

Eksenatid Tedavisinde Tiroid İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi ve Kalsitonin Yıkamanın Yeri ***Role of Thyroid Fine Needle Aspiration Biopsy and Calcitonin Wash-Out During Exenatide Therapy***

Bengür Taşkiran, Güven Barış Cansu
Yunus Emre Devlet Hastanesi, Endokrinoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

Öz: Tiroid kanseri riski ve GLP-1 analogları arasındaki ilişkinin net olmaması nedeniyle bu hastalarda tiroid nodüllerine nasıl yaklaşılacağı konusu açık değildir. Bu çalışmada eksenatid kullanan tip 2 DM'li hastalarda tiroid hastalığı varlığı, nodül gelişimi ve tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisinde kalsitonin yıkama sonuçlarının gözden geçirilmesi amaçlandı. 2011-2014 yılları arasında günde 2 defa 5-10 mcg eksenatid subkutan kullanan ve öncesinde bilinen tiroid kanseri öyküsü bulunmayan hastaların tıbbi verileri geriye dönük incelendi. Ultrason, tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi, serum kalsitonin düzeyleri ve biyopsi sırasında kalsitonin yıkama yapılmış olan, ortalama yaşı 53.88 ± 8.77 , 66'sı kadın olan toplam 77 tip 2 DM'li hasta çalışmaya dahil edildi. Ultrasonda kuşkulu özelliği olan (mikrokalsifikasyon, sınır düzensizliği, artmış nodüler kanlanma) nodüllerden ve ≥ 1 cm nodüllerden 22 gauge kalınlığında iğne ucu takılı 10 cc.lik enjektörler yardımıyla örnekleme yapıldı. Örnekler lamlara yayıldıktan sonra iğnenin hubında kalan materyal 1 cc izotonikle yıkanarak ependorflara konan yıkama örneklerinde ve serumda kalsitonin düzeyleri kemiluminisan immün assay (CLIA) yöntemiyle ölçüldü. Genel hasta popülasyonunda 1-24 ay olan eksenatid kullanım süresi boyunca yapılmış olan serum kalsitonin ölçümleri bir hasta dışında normaldi. Bazal ölçümü bulunmayan, ilk kez tedavinin 5. ayında yapılan serum kalsitonin ölçümü 482 pg/ml çıkan bu hastaya medüller tiroid kanseri öntanısı ile biyopsi ve operasyon planlanırken takipten kayboldu. Yirmidört hastadan toplam 32 adet ince iğne aspirasyon biyopsisi yapıldı (22 benin, 4 tanısal olmayan, 3 Hürthle hücreli lezyon, 1 önemi bilinmeyen atipi, 1 papiller tiroid kanseri kuşkulu, 1 sonuç kayıp). Operasyona yönlendirilen vakaların 3'ünde mikro papiller tiroid kanseri saptandı. Hiç birinde medüller tiroid kanseri veya C hücre hiperplazisi belirlenmedi. Biyopsi yıkama sıvılarında kalsitonin ölçümü normaldi. Tip 2 DM hastalarında kısa-orta vadede eksenatid kullanımında medüller tiroid kanseri ve C hücre hiperplazisi yoktur. Eksenatid-tiroid kanseri ilişkisi muğlak olduğundan eksenatid tedavisi öncesi hastalara ultrason yapılarak standart nodüllere yaklaşım ile değerlendirilmesinin uygun olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: eksenatid, ince iğne aspirasyon biyopsisi, kalsitonin, tiroid kanseri.

Taşkiran B. Cansu Güven Barış (2017). Eksenatid tedavisinde tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi ve kalsitonin yıkamanın yeri, *Osmangazi Tıp Dergisi*, 39(2):40-44. DOI: 10.20515/otd.308303.

Abstract: Management of thyroid nodules during exenatide therapy is not settled because of inconsistent data about relation between thyroid cancer and GLP-1 analogues. In this study we aimed to evaluate thyroid disease, nodule formation, and calcitonin wash-out of fine needle aspiration biopsy samples in patients with type 2 DM. Data of patients treated with exenatide 5-10 mcg bid for type 2 DM between 2010 to 2014 were retrospectively evaluated. There was no history of thyroid cancer prior to therapy. Seventy seven patients (66 female, 11 male) aged 53.88 ± 8.77 years with documented ultrasound, thyroid fine needle aspiration biopsy, serum calcitonin, and calcitonin in wash-out fluid of biopsy results were included to the study. Fine needle aspiration biopsy was performed in patients having nodules ≥ 1 cm in size and/or nodules with suspicious features (microcalcification, irregular border, increased vascularity in nodules). Twenty-two gauged needles attached to 10 cc syringes were used for sampling. After smearing, the needle hub is washed with 1 cc saline. Both serum and wash-out samples were studied for calcitonin using chemiluminescence assay (CLIA). During 1-24 months of therapy serum calcitonin measurements were all normal except in one patient. The patient had no calcitonin measurement and family and personal history of medullary thyroid cancer prior to therapy. At the 5th month of therapy serum calcitonin was measured and found 482 pg/ml. While we were scheduling biopsy and thyroidectomy for a suspicious medullary thyroid cancer, the patient had a traffic accident and was lost for follow-up. Twenty-four patients had 32 fine needle biopsy in total (22 benign, 4 nondiagnostic, 3 Hürthle cell lesion, 1 atypia of unknown significance, 1 suspicious for papillary thyroid cancer, 1 missing result). Three had micro papillary thyroid cancer among those were referred to surgery. None of the patients who underwent biopsy and/or surgery had medullary thyroid cancer and C cell hyperplasia. Calcitonin in wash-out fluid of biopsies were normal. Medullary thyroid cancer and C cell hyperplasia are not evident in short-midterm exenatide therapy in type 2 DM. Since exenatide-thyroid cancer relation has not settled yet, we suggest a baseline ultrasound examination prior to exenatide therapy and manage in a same manner as standard approach.

Keywords: exenatide, fine needle aspiration biopsy, calcitonin, thyroid cancer

Taşkiran B., Cansu G. B. (2017). Role of thyroid fine needle aspiration biopsy and calcitonin wash-out during exenatide therapy, *Osmangazi Journal of Medicine*, 39 (2):40-44. DOI: 10.20515/otd.308303.

1.Giriş

Glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) analogu olan eksenatid, tip 2 diabetes mellitus (DM) hastalarında gastrik boşalmayı yavaşlatan, iştahı baskılayan, pankreastan glukagon çıkışını azaltan ve pankreastan insülin salınımını glukoz düzeyine bağımlı olarak arttıran enjeksiyon yoluyla kullanılan bir antidiyabetik ilaçtır (1, 2). Advers etki bildirim sisteminde eksenatid kullanan kişilerde 4.73 kat daha fazla tiroid kanseri bildirilmiştir (3). İnsanlarda eksenatid kullanımı ve medüller tiroid kanseri (MTK) gelişimi arasında ilişki gösterilememiştir. Bilinen MTK ve ailede multipl endokrin neoplazi (MEN) öyküsü bulunanlarda kullanılmaması önerilirken, nodüler tiroid hastalığına yaklaşımın standart yaklaşımla aynı olup olmayacağı konusu açık değildir. Genel popülasyonda palpabl nodül sıklığı %5 civarında iken yüksek çözünürlüklü USG ile yapılan çalışmalarda bu rakam, kadın ve yaşlılarda %19-68'e ulaşmaktadır (4). Tüm tiroid kanserlerinde erken tanı için güvenilir ve yaygın uygulanan bir yöntem olan ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) yapılması önerilmektedir (4).

Özellikle küçük ve non-metastatik MTK'da serum bazal kalsitonin (Ct) düzeylerinin tanısal düzeylere yükselmemesi ve C hücre hiperplazisi (CHH) ile mikro MTK'nın klinik öneminin bilinmemesi nedeniyle rutin bazal Ct ölçümü konusunda net bir öneri yoktur (4). Pentagastrinle uyarılmış serum Ct düzeyi ile duyarlılık artsa da tüm dünyada ilacın ulaşılabilirliği azdır. Bazal serum Ct değerinin 100 pg/ml üzeri olması %100 öngörücü kesim değeridir (5). Ancak bu düzeylere ulaşmayan vakalarda ve MTK olgularında lokal nüksleri ve lenf nodu metastazlarını belirlemede Ct yıkama etkili bir yöntemdir (5-7).

Bu çalışmada tip 2 DM hastalarında eksenatid kullanımı sırasında MTK, CHH, diferansiye tiroid kanseri ve nodül gelişimi ile İİAB eşliğinde Ct yıkama sonuçlarının değerlendirilmesini amaçladık.

2. Gereç ve Yöntemler

2011-2014 yılları arasında eksenatid kullanan hastaların verileri tıbbi kayıtlardan geriye dönük olarak incelendi. Çalışma gözlemsel ve tanımlayıcı olarak tasarlandı. Eksenatid kullanımından önce bilinen tiroid kanseri, pankreatit ve MEN öyküsü bulunmayan

hastalar incelendi. Bunlar arasından eksenatid tedavisi öncesinde veya sırasında serum Ct düzeyi ölçülmüş olanlar çalışmaya dahil edildi. Buna göre vücut kitle indeksi (VKİ) 35 kg/m² ve üzeri olan tip 2 DM tanısı bulunan 66 (%85) kadın ve 11 erkek (%15) hastanın verileri incelendi. Hastalar ilk bir ay günde iki kere 5 mcg, daha sonra günde iki kere 10 mcg eksenatid almaktaydı. Doz artışını tolere edemeyen hastalarda başlangıç dozuna geri dönüldü.

Hastaların eksenatid başlanmadan önceki ve sonraki mevcut Ct ölçümleri değerlendirildi. Serum Ct değerleri alınan kan örneklerinde kemiluminisan immün assay (CLIA) yöntemiyle çalışıldı.

Daha önce bilinen tiroid hastalığı öyküsünden bağımsız olarak takip ultrasonlarında kuşku özelliği olan (mikrokalsifikasyon, sınır düzensizliği, artmış nodüler kanlanma) nodüllere ve ≥ 1 cm nodüllere İİAB yapıldı. 22 gauge kalınlığında iğne ucu takılı 10 cc.lik enjektörler yardımıyla en az 6 geçiş yapılarak negatif basınç uygulanarak nodüller örneklendi. Alınan örnekler lamlara yayıldıktan sonra iğnenin hubunda kalan materyal 1cc izotonikle yıkanarak ependorflara konuldu. Bu yıkama örneklerinde de serum örneklerine benzer şekilde CLIA yöntemiyle Ct düzeyleri ölçüldü.

Eksenatid tedavisi sırasında kilogram cinsinden kilo değerinin, santimetre cinsinden boyun karesine bölünerek hesaplanmasıyla elde edilen VKİ ölçümleri kaydedildi.

Serum lipid profili, üre, kreatinin, sodyum, potasyum, alanin amino transferaz (ALT) ve hemoglobin A1c düzeyleri otoanalizör (Siemens, Advia 1800) kullanılarak fotometrik yöntemle ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma (ss) ve kategorik değişkenler ise frekans ve yüzde şeklinde gösterildi. Tanımlayıcı istatistikler için SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanıldı.

3. Bulgular

Yaş aralığı 31-76 olan 77 hastanın 52'sinde (%67.5) hipertansiyon, 5'inde (%6.5) bilinen

kalp hastalığı vardı. Hiçbir hastada serebrovasküler olay öyküsü yoktu. Yirmidört (%31.2) hastada tiroid hormon disfonksiyonu ve/veya nodül olarak tanımlanan bilinen tiroid hastalığı vardı. Eksenatid öncesi bir kişi total tiroidektomi geçirmişti ve patolojisi benign olarak değerlendirilmişti. Anti TPO değeri bulunan 68 hastanın 19'unda (%27.9) pozitiflik saptandı. Dokuz hasta (%11.7) sigara kullanmaktaydı.

Demografik, klinik ve laboratuvar veriler Tablo 1'de sunulmaktadır. Eksenatid kullanım süresi 1-24 ay idi. Hastaların %85'i (n=66) bulantı (n=9), amilaz artışı (n=1), İİAB sonucunda tiroid kanser kuşkusu (n=2), hemogloblin A1c değerinin hedef değerden yüksek olması (n=15, %19), başağrısı (n=1), kilo kaybettirici etkisinin olmaması nedeniyle hasta/hekim kararı (n=23, %29) ve hastanın enjektabl tedaviye devam etmek istememesi (n=15, %19) nedeniyle ilacı bıraktı.

Tedavi öncesi USG yapılan 45 hastanın 33'ünde (%42.9) nodül ve 9'unda (%11.7) sadece heterojen parankim belirlendi. Nodül belirlenen vakaların 14'ünde (%42.4) boyut ≥ 1 cm idi. Takip USG'si yapılan 56 hastanın 43'ünde (%55.8) nodül vardı. Vakaların 15'inde (%34) boyut ≥ 1 cm idi.

Bazal serum Ct ölçümü bulunan 43 hastanın tümünde Ct normal aralıktaydı. Hem başlangıç hem takipte serum Ct ölçümü bulunan 12 hastada anlamlı artış olmadı (2-5.7 pg/ml).

Operasyona gönderilen 3 hastada mikro papiller tiroid kanseri (PTK) saptandı. PTK tanısının konulduğu ana kadar geçen ortalama eksenatid tedavi süresi 5.5 ± 3.8 ay idi. Yapılan hiçbir İİAB sonucunda ve PTK patolojilerinde CHH saptanmadı. İmmünohistokimyasal çalışma yapılmadığından GLP-1 reseptör varlığı değerlendirilmedi. Yapılan 15 yıkama Ct değerleri normal bulundu (Tablo 1).

Eksenatid öncesi 3 ve tedavi sırasında 21 olmak üzere 24 (%31.2) hastaya toplam 32 biyopsi yapıldı. Biyopsi sonuçları Tablo 2'de sunulmaktadır.

Başlangıç serum Ct ölçümü bulunmayan bir hastada tedavinin 5. ayında serum Ct düzeyi 482 pg/ml olarak saptandı. Hastanın ultrasonunda en büyüğü sol lobda 23x13 mm ve sağ lobda 19x13 mm boyutunda olan multinodüler guatr saptandı. Hastaya total

tiroidektomi planlanırken geçirdiği trafik kazası ve fraktür sonrası takipten kayboldu. Eksenatid tedavisi öncesi serum Ct düzeyi ve İİAB değerlendirmesi olmadığı için artmış Ct düzeyi ve MTK gelişimi ile eksenatid tedavisi arasındaki ilinti ortaya konamadı.

4. Tartışma

In vitro sıçan ve farelerde eksenatid ile C hücrelerinde bulunan GLP-1 reseptörlerinin uyarılması sonucu Ct salınımı ve Ct gen ekspresyonu artar ve CHH gelişir (8,9). GLP-1 knock-out farelerde eksenatid ile Ct artışı gözlenmemiştir (2,8). In vitro insan TT C hücrelerinde ise GLP-1 reseptörleri azdır ve GLP-1'e fonksiyonel yanıt görülmemiştir (2,5,10). İnsan C hücre neoplazmalarının sadece %27'sinde GLP-1 reseptörü bulunmuştur (8). Normal tiroid glandında C hücre yoğunluğu açısından primatlar insan modeline daha yakındır (2,9).

GLP-1 reseptörü pozitifliği, Ct pozitifliği anlamına gelmez. PTK vakalarında GLP-1 pozitifliğinin saptanması, normal tiroid folikül hücrelerinde sunulmasa da aberan olarak PTK hücrelerinde GLP-1 sunulabileceğini akla getirmiştir (2,3,10). En sık görülen tiroid kanseri tipi olan PTK'daki reseptör pozitifliğinin GLP-1 analog tedavisi alan kişilerde ne anlama geleceği henüz bilinmemektedir. Bizim vakalarımızda GLP-1 için immünohistokimyasal boyama yapılmadığından bu konuda ek bir yorum getirmek mümkün değildir.

Sporadik CHH raslantısal olarak foliküler kökenli tiroid tümörleri komşuluğunda, yaşlanmayla birlikte ve kronik otoimmün tiroidit zemininde de görülebilir (11). GLP-1 analog tedavisi verildiğinde Ct yükselmesi ile karakterize sporadik CHH gelişip gelişmeyeceği ve bunun ne anlama geleceği belli değildir. Antikor pozitifliği ve otoimmün tiroidit zemini bulunan vakalarımızda CHH gözlenmemiştir.

Serum Ct ölçümleri, tiroid USG izlemleri, İİAB Ct yıkamaları kısa vadeli izlemde eksenatidin güvenilir olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte USG'si 5. ayda yapılan ve Ct değeri 482 pg/ml olan bir hastanın gözlenmesi, eksenatid başlanacak hastaların en azından tedavi başlangıcında USG'lerinin yapılarak nodüllerin tiroid kanseri açısından incelenmesinin uygun olacağını düşündürmektedir. Bu hastada bazal

Ct ve İİAB sonuçları olmadığı için eksenatide maruziyetle ilintisi net olarak ortaya konulamamaktadır.

Çalışmanın gözlemsel tanımlayıcı tasarımı kısıtlılık oluşturmaktadır. İzlem süresi, 104 haftaya kadar uzayan in vivo ve in vitro çalışmalara göre kısadır. Ancak kemirgen

çalışmalarında tek doz eksenatid uygulaması ardından ilk 36 saatte dahi Ct düzeyinin artıyor olması, bu artışın eksenatidin sürekli infüzyonunda tek doz infüzyona göre liraglutidinkine benzer şekilde daha belirgin olması erken evrede dahi GLP-1 analog uygulamasının önemli olabileceği tezine gerekçe oluşturmaktadır.

Tablo1.

Eksenatid tedavisi alan tip 2 DM'lu hastaların demografik, klinik ve laboratuvar verileri.

Değişkenler	n	ortalama ± ss
Yaş (yıl)	77	53.88±8.77
DM süresi (yıl)	73	7.2±5.0
Eksenatid tedavi süresi (ay)	77	7.77±5.84
Eksenatid-ca arası süre (ay)*	4	5.5±3.87
Başlangıç kilosu (kg)	76	102.2±13.6
İzlemdeki kilo kaybı (kg)	74	6.7±5.7
Başlangıç VKİ (kg/m ²)	77	41.45±4.94
İzlemdeki VKİ (kg/m ²)	74	40.69±4.95
VKİ azalması (kg/m ²)	74	2.68±2.46
Başlangıç serum Ct (pg/ml)	43	2.26±0.66
İzlemdeki serum Ct (pg/ml) [§]	66	2.28±0.62
Başlangıç Ct yıkama (pg/ml)	21	2.47±1.21
İzlemdeki Ct yıkama (pg/ml)	16	2.94±2.43
TSH (IU/ml)	76	2.28±1.53
Anti TPO	68	206±412
Başlangıç glukoz (mg/dl)	69	146±44
Başlangıç Hemoglobin A1c (%)	77	8.21±1.46
İzlemdeki Hemoglobin A1c (%)	59	7.45±1.13
Hemoglobin A1c'de düşme (%)	59	0.73±1.40
Başlangıç LDL (mg/dl)	64	116±30
Başlangıç HDL (mg/dl)	63	48±9
Başlangıç trigliserid (mg/dl)	65	170±72
Başlangıç amilaz (IU/ml)	29	47±16
İzlemdeki amilaz (IU/ml)	76	61±28
Başlangıç kreatinin (mg/dl)	74	0.75±0.18
İzlemdeki kreatinin (mg/dl)	75	0.86±0.21

* 3 papiller tiroid kanseri ve patolojik tanısı olmayan ancak serum kalsitonin ölçümü ≥ 100 pg/ml olması nedeniyle tanısal kabul ettiğimiz medüller tiroid kanseri vakası.

[§] İİAB ve operasyon öncesi takipten kaybolan ilk kez 5. ayda serum kalsitonin ölçümü (482 pg/ml) yapılan indeks vaka, ortalamayı saptıracak aşırı uçta tek vaka olduğundan çıkarılarak ortalama hesaplandı.

Tablo 2.

Eksenatid tedavisi öncesinde ve sırasında toplam 24 hastaya yapılan 32 tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisine ait sitoloji sonuçları.

Patoloji	Biyopsi sayısı
Benign	22
Tanısal olmayan	4
Hürthle hücreli	3
Önemi bilinmeyen atipi	1
PTK için kuşkulu	1
Biyopsi sonucu kayıp	1

5. Sonuç

Eksenatid kullanan hastalardan tiroide nodülü bulunanların yönetimi, standart nodüle yaklaşıma uygun şekilde yapılmıştır (4,5). Eksenatid alan hastalarda nodül varlığı koşulu aranmaksızın tiroide C hücrelerinin fizyolojik olarak yoğun olarak bulunduğu alanlardan Ct yıkama yapılması durumunda,

eksenatid ile C hücre hiperplazisi arasındaki ilişki, ekstenatidin Ct düzeylerine muhtemel etkisi ve ekstenatid kullananlarda MTK gelişimine dair daha fazla bilgiye ulaşılabilir. Mevcut bulgular ışığında rutin Ct ölçümünün yeri olmadığını ve ekstenatid kullanan hastalarda tiroid USG yapılmasının faydalı olacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al. (2012). Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*, 55(6), 1577-1596.
2. Rosol TJ. (2013). On-target effects of GLP-1 receptor agonists on thyroid C-cells in rats and mice. *Toxicol Pathol*, 41(2), 303-309.
3. Elashoff M, Matveyenko AV, Gier B, et al. (2011). Pancreatitis, pancreatic, and thyroid cancer with glucagon-like peptide-1-based therapies. *Gastroenterology*, 141(1),150-156.
4. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, Pacini F, Randolph GW, Sawka AM, Schlumberger M, Schuff KG, Sherman SI, Sosa JA, Steward DL, Tuttle RM, Wartofsky L. (2016). 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*, 26(1),1-133.
5. American Thyroid Association Guidelines Task Force, et al. (2009). Medullary thyroid cancer: Management guidelines of the American Thyroid Association. *Thyroid*, 19(6), 565-612.
6. Diazzi C, Madeo B, Taliani E, Zirilli L, Romano S, Granata AR, De Santis MC, Simoni M, Cioni K, Carani C, Rochira V. (2013). The diagnostic value of calcitonin measurement in wash-out fluid from fine-needle aspiration of thyroid nodules in the diagnosis of medullary thyroid cancer. *EndocrPract*, 19(5),769-779.
7. Boi F, Maurelli I, Pinna G, Atzeni F, Piga M, Lai ML, Mariotti S. (2007). Calcitonin measurement in wash-out fluid from fine needle aspiration of neck masses in patients with primary and metastatic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 92(6), 2115-2118.
8. Knudsen LB, Madsen LW, Andersen S et al. (2010). Glucagon like peptide-1 receptor agonists activate rodent thyroid Ccells causing calcitonin release and C-cell proliferation. *Endocrinology*,151(4), 1473-1486.
9. Chiu WY, Shih SR, Tseng CH. (2012). A review on the association between glucagon-like peptide-1 receptor agonists and thyroid cancer. *Exp Diabetes Res*, 2012:924168.
10. Madsen LW, Knauf JA, Gotfredsen C, Pilling A, Sjögren I, Andersen S, Andersen L, de Boer AS, Manova K, Barlas A, Vundavalli S, Nyborg NC, Knudsen LB, Moelck AM, Fagin JA. (2012). GLP-1 receptor agonists and the thyroid: C-cell effects in mice are mediated via the GLP-1 receptor and not associated with RET activation. *Endocrinology*, 153(3), 1538-1547.
11. Gier B, Butler PC, Lai CK, et al. (2012). Glucagon like peptide-1 receptor expression in the human thyroid gland. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(1), 121-131.