТГ која је карактеристична за ретростернални раст или дуготрајна адаптација на повећан оксидативни стрес који је присутан код пацијената са ретростерналном штитастом жлездом. Ову тезу додатно подржава налаз да је код оболелих од бенигне ретростерналне струме нађен значајно нижи ниво ТОС, али и смањена активност СОД, која имплицира да постоји нисходна регулација експресије услед непостојања индукујуће прооксидативне средине за њено деловање.

Публикована су истраживања која су се бавила питањем оксидативног стреса у папиларној канцерогенези. У највећем броју ових истраживања су квантификовани маркери редокс статуса у системској циркулацији, док је у свега неколико студија спроведена анализа на ткивном материјалу. Као што је то у молекуларној биологији уобичајено, сви објављени резултати су у значајном обиму контрадикторни и хетерогени, што питање оксидативног стреса у папиларном карциному штитасте жлезде чини још интригантнијим и ово поље актуелним за даља истраживања. Делеонарди и сарадници су на моделу ћелија папиларног карцинома штитасте

жлезде показали да је повећан оксидативни стрес уз инсуфицијенцију респираторног ланца митохондрија одговоран за експримирање оксидоредуктазе ћелијске мембране, која појачава антиоксидативни капацитет ћелије путем редукције коензима Q и аскорбата [110]. У ћелијама папиларног карцинома штитасте жлезде је установљена висока концентрација 8-оксо-дезоксигуанозина, који упућује да у туморским ћелијама постоји оштећење молекула ДНК изазвано оксидативним стресом. У истој студији је показано да туморске ћелије папиларног карцинома штитасте жлезде имају нижи ниво липидне пероксидације у односу на контролно ткиво, коришћењем 4-хидроксиноненала као биомаркера [111]. Иако у овој студији није било разлике у липидној пероксидацији између туморског и контролних ткива, претходни налаз добијен коришћењем 4-хидроксиноненала се може схватити као меродавнији, будући да се ради о квалитетнијем биомаркеру липидне пероксидације, него што је то МДА. Ослањајући се на резултат повећане антиоксидативне способности ћелија папиларног карцинома штитасте жлезде, резултат публикован у претходно наведеној студији би могао бити последица ове појаве, поготово када се узме у обзир да је на нивоу регулације генске експресије показано да се транскрипциони фактор Nrf2 налази у обилној количини у ћелијама папиларног карцинома штитасте жлезде и да у њима контролише антиоксидативни транскрипциони одговор и ћелијско преживљавање [112]. Студија Табура и сарадника је обухватила одређивање серумских вредности 8-оксо-дезоксигуанозина, липидних пероксида, ТОС, ТАС и ИОС. Попут резултата на ткивном нивоу, код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде је установљена већа преоперативна вредност 8-оксо-дезоксигуанозина у односу на постоперативне вредности, док су нивои липидних пероксида, ТОС и ИОС били повишени како преоперативно, тако и постоперативно, док је ТАС био нижи преоперативно [113]. Наведени налази указују да једино концентрација 8-оксо-дезоксигуанозина у серуму има експланаторну вредност када је у питању редокс статус оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде, за разлику од ТАС и ИОС чије вредности на ткивном нивоу осликавају јасну разлику између туморског и здравог ткива [114]. Студија чији је дизајн највише налик овом истраживању је рад Стенлија и сарадника. Они су на ткивном нивоу показали да папиларни карцином штитасте жлезде има повећан

степен липидне пероксидације, као и активност антиоксидативних ензима СОД и ГП, док се активност КАТ не разликује значајно у односу на ткиво бенигне полинодозне струме [104]. Такође, установили су и повећан садржај редукованог глутатиона у туморском ткиву, што говори у прилог хипотези изнетој у овој студији да је глутатионски циклус квантитативно најзначајнији антиоксидативни механизам туморске ћелије папиларног карцинома штитасте жлезде. У наведеној студији нису узети у обзир придружени фактори и број испитаника је значајно мањи него у овом истраживању. Упркос овим недостацима, резултати у највећој мери одговарају резултатима добијеним у овој студији, али се разлике у интензитету липидне пероксидације у туморском ткиву морају тумачити са резервом, имајући у виду сва ограничења које поседује МДА. Истраживање Надолњика и сарадника такође поткрепљује доказе да постоји повећана антиоксидативна активност у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде, а истовремено истиче и значај оксидативног стреса у патогенези бенигне полинодозне струме, који је показан и у овом истраживању [115].

Кластер анализа је примењена ради моделовања односа између студијских варијабли и одређивање предиктивне вредности биохемијских параметара редокс статуса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме на задате параметре. На овај начин је испитан утицај биохемијских параметара на истовремено постојање више различитих фенотипских и патолошких карактеристика папиларног карцинома штитасте жлезде. У анализи постојања својства инвазије капсуле и њене зависности од величине тумора није установљено да било који биохемијски параметар окарактерисан у студији има значајан утицај. За разлику од инвазије капсуле, ТАС и СОД представљају значајне предикторе мултицентричности папиларног карцинома штитасте жлезде изражене у функцији величине примарног тумора. Из овог налаза проистиче да је интрагландуларна лимфогена дисеминација, која је зависна од величине тумора детерминисана антиоксидативним статусом у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде. Када је заједнички посматрано постојање инвазије капсуле и мултицентричности у функцији величине папиларног карцинома штитасте жлезде, није установљено да је било који биохемијски параметар значајан предиктор постојања ова два биолошка својства тумора.

Инвазија капсуле зависна од Т туморског стадијума је под значајним утицајем активности ГП у туморском ткиву. На сличан начин је показан и значајан предиктивни утицај ТАС на мултицентричну дисеминацију папиларног карцинома штитасте жлезде зависног од Т туморског стадијума. Чак и када су у формирању кластера заједно укључена својства инвазије капсуле и мултицентричности у зависности од Т туморског стадијума, показано је да су вредност ТАС и активност СОД значајни предиктори. Ови налази учвршћују став да је антиоксидативни статус у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде изузетно значајан фактор експанзије и биолошки агресивног понашања тумора. Није показано да је било који биохемијски фактор од значаја за предикцију инвазије капсуле у функцији од Н туморског стадијума. За разлику од инвазије капсуле, мултицентрична дисеминација која је изражена у функцији од Н туморског стадијума зависи од активности СОД, што је и претходно сугерисано на нивоу постојања разлика у активности СОД у зависности од Н туморског стадијума. Када је заједно анализирана инвазија капсуле и мултицентрична дисеминација зависна од Н туморског стадијума, ниједан биохемијски параметар није означен као значајан предиктор. Биохемијски параметри не представљају значајне предикторе инвазије капсуле и мултицентричне дисеминације тумора у случају када су посматрани код различитих патохистолошких типова тумора, како појединачно, тако и збирно.

Узимајући у обзир све наведено, овом студијом је показано да је ткивни редокс статус дубоко укореењен у патогенезу папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме штитасте жлезде. Поред разлика у појединим компонентама оксидативно/антиоксидативног система, такође је показан велики број међузависности биохемијских и клиничко патолошких параметара који сугеришу да су одређене особине оба патолошка процеса у вези са постојањем оксидативног стреса *in situ*.

Имајући у виду публиковане резултате, предност ове студије је што су на до сада највећој серији оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде и бенигне полинодозне струме испитани чиниоци оксидантно/антиоксидантног система, а неки од њих и по први пут (АОПП и укупни садржај тиола). Посебан је значај што до сада ниједна студија није обухватила овај број разноврсних биохемијских параметара,

који када се сви заједну узму у обзир, дају прилично информативну слику о ткивном оксидативном стресу у испитиваном материјалу. Најзначајнији придружени фактори који би утицали на валидност резултата су елиминисани, а они који нису могли да буду елиминисани су анализирани у смислу утицаја на добијене резултате. Такође, добијени налази почивају на ткивном материјалу, па је тако допринос фундаменталном разумевању биологије тумора и бенигне полинодозне струме од великог значаја. Утицај оксидативног стреса на фенотипске особине тумора је анализиран по први пут, као и анализа зависности биохемијских параметара од патохистолошког типа тумора. Имајући у виду да је студијски дизајн обухватио две контролне групе, вредност свих добијених резултата је утолико већа, због њиховог стављања у контекст редокс статуса нормалног, преко бенигног до малигног ткива. Да би се налази добијени у овој студији додатно потврдили, у будућности би било нужно спровести анализу на још већем броју испитаника и узети у обзир и друге параметре од значаја, као што су: утицај исхране, детаљнија патохистолошка карактеризација, дужина трајања болести, утицај придружених обољења штитасте жлезде, проспективно праћење исхода након операције и осетљивост на адјувантну радиојодну терапију. Такође, коришћење софистициранијих метода за директну квантификацију појединих слободних радикала и укључивање додатних биомаркера редокс статуса би још више продубило добијене резултате. Да би се постигла примена у свакодневној клиничкој пракси, било би корисно направити анализу корелације добијених резултата на ткивном материјалу, са резултатима добијеним на биопсијском материјалу, као и у системској циркулацији. На крају се може закључити, како из литературе, тако и непосредно из експерименталних доказа да је савремена медицина на путу редукције на молекуларни, па чак и субмолекуларни ниво и да је њен комплетан вртоглави развој у последњих неколико деценија, као и будући напредак у потпуности детерминисан степеном разумевања молекуларне стварности здравља и болести.

6. ЗАКЉУЧЦИ

У складу са задатим циљевима истраживања, а на основу представљених резултата, могу се донети следећи закључци:

1. Папиларни карцином штитасте жлезде поседује мањи оксидативни стрес и већу антиоксидативну способност у односу на нормално ткиво штитасте жлезде.
2. Редокс статус папиларног карцинома и бенигне полинодозне струме се не разликују, док ткиво бенигне полинодозне струме поседује већи ензимски антиоксидативни капацитет од здравог ткива, које поседује већи неензимски антиоксидативни капацитет.
3. Биохемијски параметри оксидативног стреса у ткиву штитасте жлезде су у вишеструкој међузависности у групи оболелих, као и у контролним групама, а показано је и постојање више зависности биохемијских параметара са демографским, клиничким и патолошким карактеристикама.
4. Код оболелих од папиларног карцинома штитасте жлезде установљен је значајан утицај параметара редокс статуса на више различитих особина тумора.
5. Између различитих патохистолошких типова папиларног карцинома штитасте жлезде није установљена разлика у погледу вредности испитаних параметара оксидативно/антиоксидативног статуса.



На основу резултата и закључака истраживања, одређивање параметара редокс статуса папиларног карцинома штитасте жлезде би се могло искористити као додатни инструмент за процену биолошког понашања тумора, а самим тим и персонализацију стратегије лечења најчешћег малигног обољења штитасте жлезде.

7. ЛИТЕРАТУРА

- [1] Khan A, Nose V, Lloyd RV. Endocrine pathology: differential diagnosis and molecular advances, 2nd ed. New York: Springer 2010;181-236.
- [2] DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. In: Kleihues P, Sobrin LH, series editors. World health organization. Classification of Tumours. Lyon: IARC Press; 2004.
- [3] Chow EJ, Friedman DL, Stovall M, и сарадници. Risk of thyroid dysfunction and subsequent thyroid cancer among survivors of acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53: 432-437.
- [4] Williams ED, Abrosimov A, Bogdanova T, и сарадници. Morphologic characteristics of Chernobyl-related childhood papillary thyroid carcinomas are independent of radiation exposure but vary with iodine intake. *Thyroid* 2008;18: 847-852.
- [5] Baloch Z, LiVolsi VA. Pathology of the thyroid gland. In: Livolsi VA, Asa S. Endocrine Pathology. Churchill Livingstone: Philadelphia, PA, 2002; 61-88.
- [6] LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod Pathol.* 2011; 24: S1-S9.
- [7] Sakorafas GH, Friess H, Peros G. The genetic basis of hereditary medullary thyroid cancer: clinical implications for the surgeon, with a particular emphasis on the role of prophylactic thyroidectomy. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 871-84.
- [8] Ilie MI, Lassalle S, Long-Mira E, и сарадници. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAF(V600E) mutation in papillary thyroid carcinoma: comparative analysis with three DNA-based assays. *Thyroid* 2014; 24: 858-866.

- [9] Kebebew E, Weng J, Bauer J, и сарадници. The Prevalence and Prognostic Value of BRAF Mutation in Thyroid Cancer. *Ann Surg* 2007; 246: 466-471.
- [10] Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular genetics of thyroid cancer: implications for diagnosis treatment and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; 8: 83-95.
- [11] Cetta F, Toti P, Petracci M, и сарадници. Thyroid carcinoma associated with familial adenomatous polyposis. *Histopathology* 1997; 31: 231-236.
- [12] Rosai J, Carcangui ML, DeLellis RA. Tumors of the Thyroid Gland. *Atlas of Tumor Pathology, Fascicle 5*. Armed Forces Institute of Pathology: Washington, DC, 1992.
- [13] Dugan JM, Atkinson BF, Avitabile A, Schimmel M, LiVolsi VA. Psammoma bodies in fine needle aspirate of the thyroid in lymphocytic thyroiditis. *Acta Cytol* 1987; 31: 330-334.
- [14] LiVolsi VA. Surgical pathology of the thyroid. Bennington JL. Series major problems in pathology. Vol. 22. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1990.
- [15] Taccaliti A, Silveti F, Palmonella G, Boscaro M. Anaplastic Thyroid Carcinoma. *Front Endocrinol* 2012; 3: 84.
- [16] Shaha AR, Shah JP, Loree TR. Differentiated thyroid cancer presenting initially with distant metastasis. *Am J Surg* 1997; 174: 474-476.
- [17] Rodriguez JM, Moreno A, Parrilla P, и сарадници. Papillary thyroid microcarcinoma: clinical study and prognosis. *Eur J Surg* 1997; 163: 255-259.
- [18] Noguchi S, Yamashita H, Uchino S, Watanabe S. Papillary Microcarcinoma. *World J Surg* 2008; 32: 747-753.

- [19] Ivanova R, Soares P, Castro P, Sobrinho-Simões M. Diffuse (or multinodular) follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of ten cases of an aggressive form of differentiated thyroid carcinoma. *Virchows Arch* 2002; 440: 418-424.
- [20] Nikiforov YE, Erickson LA, Nikiforova MN, Caudill CM, Lloyd RV. Solid variant of papillary thyroid carcinoma: incidence, clinical-pathologic characteristics, molecular analysis, and biologic behavior. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 1478-1484.
- [21] Hicks MJ, Batsakis JG. Tall cell carcinoma of the thyroid gland. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993; 102: 402-403.
- [22] Chan JK. Papillary carcinoma of thyroid: classical and variants. *Histol Histopathol* 1990; 5: 241-257.
- [23] Lloyd RV, Buehler D, Khanafshar E. Papillary Thyroid Carcinoma Variants. *Head Neck Pathol* 2011; 5: 51-56.
- [24] Baloch ZW, LiVolsi VA. Pathologic diagnosis of papillary thyroid carcinoma: today and tomorrow. *Expert Rev Mol Diagn* 2005; 5: 573-584.
- [25] Russ G, Bigorgne C, Royer B, Rouxel A, Bienvenu-Perrard M. The Thyroid Imaging Reporting and Data System (TIRADS) for ultrasound of the thyroid. *J Radiol* 2011; 92: 701-713.
- [26] Lin JD. Thyroglobulin and human thyroid cancer. *Clin Chim Acta* 2007; 388: 15-21.
- [27] Tuttle RM, Leboeuf R, Martorella AJ. Papillary thyroid cancer: monitoring and therapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36: 753-778.

[28] Kim WB. A Closer Look at Papillary Thyroid Carcinoma. *Endocrinology and Metabolism*. 2015; 30: 1-6.

[29] Jeon MJ, Kim TY, Kim WG, и сарадници. Differentiating the location of cervical lymph node metastasis is very useful for estimating the risk of distant metastases in papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 81: 593-599.

[30] Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 184-199.

[31] Freidovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or whats the matter with oxygen? *NY Acad Sci* 1999; 893: 13.

[32] Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J* 1987; 1: 358-364.

[33] Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.

[34] Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 295: 849-868.

[35] Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem* 1991; 37: 1932-1937.

[36] Корачевић Д. Дијагностички важни ензими. У: Корачевић Д, и сарадници. Биохемија. Београд. Савремена Администрација. 1996; 96-157.

[37] Павловић Д. Биолошка оксидација. У: Корачевић Д, и сарадници. Биохемија. Београд. Савремена Администрација. 1996; 678-705.

[38] Живић С, и сарадници. Значај оксидативног стреса у настанку дијабетеса типа 1 – одређивање активности каталазе у лимфоцитима оболелих. *Med Pregl* 2008; LXI: 458-463.

[39] Squadrito GL, Pryor WA. Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 392-403.

[40] Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo* 1999; 13: 295-309.

[41] Newsholme P, Cruzat VF, Keane KN, Carlessi R, de Bittencourt PI Jr. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochem J* 2016; 473: 4527-4550.

[42] Baraibar MA, Liu L, Ahmed EK, Friguet B. Protein oxidative damage at the crossroads of cellular senescence, aging, and age-related diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 2012: 919832.

[43] Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 20313-20316.

[44] Tsuboi H, Kouda K, Takeuchi H, и сарадници. 8-Hydroxydeoxyguanosine in Urine As an Index of Oxidative Damage to DNA in the Evaluation of Atopic Dermatitis. *Br J Dermatol* 1998; 138: 1033-1035.

[45] Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol* 2013; 51: 15-25.

[46] Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superoxide dismutase-applications and relevance to human diseases. *Med Sci Monit* 2002; 8: RA210-RA215.

- [47] Diaz-Vivancos P, de Simone A, Kiddle G, Foyer CH. Glutathione--linking cell proliferation to oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2015; 89: 1154-1164.
- [48] Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 620-650.
- [49] Yun-Zhong F, Sheng Y, Guoyao W. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872-879.
- [50] Schieber M, Chandel NS. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr Biol: CB*. 2014; 24: R453-R462.
- [51] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J* 2012; 5: 9-19.
- [52] Rahman T, Hosen I, Islam TMM, Shekhar HU. Oxidative stress and human health. *Adv Biosci Biotechnol* 2012; 3: 997-1019.
- [53] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
- [54] Ho E, Karimi Galoughi K, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol* 2013; 1: 483-491.
- [55] Jeroen F, Paul GW, Neven Z, и сарадници. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2015; 23: 1144-1170.

[56] Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, и сарадници. Proteins as biomarkers of oxidative/ nitrosative stress in diseases: the contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom Rev* 2005; 24: 55-99.

[57] Porter NA, Caldwell SE, Mills KA. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 1995; 30: 277-290.

[58] Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, и сарадници. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23-38.

[59] Hansen RE, Roth D, Winther JR. Quantifying the global cellular thiol-disulfide status. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 422-427.

[60] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-1111.

[61] Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277-285.

[62] Deja S, Dawiskiba T, Balcerzak W, и сарадници. Follicular Adenomas Exhibit a Unique Metabolic Profile. ¹H NMR Studies of Thyroid Lesions. *PLoS ONE* 2013; 8: e84637.

[63] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254.

[64] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.

[65] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, и сарадници. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1304-1313.

[66] Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.

[67] Sun M, Zigman S. Determination of superoxide dismutase in erythrocytes using the method of adrenaline autooxidation. *Anal Biochem* 1978; 90:81-89.

[68] Roland FB, Irwin WS. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem* 1952; 195:133-140.

[69] Wendel A. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1981; 77:325-333.

[70] Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol* 1985; 113:484-490.

[71] Livolsi VA, Albores-Saavedra J, Asa SL, и сарадници. Papillary carcinoma. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. WHO classification of tumours, pathology & genetics: Tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004. 57-66.

[72] Rosai J, Tallini G. Thyroid gland. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 10th ed. New York: Mosby Elsevier 2011: 487-564.

[73] Boerner SL, Asa SL. Biopsy interpretation series: Biopsy interpretation of the thyroid. Epstein JI. Philadelphia: Wolter Kluver /Lippincott Williams &Wilkins. 2009.

[74] Han JM, Kim TY, Jeon MJ, и сарадници. Obesity is a risk factor for thyroid cancer in a large, ultrasonographically screened population. *Eur J Endocrinol* 2013; 168: 879-886.

- [75] Busaidy NL, Cabanillas ME. Differentiated thyroid cancer: management of patients with radioiodine nonresponsive disease. *J Thyroid Res* 2012; 2012: 618985.
- [76] Sipos JA, Shah MH. Thyroid cancer: emerging role for targeted therapies. *Therapeutic Adv Med Oncol* 2010; 2: 3-16.
- [77] Nikiforov YE. Molecular analysis of thyroid tumors. *Mod Pathol* 2011; 24: S34-S43.
- [78] Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 184-199.
- [79] Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, и сарадници. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 2013; 499: 214-218.
- [80] Costa V, Esposito R, Pallante P, Ciccodicola A, Fusco A. The "next-generation" knowledge of papillary thyroid carcinoma. *Cell Cycle* 2015; 14: 2018-2021.
- [81] Melis JP, Kuiper RV, Zwart E, и сарадници. Slow accumulation of mutations in Xpc-/- mice upon induction of oxidative stress. *DNA Repair (Amst)* 2013; 12: 1081-1086.
- [82] Cross CE, Halliwell B, Borish ET, и сарадници. Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
- [83] Basen-Engquist K, Chang M. Obesity and Cancer Risk: Recent Review and Evidence. *Curr Oncol Rep* 2011; 13: 71-76.
- [84] Kwon H, Kim M, Choi YM, и сарадници. Lack of associations between body mass index and clinical outcomes in patients with papillary thyroid carcinoma. *Endocrinol Metab (Seoul)* 2014; 29: e54.

[85] Wu X, Lun Y, Jiang H, Gang Q, Xin S, Duan Z, Zhang J. Coexistence of thyroglobulin antibodies and thyroid peroxidase antibodies correlates with elevated thyroid-stimulating hormone level and advanced tumor stage of papillary thyroid cancer. *Endocrine* 2014; 46: 554-560.

[86] Wong SL, Grodski S, Yeung MJ, Serpell JW. Anti-thyroid antibodies as a predictor of thyroid cancer. *ANZ J Surg* 2015; 85: 849-853.

[87] Coelho SM, Buescu A, Corbo R, Carvalho DP, Vaisman M. Recurrence of papillary thyroid cancer suspected by high anti-thyroglobulin antibody levels and detection of peripheral blood thyroglobulin mRNA. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008; 52: 1321-1325.

[88] Ehlers M, Schott M. Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid cancer: are they immunologically linked? *Trends Endocrinol Metab* 2014; 25: 656-664.

[89] Girardi FM, Barra MB, Zettler CG. Variants of papillary thyroid carcinoma: association with histopathological prognostic factors. *Braz J Otorhinolaryngol* 2013; 79: 738-744.

[90] Chrisoulidou A, Boudina M, Tzemailas A, и сарадници. Histological subtype is the most important determinant of survival in metastatic papillary thyroid cancer. *Thyroid Res* 2011; 4: 12.

[91] Cao J, Hu JL, Chen C, и сарадници. Vascular invasion is an independent prognostic factor for distant recurrence-free survival in papillary thyroid carcinoma: a matched-case comparative study. *J Clin Pathol* 2016; 69: 872-877.

[92] Park JS, Son KR, Na DG, Kim E, Kim S. Performance of preoperative sonographic staging of papillary thyroid carcinoma based on the sixth edition of the AJCC/UICC TNM classification system. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 66-72.

- [93] Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, и сарадници. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the US, 1985-1995. *Cancer* 1998; 83: 2638-2648.
- [94] Larsen PR, Davies TF, Hay ID. The thyroid gland. Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, и сарадници. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9th ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders. 1998: 389- 515.
- [95] Dean DS, Hay ID. Prognostic indicators in differentiated thyroid carcinoma. *Cancer Control* 2000; 7: 229-239.
- [96] Lang BH-H, Chow S-M, Lo C-Y, Law SCK, Lam K-Y. Staging Systems for Papillary Thyroid Carcinoma: A Study of 2 Tertiary Referral Centers. *Ann Surg* 2007; 246: 114-121.
- [97] Furlan JC, Bedard YC, Rosen IB. Significance of tumor capsular invasion in well-differentiated thyroid carcinomas. *Am Surg* 2007; 73: 484-491.
- [98] Chen H, Izevbaye I, Chen F, Weinstein B. Recent Advances in Follicular Variant of Papillary Thyroid Carcinoma. *N A J Med Sci* 2012; 5: 212-216.
- [99] Kawaura M, Pathak I, Gullane PJ, и сарадници. Multicentricity in papillary thyroid carcinoma: analysis of predictive factors. *J Otolaryngol* 2001; 30: 102-105.
- [100] Pitt SC, Sippel RS, Chen H. Contralateral papillary thyroid cancer: Does size matter? *Am J Surg* 2009; 197: 342-347.
- [101] Poncin S, Colin IM, Gerard AC. Minimal oxidative load: a prerequisite for thyroid cell function. *J Endocrinol* 2009; 201: 161-167.
- [102] Karbownik-Lewińska M, Kokoszko-Bilska A. Oxidative damage to macromolecules in the thyroid - experimental evidence. *Thyroid Res* 2012; 5: 25.

- [103] Balcerczyk A, Bartosz G. Thiols are main determinants of total antioxidant capacity of cellular homogenates. *Free Radic Res* 2003; 37: 537-541.
- [104] Stanley JA, Neelamohan R, Suthagar E, и сарадници. Lipid peroxidation and antioxidants status in human malignant and non-malignant thyroid tumours. *Hum Exp Toxicol* 2016; 35: 585-597.
- [105] Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 2010; 4: 118-126.
- [106] Robbins D, Zhao Y. Manganese Superoxide Dismutase in Cancer Prevention. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20: 1628-1645.
- [107] Sajid-Crockett S, Hershman J. Thyroid Nodules and Cancer in the Elderly. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, и сарадници. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278969/>
- [108] Poncin S, Van Eeckoudt S, Humblet K, Colin IM, Gérard A-C. Oxidative Stress: A Required Condition for Thyroid Cell Proliferation. *Am J Pathol* 2010; 176: 1355-1363.
- [109] Pani G, Galeotti T, Chiarugi P. Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 351-378.
- [110] Deleonardi G, Biondi A, D'Aurelio M, и сарадници. Plasma membrane oxidoreductase activity in cultured cells in relation to mitochondrial function and oxidative stress. *Biofactors* 2004; 20: 251-258.
- [111] Young O, Crotty T, O'Connell R, O'Sullivan J, Curran AJ. Levels of oxidative damage and lipid peroxidation in thyroid neoplasia. *Head Neck* 2010; 32: 750-756.

[112] Ziros PG, Manolakou SD, Habeos IG, и сарадници. Nrf2 is commonly activated in papillary thyroid carcinoma, and it controls antioxidant transcriptional responses and viability of cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E1422-E1427.

[113] Tabur S, Aksoy ŞN, Korkmaz H, Ozkaya M, Aksoy N, Akarsu E. Investigation of the role of 8-OHdG and oxidative stress in papillary thyroid carcinoma. *Tumour Biol* 2015; 36: 2667-2674.

[114] Rovcanin BR, Gopcevic KR, Kekic DLj, Zivaljevic VR, Diklic ADj, Paunovic IR. Papillary Thyroid Carcinoma: A Malignant Tumor with Increased Antioxidant Defense Capacity. *Tohoku J Exp Med* 2016; 240: 101-111.

[115] Nadol'nik LI, Grivachevskiĭ AS, Petushok NE, Khomich TI, Vinogradov VV. Antioxidant system activities and lipid peroxidation in nodal and non-nodal thyroid tissue of patients operated in connection with euthyroid nodular goiter. *Biomed Khim* 2006; 52: 403-412.

БИОГРАФИЈА АУТОРА

Бранислав Ровчанин, рођен је у Београду 18. новембра 1986. године од мајке Соње и оца Радојице Ровчанина. Основну школу и гимназију је завршио у Београду. Медицински факултет уписао је 2005. године, као буџетски студент, а дипломирао 2011. године са просечном оценом 8.92. Исте године уписује докторске академске студије из Молекуларне медицине на Медицинском факултету у Београду. Од 2012. до 2015. године је био запослен на Институту за хуману генетику Медицинског факултета у Београду, прво као сарадник у настави, а потом и као асистент, где је водио наставу из хумане генетике на српском и енглеском језику, студентима основних и постдипломских студија. Уписује 2012. године специјалистичке студије из генетике на Биолошком факултету у Београду, а звање специјалисте биологије у области генетике стиче 2014. године, када је одбранио завршни специјалистички рад и дипломирао са просечном оценом 10. Од 2015. године ради у Центру за ендокрину хирургију КЦС, прво као клинички лекар, а потом као специјализант опште хирургије. На завршетку основног школовања добио је две специјалне дипломе за изузетне резултате остварене из хемије и физике. Током гимназијских дана освојио је велики број диплома за неко од прва три места на градским и републичким такмичењима из биологије, а на крају средњег школовања постао први лауреат Специјалне Награде гимназије "Свети Сава" за допринос развоју школе. Био је полазник, а касније и предавач у Истраживачкој Станици Петници на програму из биологије. Од Скупштине града Београда 2005. године добија специјалну Повељу за изузетне резултате остварене у науци. Током основних студија медицине, био је демонстратор на предметима Хумана генетика и Медицинска биохемија са хемијом, као и један од модератора на Ретикулум програму из Хумане генетике. Био је један од оснивача Студентске Секције за Неуронауке, Друштва за неуронауке Србије и током четири године председник Скупштине Секције. За учешће на домаћим и међународним Конгресима студената биомедицинских наука, освојио је пет пута прву награду за најбољи рад у сесији. За целокупне резултате у досадашњој каријери, од Фондације "Никола Тесла" је 2017. године добио Теслину Награду за стваралаштво. Из области молекуларне биологије, биохемије, микробиологије и физиологије биљака усавршавао се у бројним лабораторијама на Медицинском,

Биолошком и Хемијском факултету. Током 2016. године је боравио на усавршавању у Меморијал Слоун Кетеринг Центру за Рак у Њујорку и у Националном Институту за Рак у Бетезди, САД. Аутор је више од 50 радова који су публиковани или презентовани на стручним састанцима у земљи и иностранству, од којих је 20 индексирано. Учествовао је и као коаутор у две књиге. Рецензент је у више страних часописа из области биомедицине. Члан је Српског лекарског друштва, Српског биолошког друштва, Српског хемијског друштва, Астрономског друштва "Руђер Бошковић", Светске асоцијације младих научника и Америчког удружења за микробиологију. Говори енглески, руски и француски језик.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани: Бранислав Ровчанин

Број уписа: ММ-08/11

Изјављујем

да је докторска дисертација по насловом

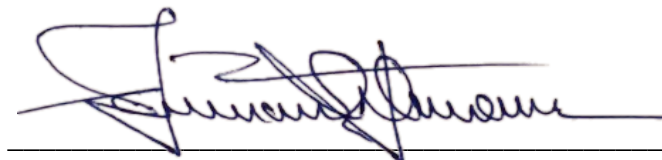
Анализа оксидативног стреса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде

- 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 ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду,

10.4.2017.

Потпис докторанда



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Бранислав Ровчанин

Број уписа: ММ-08/11

Студијски програм: Молекуларна медицина

Наслов рада: Анализа оксидативног стреса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде

Ментор: Проф. Др Иван Пауновић

Коментор: Проф. Др Кристина Гопчевић

Потписани: Бранислав Ровчанин

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

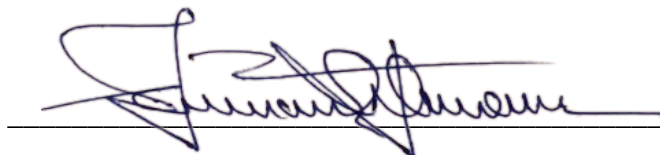
Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

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

У Београду,

10.4.2017.

Потпис докторанда

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Branislav Rovic', is written over a horizontal line.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Анализа оксидативног стреса у ткиву папиларног карцинома штитасте жлезде

која је моје ауторско дело.

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

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

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

У Београду,

10.4.2017.

Потпис докторанда

