



Università degli Studi del Molise Campobasso

Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute
“Vincenzo Tiberio”

Tesi di Dottorato in “Scienze per la Salute”

Ciclo XXVII
Settore Scientifico Disciplinare: MED/36

Applicazioni cliniche del *B-flow twinkling sign* nello studio del carcinoma papillifero della tiroide (PTC)

Candidato: Dott. Gabriele Antinolfi
Matr. 146086

Relatore:
Chiar.mo Prof.
Luca Brunese

Coordinatore del Corso:
Chiar.mo Prof.
G. M. Grasso

Anno Accademico 2013/2014

INDICE

1. Introduzione	3
2. Obiettivi	8
3. Materiali	8
4. Metodi	9
5. Risultati	11
5a) Citologia e istologia	11
5b) Ecografia <i>B-mode</i>, <i>color Doppler</i> e <i>B-Flow</i>	12
6. Discussione	15
7. Conclusioni	22
 BIBLIOGRAFIA	 26

1. Introduzione.

La ricerca condotta ha avuto per oggetto la patologia nodulare tiroidea, ed in particolare la più frequente neoplasia della tiroide, il carcinoma papillifero (PTC).

Il nodulo tiroideo rappresenta una delle più comuni evenienze in corso di esame ecografico del collo, costituendo spesso un reperto assolutamente occasionale. In realtà si tratta di una patologia particolarmente frequente, con una prevalenza nella popolazione generale compresa tra il 20 ed il 50%; la prevalenza di malignità riportata in letteratura è compresa tra il 5 ed il 20%. (1,2,3)

Come pubblicato su JAMA nel 2014 (*“Current thyroid cancer trends in the United States”*), relativo alla popolazione statunitense, le neoplasie maligne a carico della tiroide rappresentano circa l’1% di tutti i tumori e risultano in costante aumento con circa 20000 nuovi casi/anno negli Stati Uniti, anche se la loro incidenza si è sostanzialmente stabilizzata negli ultimi cinque anni (4,5,6).

Tra le neoplasie maligne della tiroide, il carcinoma papillifero (PTC) rappresenta la forma largamente più comune (oltre l’80% dei tumori tiroidei), seguita dal carcinoma midollare (15-18%) ed infine dalle forme anaplastiche (2-5%). Il PTC è caratterizzato, fortunatamente, da un decorso indolente e da una bassa mortalità, ed è quindi associato, nella maggior parte dei casi, ad una lenta progressione e ad una bassa mortalità. Le cellule del PTC, inoltre, possiedono una particolare attitudine alla concentrazione dello Iodio e, di conseguenza, sono altamente suscettibili ad un efficace trattamento con Iodio radioattivo (¹³¹I) (7). Tuttavia, la capacità di

captare lo ^{131}I viene persa da circa 1/3 dei pazienti nel corso della malattia, il che implica un sensibile peggioramento della prognosi. Pertanto risulta di indiscutibile rilievo il ruolo della diagnostica per immagini, che può consentire d'identificare precocemente la neoplasia primitiva nonché le eventuali sedi di metastasi a distanza sia nella stadiazione che nel *follow-up* (8).

Tra le metodiche di *imaging* spicca, in particolare, il ruolo dell'ecografia, che si colloca come metodica diagnostica di scelta per lo studio della patologia nodulare tiroidea. L'ecografia, infatti, eseguita oggi con trasduttori di frequenza sempre più elevata, è in grado di identificare noduli di dimensioni intorno a 2 mm e, in particolare, di selezionare quei noduli che per dimensioni, caratteristiche morfologiche e vascolarizzazione vanno indirizzati all'esecuzione di ago aspirato sottile sotto guida ecografica (US-FNA), ormai accettato come il *gold-standard* per la diagnosi del carcinoma tiroideo (9,10).

La valutazione delle caratteristiche ecografiche è di estrema importanza nella selezione dei noduli da sottoporre ad approfondimento bioptico. Oggi, purtroppo, la tendenza di molte scuole, soprattutto d'oltreoceano, è di identificare un *cut-off* al di sotto del quale le formazioni nodulari debbano essere necessariamente rivalutate con biopsia (11,12). Tale *cut-off* si è progressivamente abbassato negli ultimi dieci anni, passando, secondo molti autori, da 10 mm fino addirittura a 5 mm. In realtà la riduzione delle dimensioni dei noduli sottoposti a biopsia ha determinato un progressivo ed importante aumento della percentuale di inadeguatezza del prelievo, senza sottovalutare i rischi legati a risultati falsamente negativi. In questo senso va sottolineato che l'utilizzo dell'ecografia come

guida per la procedura bioptica è associato ad una significativa riduzione sia dei risultati inadeguati del prelievo, sia dei falsi negativi (13,14).

Quanto ai criteri ecografici potenzialmente predittivi di malignità, l'“*Ultrasound Consensus Conference Statement*” del 2005 ha indicato i seguenti parametri da esaminare:

- microcalcificazioni;
- margini irregolari;
- assenza di alone ipoecogeno periferico;
- struttura solida;
- vascolarizzazione intranodulare;
- ipoecogenicità.

Tra queste, particolarmente importante è la ricerca di microcalcificazioni la cui presenza, secondo la letteratura, determina un aumento di circa tre volte del rischio di malignità. Le microcalcificazioni rappresentano, quindi, il più specifico segno di PTC; tuttavia, la sensibilità di questo rilievo non supera, al massimo, il valore del 35% nelle varie casistiche, e quindi l'importanza clinica di questo segno, pur molto specifico, appare di ridotta portata a causa della sua bassa sensibilità (15,16,17).

Il *B-flow Imaging* (BFI) è una nuova tecnica d'*imaging*, che non si basa sul principio *Doppler* e che permette la diretta visualizzazione del flusso ematico in scala di grigi. Tale tecnica, presentando un'elevata

risoluzione spaziale, è spesso utilizzata per la valutazione delle stenosi carotidee e di altre patologie vascolari (18,19).

In fase di valutazione e caratterizzazione delle anomalie del microcircolo dei noduli sospetti è di recente emerso un nuovo segno ecografico che abbiamo denominato *B-flow twinkling sign* (BFI-TS), con caratteristiche simili al *color-Doppler TS*, apprezzabile nella litiasi renale ed ureterale, pubblicato per la prima volta dal nostro gruppo nel 2008 (*“Thyroid B-flow twinkling sign: a new feature of papillary cancer”* EJE, 2008) (20,21,22).

Il BFI-TS é caratterizzato da un piccolo e rapido scintillio generato da un oggetto solido non omogeneo e stazionario come le microcalcificazioni. Quando un’onda sonografica colpisce un tale bersaglio, disomogeneo, costituito da multiple interfacce, si genera un segnale irregolare, determinato dalla somma vettoriale delle onde generate da ciascuna interfaccia. Il *software* interpreta erroneamente questo come segnale di movimento, in realtà generato da un oggetto statico. La rappresentazione grafica di questo segno è un rapido scintillio osservabile posteriormente all’oggetto che l’ha generato (23,24).

Le microcalcificazioni tiroidee sono dovute alla progressiva aggregazione dei corpi psammomatosi primari (PBS), caratteristici e specifici di questo tipo di neoplasia; essi consistono di multiple formazioni proteiche lamellari, che possono essere più o meno calcificate, con elevato potere riflettente all’esame ultrasonografico (25,26,27).

I pazienti affetti da CPT, secondo le linee guida della società americana della tiroide (*American Thyroid Association, ATA*), vengono

solitamente sottoposti a tiroidectomia totale con dissezione centrale (VI stazione), ipsi o bilaterale.

L'estensione della linfadenectomia ai linfonodi laterocervicali (II-V stazione) viene praticata qualora vengano dimostrate metastasi linfonodali agli esami strumentali pre-operatori e/o durante l'intervento chirurgico.

L'ecografia attualmente viene considerata il *gold standard* tra le tecniche di *imaging* per lo studio delle linfadenopatie laterocervicali. Le caratteristiche ecografiche dei linfonodi metastatici, ampiamente codificate in letteratura, sono: forma rotondeggiante (rapporto asse breve-asse lungo >0.5), alterata ecogenicità, aree di degenerazione cistica e/o microcalcificazioni, perdita dell'ilo iperecogeno, vascolarizzazione prevalentemente periferica (28).

La conferma della malignità di un linfonodo sospetto all'esame ecografico (US) si basa sul FNA eco-guidato per la citologia e sulla determinazione della tireoglobulina nel liquido di lavaggio del cito-aspirato. Questo spiega la necessità di identificare specifici criteri di malignità, onde evitare esami invasivi con potenziale morbilità (29).

Poiché è stato ampiamente dimostrato in letteratura che le microcalcificazioni non solo sono presenti nei noduli tiroidei ma anche nei linfonodi metastatici dei pazienti affetti da CPT, scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'accuratezza diagnostica del BFI nell'individuazione delle metastasi linfonodali in tali pazienti. Abbiamo inoltre confrontato il BFI-TS con i principali segni ecografici valutando i risultati ottenuti alla luce del reperto istologico.

2. Obiettivi.

Obiettivo del nostro studio è stato di valutare mediante l'esame ecografico B-mode, integrato da analisi *color-Doppler* e *B-flow*, i pazienti affetti da PTC per la stadiazione pre-operatoria.

In questa prospettiva d'indagine, ci si è dedicati all'identificazione del BFI-TS nel nodulo in cui è stata posta diagnosi di PTC e negli eventuali altri noduli presenti nel restante parenchima ghiandolare. Il BFI-TS è stato ricercato anche nei linfonodi laterocervicali omolaterali e controlaterali alla lesione ghiandolare. Sono stati poi correlati i dati ottenuti con quelli dell'esame *B-mode* e *color-Doppler* e quelli riscontrati all'esame anatomopatologico dopo l'intervento di tiroidectomia e linfadenectomia.

3. Materiali.

Nel nostro studio, eseguito su pazienti provenienti dalla Regione Campania (Napoli, area metropolitana; Salerno e provincia; Benevento e Provincia, Avellino e provincia) e dalla Regione Molise (Campobasso e provincia, Isernia e provincia) tra Settembre 2010 e dicembre 2014, abbiamo arruolato 153 soggetti con noduli sospetti per effettuare US-FNA, sulla base dei criteri di selezione stabiliti nella suddetta *Consensus Statement*. Di questi pazienti, 37 (età: da 21 a 74 anni, età media: $42,2 \pm 9,3$ anni; 11 maschi e 26 femmine) presentavano positività per PTC e venivano sottoposti ad una valutazione ecografica preoperatoria del parenchima tiroideo e dei linfonodi laterocervicali (30).

Lo studio è stato condotto secondo i principi della Dichiarazione di

Helsinki. Tutti i soggetti hanno sottoscritto il consenso informato.

4. Metodi.

Gli esami US e US-BFI sono stati effettuati con apparecchiature *Philips IU22* e *GE Logiq 9* (*General Electric Società*, Milano, Italia), ecografi *real time* disponibili in commercio, dotato di trasduttori lineari da 9-14MHz e da 6-8MHz. Tutti gli esami sono stati eseguiti separatamente da due radiologi e l'analisi dei dati è stata effettuata da un altro operatore. Per ogni nodulo sono state analizzate le seguenti caratteristiche ecografiche:

- dimensione;
- ecogenicità;
- composizione del parenchima;
- margini;
- presenza o assenza di alone ipoecogeno periferico;
- comportamento eco- e power-Doppler;
- presenza o assenza di microcalcificazioni.

Per ogni nodulo sono state misurate le tre dimensioni ortogonali. L'ecogenicità di ogni nodulo è stata determinata confrontando la parte solida del nodulo con il parenchima tiroideo circostante e definito "iperecogeno" quando era più ecogeno, "isoecogeno" quando era simile, e "ipoecogeno" quando era meno ecogeno del tessuto tiroideo normale. Inoltre è stata valutata la presenza di *spots* iperecogeni, definiti cristalli di colloide, se accompagnati da coda di cometa posteriore, calcificazioni se accompagnati da cono d'ombra posteriore, ed infine definiti come

microcalcificazioni quando non presentavano nessuno dei precedenti.

Il BFI è stato effettuato con apparecchiatura *GE Logiq 9*, con sonde lineari da 10MHz (M12L) e 7MHz (7L) con il fuoco del BFI a livello del nodulo. L'indice di ripetizione dell'impulso (PRI) è stato fissato al valore 3. Il guadagno BFI non era fisso ed è stato adattato manualmente per consentire una migliore visualizzazione dei segnali. Abbiamo esaminato nelle immagini BFI la presenza, l'aspetto e l'intensità di BFI-TS. Per ogni nodulo abbiamo registrato il numero massimo di segnali ben differenziati nella singola scansione. Ogni esame ecografico è durato 15 min \pm 4.3 min, di cui 5 minuti dedicati alla ricerca del BFI-TS.

Per ogni linfonodo sono stati valutati all'esame tradizionale i seguenti parametri:

- dimensioni (diametro minimo e massimo in assiale e l'indice di rotondità);
- presenza di iperecogenicità ilare;
- presenza di componenti cistiche;
- presenza di microcalcificazioni;
- presenza di vascolarizzazione periferica.

All'esame con tecnica BFI è stata valutata la presenza dei BFI-TSs presenti all'interno del linfonodo in esame. La localizzazione dei linfonodi è stata effettuata secondo la segmentazione delle stazioni laterocervicali presente in letteratura (31). Sono stati esclusi dal nostro studio quei casi in cui erano presenti linfonodi eterogenei (sospetti e non) nella stessa stazione linfonodale, allo scopo di un'inequivocabile correlazione con il reperto anatomopatologico.

I pazienti positivi alla metodica tradizionale e/o ad il BFI-TS sono stati sottoposti a linfadenectomia laterocervicale omolaterale, gli altri a *follow-up* post-operatorio con dosaggio della tireoglobulina basale e dopo stimolo con TSH-ricombinante e valutazione ecografica delle stazioni laterocervicali. Infine, è stata eseguita l'analisi statistica dei risultati (32).

5. Risultati.

5a) Citologia e istologia.

La valutazione dei risultati è stata effettuata attraverso l'analisi dei prelievi citologici eseguiti in fase diagnostica e attraverso l'analisi degli esami istologici eseguita sui pezzi operatori (33).

Sono stati confrontati, nelle formazioni nodulari rilevate negli esami ecografici dei pazienti sospetti, i segni ecografici tradizionali con il BF TS, sia in riferimento ai noduli maligni che ai noduli benigni.

I 37 pazienti positivi al citoaspirato sono stati sottoposti a tiroidectomia totale. L'esame istologico ha mostrato la presenza di 138 formazioni nodulari, di cui 38 PTC e 100 noduli benigni. Solo in un caso erano presenti due noduli maligni nella stessa ghiandola (multifocalità 2.7%).

Dei 37 pazienti tiroidectomizzati, 10 (27.02%) presentano positività dei linfonodi laterocervicali omolaterali alla lesione primitiva. In tutti i pazienti sono stati asportati almeno i linfonodi della VI stazione (peritiroidea) con estensione ai laterocervicali nei casi di sospetto interessamento metastatico all'esame ecografico *B-mode* e BFI, per un totale di 99 linfonodi asportati, di cui 35 sono risultati maligni e 64 benigni.

5b) Ecografia *B-mode*, *color Doppler* e *B-Flow*.

Nella tabella 1 vengono confrontate specificità, sensibilità, valore predittivo positivo e negativo delle caratteristiche ecografiche convenzionali ed del BFI-TS nei noduli benigni e maligni.

2 PTC presentavano tra 1 e 3 BFI-TSs per scansione mentre 34 PTC presentavano quattro o più BFI-TSs per scansione. Dei 16 noduli con meno di 3 segni per scansione, 2 (12.5%) sono risultati PTC e 14 (87.5%) benigni. Dei 36 noduli con 4 o più segni per scansione, 34 (94.4%) sono risultati essere PTC e 2 (6%) benigni.

La specificità e la sensibilità del BFI-TS per il PTC con ≥ 4 segni sono rispettivamente 97% e 89% (Tabella 1). Questi valori sono significativamente superiori a quelli ottenuti dai segni ecografici convenzionali (microcalcificazioni: 92% specificità e 41% sensibilità; ipocogenicità: 41% specificità e 72% sensibilità). Essi sono anche significativamente più elevati ($X^2 = 337,13$; $p < 0,0001$) rispetto ai valori riportati in letteratura per l'ecografia convenzionale (34,35,36).

Nella tabella 2 vengono confrontate specificità, sensibilità delle caratteristiche ecografiche convenzionali ed del BFI-TS nei linfonodi benigni e maligni.

Il BFI-TS presenta i valori di sensibilità (83%) e specificità (100%), più elevati rispetto agli altri parametri dell'esame ecografico tradizionale (37).

All'esame ecografico tradizionale la presenza di componente cistica e di microcalcificazioni sono da considerare segni certi di metastatizzazione in pazienti affetti da PTC (16), ma entrambi presentano valori di sensibilità molto bassi (23 ed 8% rispettivamente) (27).

Tabella 1. Caratteristiche ecografiche rilevate sia all'esame US B-Mode che BFI nei 138 noduli esaminati

Caratteristiche US	PTC	Benigno	Significatività	Specificità (%)	Sensibilità (%)	VPP (%)	VPN (%)
Margini irregolari o assenza alone ipoecogeno	19/38	34/100	$\chi^2=8.95$ P=0.003	66	50	36	78
Microcalcificazioni	16/38	8/100	$\chi^2=72.43$ P=0.0001	92	42	60	80
Ipoecogenicità	28/38	59/100	$\chi^2=5.44$ P=0.003	41	73	32	80
CDF intranodulare	23/38	20/100	$\chi^2=65.33$ P<0.0001	80	61	53	84
No BFI-TS	2/38	84/100	$\chi^2=166.21$ P<0.0001	16	5	2	31
1-3 BFI-TS	2/38	14/100	$\chi^2=5.38$ P=0.02	86	5	12	70
≥ 4 BFI TS	34/38	2/100	$\chi^2=337.13$ P<0.0001	98	89	94	96

Tabella 2. Caratteristiche ecografiche evidenziate sia all'esame B-mode che al BFI nei 99 linfonodi esaminati

	<i>LN totali (99)</i>	<i>LN maligni (35)</i>	<i>LN benigni (64)</i>	<i>Sensibilità</i>	<i>Specificità</i>	<i>P</i>
Diametro max assiale						
< 10 mm	60	17	43	48	33	0.01
≥ 10 mm	39	18	21	52	67	0.01
Diametro min assiale						
≤ 5 mm	63	13	50	37	22	<0.001
> 5 mm	36	22	14	63	78	<0.001
Indice di rotondità						
L/T ≥ 2	67	12	55	34	14	<0.001
L/T < 2	32	23	9	66	86	<0.001
Ilo iperecogeno						
Presente	25	1	24	3	62	<0.001
Assente	74	34	40	97	38	<0.001
Componente cistica						
Assente	90	27	64	77	0	<0.001
Presente	9	8	0	23	100	<0.001
Spots iperecogeni (microcalcificazioni)						
Assente	95	32	63	92	1	0.005
Presente	4	3	1	8	99	0.005
Vascularizzazione periferica						
Assente	50	15	35	43	45	0.005
Presente	49	20	29	57	55	0.005
B-Flow Twinkling Sign						
Assente	70	6	64	17	0	<0.001
Presente	29	29	0	83	100	<0.001

6. Discussione.

Il nodulo tiroideo rappresenta una patologia particolarmente frequente, con una prevalenza nella popolazione generale compresa tra il 20 ed il 50%; la prevalenza di malignità riportata in letteratura è compresa tra il 5 ed il 20%. Le neoplasie maligne a carico della tiroide rappresentano circa l'1% di tutti i tumori e, pur risultando in costante aumento, la loro incidenza si è sostanzialmente stabilizzata negli ultimi cinque anni (1,2,3).

Tra le neoplasie maligne della tiroide, il carcinoma papillifero (PTC) rappresenta la forma largamente più comune (oltre l'80% dei tumori tiroidei), seguita dal carcinoma midollare (15-18%) ed infine dalle forme anaplastiche (2-5%) (4,5,6).

Il PTC rappresenta in generale una neoplasia maligna con bassa mortalità, ma la diagnosi precoce ed una corretta stadiazione aumentano in maniera significativa la sopravvivenza a 5 anni, portandola addirittura al 96%. L'intervento chirurgico di elezione, che risulta poi fondamentale per la prognosi, è rappresentato dalla tiroidectomia totale, eventualmente allargata alla linfadenectomia laterocervicale, prima che la neoplasia abbia sviluppato metastasi a distanza.

Va tuttavia sottolineato come la prognosi dipenda anche dalla capacità della neoplasia di fissare lo Iodio, che consente un approccio terapeutico misto, attraverso la possibilità dell'utilizzo della radioterapia metabolica come trattamento adiuvante, soprattutto in casi di recidive loco-regionali e/o di metastasi a distanza.

In generale, le recidive loco-regionali non iodofissanti sono

riportate in letteratura nel 10-30% dei pazienti con carcinoma differenziato della tiroide e sono spesso legate ad un risultato prognostico significativamente peggiore.

È necessario, quindi, individuare il più precocemente possibile il nodulo neoplastico e le recidive loco-regionali, utilizzando come prima indagine l'ecografia ad alta risoluzione associata al FNAC del nodulo ed eventualmente dei linfonodi sospetti. Questa è la ragione per la quale, negli anni, si è progressivamente abbassato il cut-off dimensionale al di sopra del quale sottoporre le formazioni nodulari non cistiche a FNAC. A tale proposito vanno assolutamente sottolineati due aspetti di grande rilievo nell'ambito del management del nodulo tiroideo (38).

La prima questione è legata alla modalità di approccio bioptico. Ancora oggi, troppe volte la biopsia viene praticata “a mano libera” da parte di chirurghi, endocrinologi, anatomo-patologi. Questa tecnica espone a grandi rischi d'inappropriatezza della procedura, sia perché non è certo il livello del prelievo - in altre parole non si ha certezza di essere all'interno del nodulo – sia perché, soprattutto in ghiandole con aspetti multinodulari, non è detto che il prelievo venga praticato nella formazione nodulare più sospetta (39). Quindi, al rischio dell'inappropriatezza, si associa quello del falso negativo. Dal punto di vista procedurale, è assolutamente indispensabile che il prelievo bioptico sia eseguito sotto guida ecografica, in modo da essere certi di operare la scelta corretta del nodulo da approcciare e di essere sicuramente all'interno del nodulo, riducendo contemporaneamente sia l'inappropriatezza che i falsi negativi (40).

La seconda questione riguarda ancora i falsi negativi, ma legati alle

troppo esigue dimensioni del nodulo. In altre parole, arrivare a fare la biopsia troppo presto può determinare, pur in approccio eco-guidato, un risultato falso negativo o inadeguato per il troppo esiguo numero di linee cellulari eteroplasiche e per la difficoltà di reperirle in maniera adeguata. Questo è il motivo per il quale la riduzione progressiva del cut-off non si è accompagnata, negli anni, ad un significativo miglioramento della diagnosi di PTC e, pertanto, appare oggi molto più indicato selezionare i noduli da sottoporre a biopsia in funzione delle caratteristiche ecografiche del nodulo anziché delle sue dimensioni (11).

Tra le caratteristiche al *B-mode* dei noduli tiroidei è ormai oggi consolidato che le microcalcificazioni rappresentino gli indicatori più affidabili per la valutazione di malignità. Ciò perché all'esame microscopico le microcalcificazioni corrispondono ai corpi psammomatosi. I corpi psammomatosi sono strutture proteiche a strati concentrici, calcificate o meno, più comunemente ritrovati in neoplasie come meningiomi, carcinoma papillare dell'ovaio e PTC (41).

Numerose sono le teorie circa la loro formazione: secondo alcuni sarebbero il risultato dell'ispessimento e calcificazione di materiale secretorio, secondo altri la conseguenza della degenerazione di epitelio neoplastico papillare che subisce un processo di mineralizzazione, oppure il risultato di un processo intracellulare di deposizione di sali minerali intorno a detriti lipidici calcifici. Qualunque sia il meccanismo di formazione, la maggior parte degli autori concorda nel ritenere i corpi psammomatosi come strutture non cellulari frequentemente correlate a patologie neoplastiche epiteliali di tipo papillare. L'aggregazione di diversi corpi psammomatosi determina la formazione di calcificazioni, visualizzabili

all'esame ecografico in *B-mode* sia nel nodulo che nei linfonodi metastatici in caso di PTC (42).

La metodica BFI sembra essere capace di individuare le microcalcificazioni generate dall'aggregazione dei corpi psammomatosi localizzati nei noduli solidi tiroidei e nei linfonodi metastatici attraverso l'individuazione dei BFI-TSs; questa ipotesi è suffragata anche dai dati istologici (Fig. 1D e 2D). Dall'analisi statistica dei dati ottenuti dal confronto tra la metodica tradizionale (*B-mode* e *color Doppler*) ed il BFI, nello studio del nodulo tiroideo, si evidenzia come il BFI-TS >4 (4 o più segni/scansione) presenti valori di sensibilità, specificità e valore predittivo positivo nettamente superiori ai segni ecografici convenzionali (microcalcificazioni, ipoecogenicità, margini irregolari, assenza di alone ipoecogeno periferico e vascolarizzazione intranodulare). Il BFI-TS ha permesso l'identificazione di un numero di microcalcificazioni significativamente maggiore rispetto all'esame in *B-mode*. Infatti, 36 noduli tiroidei erano positivi al BFI-TS (4 o più segni/scansione), rispetto ai 24 individuati all'esame *B-mode* (tab. 1). Inoltre, per le 36 lesioni positive al BFI-TS, la citologia ha mostrato che 34 erano maligne (94%) e 2 erano benigne (6%). Dei 24 casi di microcalcificazioni individuati all'esame *B-mode*, 16 (67%) erano PTC e 8 (33%) erano lesioni benigne. 18 microcalcificazioni associate PTC sono state rilevate soltanto dal BFI-TS e non all'esame *B-mode* (Fig. 2); per cui il BFI-TS è più sensibile del *B-mode* nell'individuazione dei PBS (sensibilità: 89% vs 42%) (20,21).

Il nostro studio indica che i noduli con almeno 4 segni per scansione sono altamente sospetti per malignità. Tale valutazione, basata su criteri statistici, è sostenuta dall'osservazione istologica che nei carcinomi

papilliferi è presente un elevato numero di corpi psammomatosi (25). È probabile che proprio la morfologia dei PBS, costituita da strati proteici lamellari, con un elevato numero d'interfacce, produca il fenomeno dello scintillio (fig. 2D), in maniera simile, per certi versi, a quanto avviene per i calcoli renali. Analogamente a quanto avviene per la lesione primitiva, possiamo dire che il BFI-TS permette di identificare la presenza di microcalcificazioni nelle metastasi linfonodali di PTC con una maggiore sensibilità e specificità rispetto all'ecografia tradizionale (tab. 2).

Ma perché il BFI-TS risulta essere positivo nel PTC? Abbiamo evidenziato come il principale elemento diagnostico del PTC è rappresentato dai corpi psammomatosi. Abbiamo anche sottolineato che la presenza e l'accumulo dei corpi psammomatosi sono alla base della formazione delle microcalcificazioni, che vengono poi riconosciute all'ecografia B-Mode e il cui rilievo rappresenta, nella semeiotica tradizionale, il segno dotato della più alta specificità, sebbene di modesta sensibilità. La positività del BFI-TS sembra non essere associata al calcio, o almeno essere associata solo in parte alla presenza di calcio; come avviene per i microcalcoli renali, quello che sembra essere determinante è la presenza di numerose interfacce, dal profilo irregolare, legate alla progressiva sovrapposizione di tipo lamellare del materiale che va poi a costituire il corpo psammomatoso. E' quindi questo aspetto morfologico che, anche prima che si depositino poi i sali di calcio responsabili della calcificazione, determina la positività del BFI-TS (25).

Per quanto attiene la valutazione delle metastasi linfonodali, l'ecografia attualmente viene considerata il gold standard tra le tecniche di imaging per lo studio delle linfadenopatie laterocervicali. Le caratteristiche ecografiche dei

linfonodi metastatici, ampiamente codificate in letteratura, sono: forma rotondeggiante (rapporto asse breve-asse lungo >0.5), alterata ecogenicità, aree di degenerazione cistica e/o microcalcificazioni, perdita dell'ilo iperecogeno, vascolarizzazione prevalentemente periferica. La conferma della malignità di un linfonodo sospetto all'esame ecografico (US) si basa sul FNA eco-guidato per la citologia e sulla determinazione della tireoglobulina nel liquido di lavaggio del cito-aspirato (29). Questo spiega la necessità di identificare specifici criteri di malignità, onde evitare esami invasivi con potenziale morbilità.

Come detto, nella valutazione dei noduli tiroidei il BFI presenta una sensibilità significativamente maggiore nell'identificazione delle microcalcificazioni rispetto all'esame US tradizionale, mantenendo rispetto a quest'ultimo una specificità altrettanto elevata. Poiché è stato ampiamente dimostrato in letteratura che le microcalcificazioni non solo sono presenti nei noduli tiroidei, ma anche nei linfonodi metastatici dei pazienti affetti da PTC, abbiamo valutato l'accuratezza diagnostica del BFI nell'individuazione delle metastasi linfonodali. Abbiamo inoltre confrontato il BFI-TS con i principali segni ecografici valutando i risultati ottenuti alla luce del reperto istologico (22,43).

In realtà, numerosi studi hanno dimostrato che l'US presenta una maggiore sensibilità rispetto alla palpazione ed alle altre metodiche d'imaging nell'individuazione di localizzazioni secondarie ai linfonodi laterocervicali, ma i criteri ecografici di malignità al B-Mode sono ancora in parte controversi (44,45).

Per quanto riguarda il criterio dimensionale, sia il diametro minimo che

il diametro massimo non si sono dimostrati sufficienti per differenziare i linfonodi infiammatori da quelli metastatici. Tra i vari criteri ecografici analizzati, l'assenza dell'ilo iperecogeno è quello con valore di sensibilità più elevato, ma con bassi valori di specificità e di accuratezza diagnostica complessiva. In base ai dati presenti in letteratura, l'ilo iperecogeno è stato riscontrato nel 84-92% dei linfonodi benigni ma meno del 5% dei linfonodi metastatici (46,47). Nel nostro studio i linfonodi metastatici con ilo ancora visibile erano quelli a sede alta (II stazione), i quali presentavano un coinvolgimento metastatico solo parziale, mentre l'ilo era assente nel 91.9% dei linfonodi metastatici.

La presenza di microcalcificazioni e di aree di degenerazione cistica all'esame US mostrano valori di specificità elevatissimi (rispettivamente 99,7 e 100%) ma bassi valori di sensibilità (47). La presenza di microcalcificazioni nel contesto dei linfonodi metastatici è caratteristica del PTC, ma generalmente poco frequente e questo spiega la bassa sensibilità del segno ecografico.

Il BFI-TS permette di identificare la presenza di microcalcificazioni generate dall'aggregazione di corpi psammomatosi ed aggregati di cristalli di colloide nelle metastasi linfonodali di PTC con una maggiore sensibilità rispetto all'ecografia tradizionale (48).

Calcificazioni linfonodali possono essere presenti anche in altre condizioni sia benigne come le malattie granulomatose tra cui tubercolosi e sarcoidosi, che maligne, localizzazioni secondarie in pazienti trattati e non con chemio e radioterapia da linfoma, carcinomi squamosi del collo, adenocarcinomi polmonari gastrici o del colon, melanomi. Ma sono tutte

condizioni poco frequenti.

Di tutti i linfonodi studiati solo uno è risultato falsamente positivo al BFI-TS rappresentato da un esito di linfadenite tubercolare (49).

Solo la presenza di microcalcificazioni e componente cistica mostrano una specificità paragonabile a quella del BFI-TS, ma con una sensibilità notevolmente inferiore (rispettivamente 8 e 23% vs 83% del BFI-TS) (22,47). Per cui la positività al BFI-TS di un linfonodo indica che esso debba essere considerato maligno rendendo nella maggior parte dei casi superfluo il FNA.

7. Conclusioni

Questo studio indica che la tecnica BFI, finora utilizzata solo per lo studio delle patologie vascolari, può essere applicata alla patologia nodulare della tiroide sia nella diagnosi che nella stadiazione, permettendo la valutazione anche dei linfonodi laterocervicali, prima sede di metastatizzazione del PTC con una sensibilità e specificità più elevata rispetto a quella della US tradizionale (21,22,50). Comunque, studi longitudinali su una più vasta popolazione sono richiesti per verificare l'efficacia del BFI nella diagnosi di carcinoma della tiroide. Infine la metodica BFI non è stata progettata per visualizzare il BFI-TS ma per studi vascolari, per cui un'ulteriore sviluppo della metodica potrà migliorare la sensibilità nella ricerca del BFI-TS, aumentando così il tasso di individuazione precoce di PTC e delle sue metastasi linfonodali.

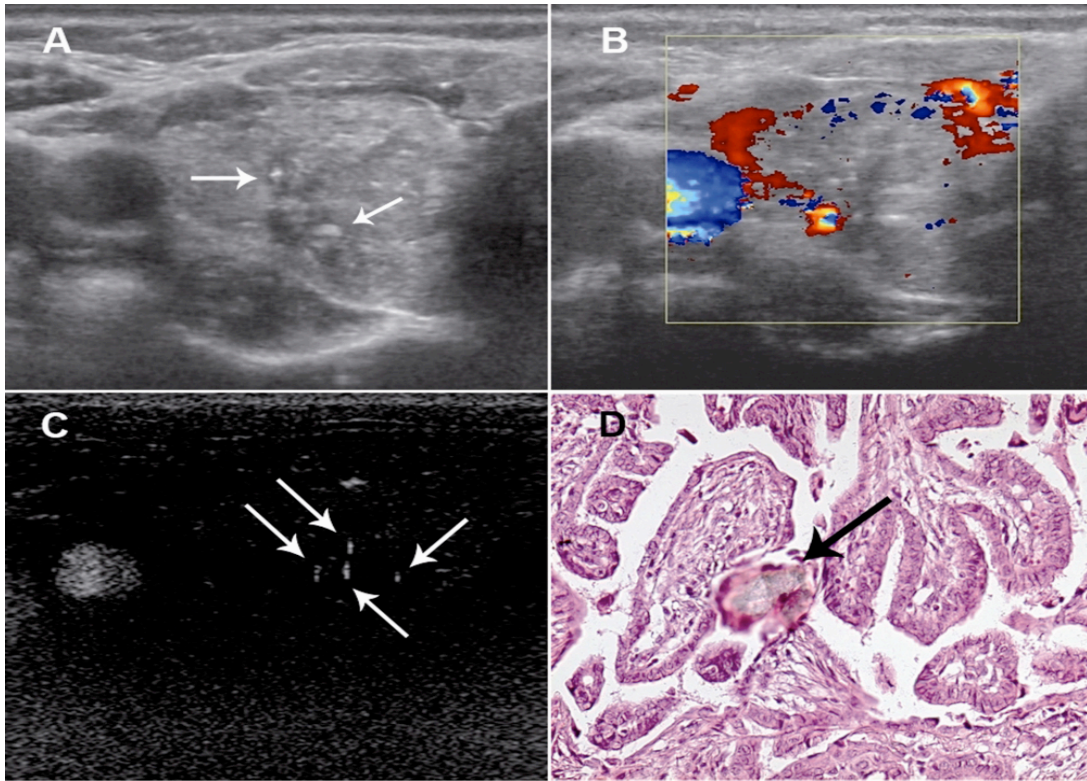


Figura 1 A-B-C-D. Aspetto di un nodulo tiroideo sospetto all'esame US *B-mode* ed al BFI.

(a) Scansione trasversa di un nodulo contenente multipli spots iperecogeni senza coda di cometa posteriore (*freccette*). (b) Al *color-Doppler* il nodulo presenta vascolarizzazione prevalentemente perilesionale (c) Lo stesso nodulo in scansione trasversale presenta al BFI multipli TS (*freccette*), altamente suggestivi di neoplasia maligna. Ago-aspirato e biopsia chirurgica hanno confermato la diagnosi di carcinoma papillifero. (d) Preparato istologico che mostra un *focus* di carcinoma papillifero ed un corpo psammomatoso (*freccia*).

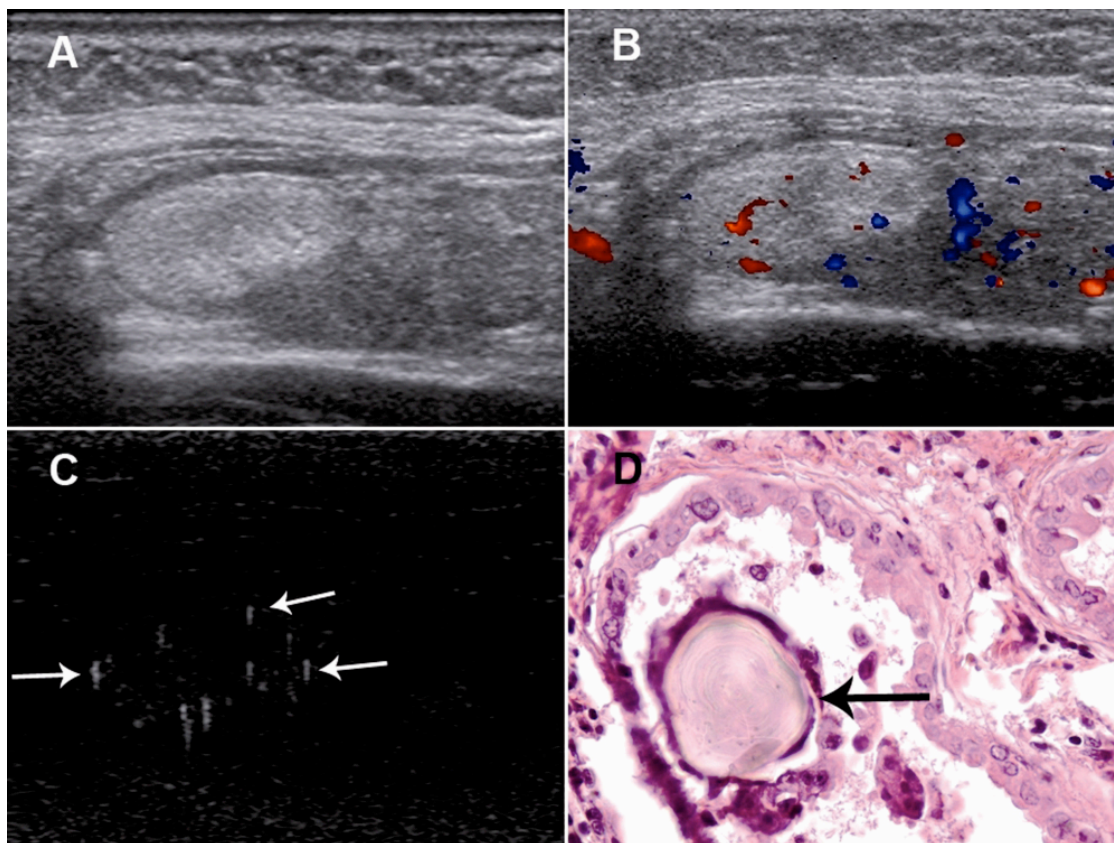
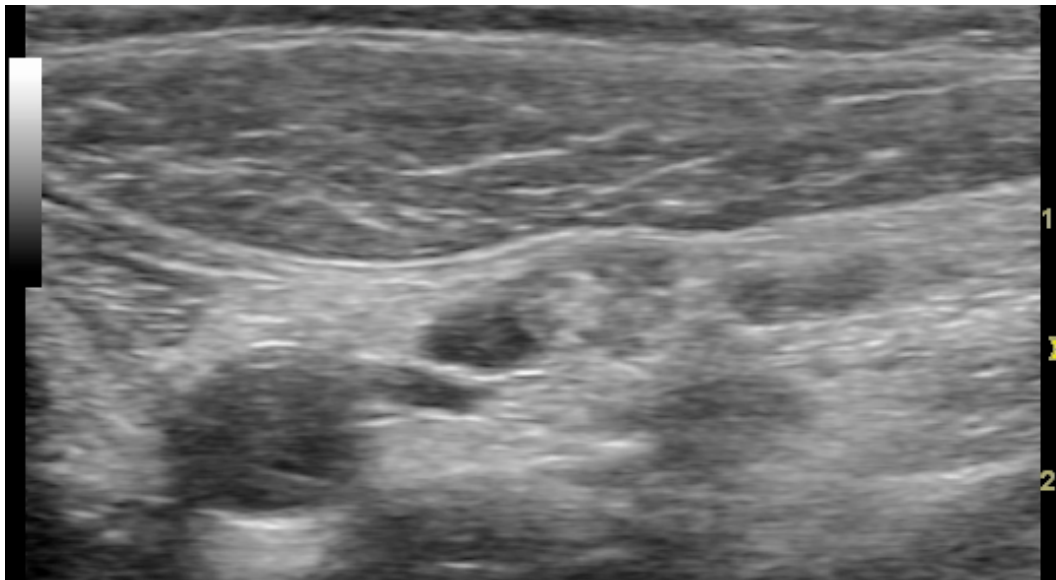
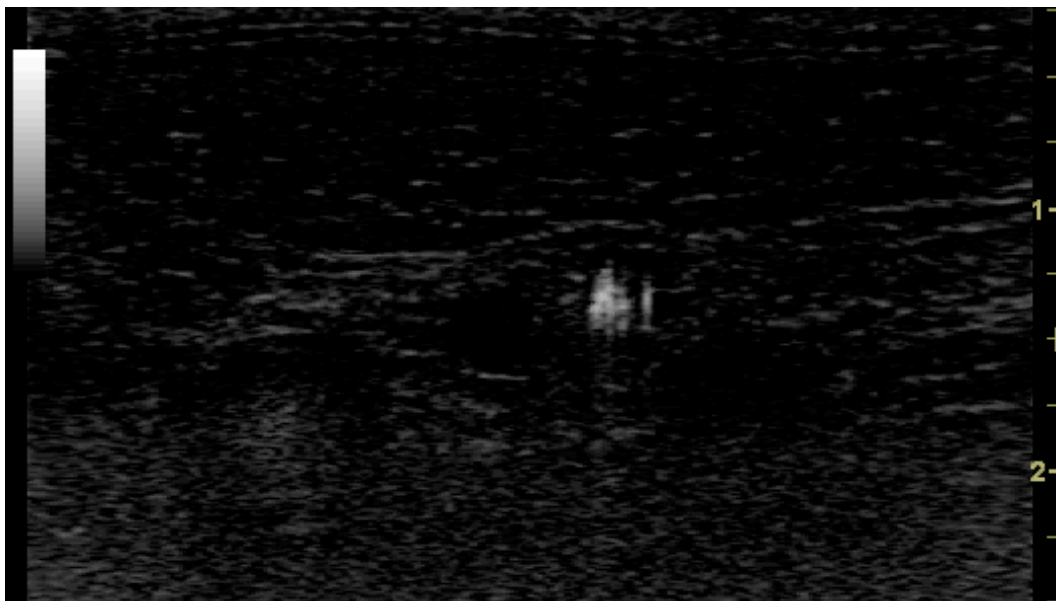


Figura 2 A-B-C-D. Nodulo che non presenta caratteristiche di sospetto all'esame US *B-mode* e al *color-Doppler*, mentre risulta positivo all'BFI.

A. Scansione sagittale di nodulo solido, iso-iperecogeno con alone ipoecogeno periferico, con caratteri suggestivi di lesione probabilmente benigna. B. Al *color-Doppler* il nodulo non presenta una marcata vascolarizzazione endolesionale. C. Lo stesso nodulo in scansione trasversale presenta al BFI multipli scintillii (*freccie*), fortemente suggestivi di malignità. L'ago-aspirato e la biopsia chirurgica hanno confermato la natura maligna (PTC). D. Preparato istologico che mostra ad elevato ingrandimento un focus di carcinoma papillifero nel cui contesto si apprezza la struttura lamellare del corpo psammomatoso (*freccia*).



A



B

Figura 3 A-B Aspetto di un piccolo linfonodo che non presenta caratteristiche di sospetto all'esame US *B-mode*, mentre risulta positivo all'BFI.

A. Scansione sagittale di un linfonodo che presenta margini netti, ilo iperecogeno, lieve disomogeneità del polo inferiore.

B. Multipli BFI-TS nella porzione inferiore ed a sede ilare.

BIBLIOGRAFIA

1. DAVIES L. AND WELCH HG., 2006. *Increasing Incidence of Thyroid Cancer in the United States, 1973-2002*. JAMA; 295: 2164-2167.
2. HEGEDUS L., 2004 *The thyroid nodule*. N Engl J Med; 351:1764-1771.
3. DAVIES L., WELCH HG., *Current thyroid cancer trends in the United States*. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Apr;140(4):317-22.
4. HODGSON NC., BUTTON J., SOLORZANO CC., 2004 *Thyroid cancer: is the incidence still increasing?* Ann Surg Oncol.11(12):1093-7.
5. FRANCESCHI S., BOYLE P., MAISSONNEUVE P. ET AL., 1993. *The epidemiology of thyroid carcinoma*. Critical Reviews in Oncogenesis ;4:25
6. PARKIN D., MUIR C., WHELAN S. ET AL., 1992. *Cancer incidence in five continents*. IARC Sci Publ.:(120):45-173.
7. SHERMAN SI., 2003 *Thyroid carcinoma*. Lancet. 8;361(9356):501-11.
8. BIS HEGEDUS L., 2004. *Thyroid ultrasonography as a screening tool for thyroid disease*. Thyroid. 14(11):879-80.
9. MAZZAFERRI EL., 1993 *Management of a solitary thyroid nodule*. N Eng J Med;328:553-559.
10. SOLBIATI L., LIVRAGHI T., BALLARATI E. ET AL., 1996 *Thyroid gland*. In: SOLBIATI L., RIZZATTO G., CHARBONEAU JW., eds. *Ultrasound of superficial structures*. Edinburgh, Scotland: Churchill-Livingstone; 48-85.
11. SUKUMARAN, R; KATTOOR, J; PILLAI, KR; RAMADAS, PT; NAYAK, N; SOMANATHAN, T; GEORGE, NA; SEBASTIAN, P. 2014 *Fine needle aspiration cytology of thyroid lesions and its correlation with histopathology in a series of 248 patients*. Indian J Surg Oncol, vol. 5(3) pp. 237-41.

12. ROTI E., ROSSI R., TRASFORINI G. ET AL., 2006. *Clinical and histological characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: results of a retrospective study in 243 patients*. J Clin Endocrinol Metab. 91(6):2171- 8.
13. TAN GH., GHARIB H., 1997 *Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging*. Ann Intern Med. 1;126(3):226-31.
14. PACINI F., SCHLUMBERGER M., DRALLE H., SMIT JW., WIERSINGA W., *European Thyroid Cancer Taskforce*. 2006. *European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium*. Eur J Endocrinol.;154(6):787-803.
15. SAIIEGH L., SHECHNER C., DICKSTEIN G., SHEIKH-AHMAD M., REUT M., ODEH M., TOUBI A., BEJAR, J, 2014 *Role of cytological and ultrasonographic features in predicting the risk of malignancy in thyroid nodules with indeterminate cytology* Minerva Endocrinol., vol. 39(1) pp. 43-52.
16. FRATES MC., BENSON CB., CHARBONEAU JW ET AL., 2005. *Management of thyroid nodules detected at US: Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference statement*. Radiology 237:794–800.
17. FRATES MC., BENSON CB., DOUBILET PM. ET AL., 2006 *Prevalence and distribution of carcinoma in patients with solitary and multiple thyroid nodules on sonography*. J Clin Endocrinol Metab. Sep;91(9):3411-7.
18. TOLA M., YURDAKUL M, CUMHUR T., 2004. *Combined use of color duplex ultrasonography and B-flow imaging for evaluation of patients with carotid artery stenosis*. AJNR Am J Neuroradiol.Nov-Dec;25(10):1856-60
19. BUCEK RA., REITER M., KOPPENSTEINER I., AHMADI R., MINAR E., LAMMER J., 2002. *Bflow evaluation of carotid arterial stenosis: initial experience*. Radiology. Oct;225(1):295-9.

20. BRUNESE L., ROMEO A., IORIO S., NAPOLITANO G. ET AL., *A new marker for diagnosis of thyroid papillary cancer: B-flow twinkling sign*. J Ultrasound Med. 2008 Aug;27(8):1187-94.
21. BRUNESE L., ROMEO A., IORIO S., NAPOLITANO G. ET AL., *Thyroid B-flow twinkling sign: a new feature of papillary cancer*. Eur J Endocrinol. 2008 Oct;159(4):447-51
22. NAPOLITANO G., ROMEO A., VALLONE G., ROSSI M., CAGINI L., ANTINOLFI G., VITALE M., BRUNESE L., GENOVESE E., *How the preoperative ultrasound examination and BFI of the cervical lymph nodes modify the therapeutic treatment in patients with papillary thyroid cancer*. BMC Surg. 2013;13 Suppl 2:S52.
23. VALLONE G., NAPOLITANO G., FONIO P., ANTINOLFI G., ROMEO A., MACARINI L., GENOVESE EA., BRUNESE L., *US detection of renal and ureteral calculi in patients with suspected renal colic*. Crit Ultrasound J. 2013 Jul 15;5 .
24. BIS RAHMOUNI A., BARGOIN R., HERMENT A. ET AL., *Color Doppler twinkling artifact hyperechoic regions*. Radiology 1996;199:269–271.
25. DAS DK., MALLIK MK., HAJI BE., AHMED MS., AL-SHAMA'A M., AL-AYADHY B., GEORGE SS., SATHAR SA, JUNAID TA., 2004. *Psammoma body and its precursors in papillary thyroid carcinoma: a study by fine-needle aspiration cytology*. Diagn Cytopathol. Dec;31(6):380-6.
26. CARCANGIU ML., ZAMPI G., ROSAI J., 1985 *Papillary thyroid carcinoma. A study of its many morphologic expressions and clinical correlations*. Pathol Annu 20:1-44.
27. NAM SY., SHIN JH., HAN BK., KO EY., KO ES., HAHN SY., CHUNG JH., *Preoperative ultrasonographic features of papillary thyroid carcinoma predict biological behavior*. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Apr;98(4):1476-82.

28. CHOI Y., PARK KJ., RYU S., KIM DH., YUN J., KANG DK., CHUN M., *Papillary thyroid carcinoma involving cervical neck lymph nodes: correlations with lymphangiogenesis and ultrasound features.* Endocr J. 2012;59(10):941-8.
29. HUGHES DT., LAIRD AM., MILLER BS., GAUGER PG., DOHERTY GM., *Reoperative lymph node dissection for recurrent papillary thyroid cancer and effect on serum thyroglobulin.* Ann Surg Oncol 2012, 19(9):2951-7.
30. VALENTINO R., SAVASTANO S., TOMMASELLI AP. ET AL., 2004. *Screening a coastal population in Southern Italy: iodine deficiency and prevalence of goitre, nutritional aspects and cardiovascular risk factors.* Nutr Metab Cardiovasc Dis. Feb;14(1):15-9.
31. YING M., AHUJA A., BROOK F., *Sonographic appearances of cervical lymph nodes: variations by age and sex.* J C lin Ultrasound 2002, 30:1-11.
32. MIAH CF., ZAMAN JA., SIMON M., DAVIDOV T., TROOSKIN SZ., *The utility of lymph node mapping sonogram and thyroglobulin surveillance in post thyroidectomy papillary thyroid cancer patients.* Surgery. 2014 Dec;156(6):1491-6; discussion 1496-7.
33. CRESCENZI A., PANUNZI C., TACCOGNA S., PAPINI E., PACELLA CM., NARDI F., 1999. *Cytospray fixation of frozen intraoperative sections.* Mod Pathol 12:92–94
34. LEE KE., CHUNG IY., KANG E., KOO DO H., KIM KH., KIM SW., YOUN YK., OH SK., *Ipsilateral and contralateral central lymph node metastasis in papillary thyroid cancer: patterns and predictive factors of nodal metastasis.* Head Neck. 2013 May;35(5):672-6.
35. DRAGONI F., CARTONI C., PESCARMONA E. ET AL., *The role of high resolution pulsed and color Doppler ultrasound in the differential diagnosis of benign and malignant lymphadenopathy: result of multivariate analysis.* Cancer 1999, 85:2485-2490.
36. LAGALLA R., CARUSO G., MIDIRI M. ET AL., 1992 *Echo-Doppler-couleur et pathologie thyroïdienne.* J Echogr Med Ultrason; 13: 44–47.

37. KERR L., 1994. *High resolution thyroid ultrasound: the value of colour Doppler*. *Ultrasound Q*; 12:21–23.
38. GHARIB H., 1996. *Diagnosis of thyroid nodules by fine needle aspiration biopsy*. *Curr Opin Endocrinol Diabetes*; 3:433– 438.
39. SACHMECHI I., MILLER E., VARATHARAJAH R. ET AL., 2000 *Thyroid carcinoma in single cold nodules and in cold nodules of multinodular goiters*. *Endocr Pract*; 6:5-7.
40. GHARIB H., GOELLNER JR., 1993 *Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: an appraisal*. *Ann Intern Med*; 118:282-289.
41. MAKI M., HIROTA S., KANEKO Y., MOROHOSHI T., 2000. *Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in ovarian serous papillary cystadenocarcinoma: a possible association with calcification of psammoma bodies*. *Pathol Int*. Jul;50(7):531-5.
42. TUNIO GM., HIROTA S., NOMURA S., KITAMURA Y., 1998. *Possible relation of osteopontin to development of psammoma bodies in human papillary thyroid cancer*. *Arch Pathol Lab Med*. Dec;122(12):1087-90
43. LEBoulLEUX S., GIRARD E., ROSE M., TRAVAGLI JP., SABBah N., CAIlLOU B., HARTL DM., LASSAU N., BAUDIN E., SCHLUMBERGER M., *Ultrasound Criteria of Malignancy for Cervical Lymph Nodes in Patients Followed Up for Differentiated Thyroid Cancer*. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92(9):3590-3594.
44. KIM DW., CHOO HJ., LEE YJ., JUNG SJ., EOM JW., HA TK., 2013 *Sonographic features of cervical lymph nodes after thyroidectomy for papillary thyroid carcinoma* *J Ultrasound Med*, vol. 32(7) pp. 1173-80.
45. SHIN LK., OLCOTT EW., JEFFREY RB., DESSER TS., *Sonographic evaluation of cervical lymph nodes in papillary thyroid cancer*. *Ultrasound Q*. 2013 Mar;29(1):25-32.
46. STRAMARE R., TREGNGHI A., FITTA C. ET AL., *High-sensitivity power Doppler imaging of normal superficial lymph nodes*. *J Clin Ultrasound* 2004, 32:273-276.

47. KIM JY., KIM EK., LEE HS., KWAK JY., 2014 *Conventional papillary thyroid carcinoma: effects of cystic changes visible on ultrasonography on disease prognosis Ultrasonography* vol. 33(4) pp. 291-7.
48. WU LM., GU HY., QU XH., ZHENG J., ZHANG W., YIN Y., XU JR., *The accuracy of ultrasonography in the preoperative diagnosis of cervical lymph node metastasis in patients with papillary thyroid carcinoma: A meta-analysis.* Eur J Radiol. 2012 Aug;81(8):1798-805.
49. ZHAN WW, ZHOU P, ZHOU JQ, XU SY, CHEN KM., *Differences in sonographic features of papillary thyroid carcinoma between neck lymph node metastatic and nonmetastatic groups.* J Ultrasound Med. 2012 Jun;31(6):915-20.
50. RIDGWAY EC., *Clinical evaluation of solitary thyroid nodules.* In: BRAVERMAN LE., UTIGER RD., eds. *Werner & Ingbar's 2000 The Thyroid. A fundamental and clinical text.* Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins:949-958.