



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Ricerca Traslationale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica

CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

“Il microcarcinoma papillare della tiroide rilevato prima della tiroidectomia rappresenta una forma clinica diversa rispetto alle forme incidentali: possibile ruolo del TSH”

RELATORE

Chiar.mo Prof. Paolo Vitti

---

CANDIDATO

Rachele Tintori

---

ANNO ACCADEMICO 2015/2016

# SOMMARIO

1	I NODULI TIROIDEI.....	8
1.1	Prevalenza .....	8
1.2	Presentazione.....	8
1.3	Pattern ecografici .....	10
1.4	Agoaspirato .....	13
1.5	Classificazione citologica .....	14
2	IL CARCINOMA DELLA TIROIDE.....	16
2.1	Incidenza .....	16
2.2	Fattori di rischio .....	19
2.3	Classificazione istologica.....	20
2.4	Caratteristiche molecolari .....	21
2.4.1	RET/PTC .....	21
2.4.2	BRAF.....	22
2.4.3	RAS .....	22
3	IL MICROCARCINOMA PAPILLARE .....	23
3.1	Definizione e prevalenza.....	23
3.2	Presentazione.....	23
3.3	Caratteristiche molecolari del microcarcinoma.....	24
3.4	Impatto clinico e terapia.....	25

4	RUOLO DEL TSH.....	27
4.1	Azione del TSH.....	27
4.2	Importanza clinica.....	29
4.3	TSH e microcarcinoma .....	30
5	STUDIO .....	32
5.1	Obiettivi.....	32
5.2	Pazienti e Metodi.....	32
5.2.1	Disegno dello studio.....	32
5.2.2	Popolazione .....	32
5.2.3	Criteri di Inclusione.....	33
5.2.4	Criteri di Esclusione .....	33
5.2.5	Procedure Diagnostiche .....	34
5.2.6	Indicazioni chirurgiche.....	35
5.2.7	Esami di funzionalità tiroidea .....	37
5.2.8	Agoaspirato ed esame citologico .....	37
5.2.9	Esame istologico .....	38
5.3	Analisi Statistica.....	38
5.4	Risultati .....	39
5.4.1	Gruppi di studio.....	39
5.4.2	Dimensioni della neoplasia e localizzazioni linfonodali .....	41

5.4.3	Varianti istologiche .....	43
5.4.4	Multifocalità .....	44
5.4.5	TSH.....	45
6	DISCUSSIONE.....	49
7	CONCLUSIONI.....	57
	BIBLIOGRAFIA .....	59

## RIASSUNTO

Il carcinoma papillare rappresenta la neoplasia tiroidea più frequente e la sua incidenza è andata aumentando negli ultimi anni, soprattutto grazie ad una maggiore identificazione di lesioni di piccole dimensioni. Il microcarcinoma papillare, definito come una neoplasia di dimensioni uguali o inferiori al centimetro nel suo diametro maggiore, è oggi di frequente riscontro e il suo comportamento clinico, per quanto variabile, è generalmente non aggressivo. L'aumento del numero di diagnosi, assieme alla bassa morbilità e mortalità del microcarcinoma pone il problema della sua gestione.

Il microcarcinoma può avere due modalità di presentazione: una forma incidentale, quando è identificato occasionalmente all'istologia in pazienti operati per patologia benigna della tiroide, e una forma non incidentale, rilevata clinicamente grazie all'ecografia del collo e all'esame citologico su agoaspirato. Non è però chiaro se queste forme riflettano due entità cliniche distinte con diverse caratteristiche, diversa aggressività ed evolutività.

Il TSH è un importante fattore di crescita nei carcinomi differenziati della tiroide e, in presenza di noduli tiroidei, rappresenta un fattore di rischio di neoplasia in quanto livelli più alti si associano ad una maggior probabilità di malignità del nodulo. Il suo ruolo nel microcarcinoma è ancora poco chiaro, tuttavia potrebbe essere importante nel determinarne la modalità di presentazione e/o il comportamento clinico e l'evoluzione.

Lo scopo di questo studio è ricercare la presenza di differenze cliniche ed istologiche tra microcarcinoma papillare incidentale e non incidentale e valutare il possibile ruolo del TSH.

*Pazienti e Metodi:* Sono stati arruolati 665 pazienti consecutivi sottoposti a tiroidectomia per patologia benigna della tiroide o per neoplasia certa o sospetta all'esame citologico su agoaspirato. Sono stati valutati gli esami clinici preoperatori (ecografia del collo ed esami di funzionalità tiroidea) e i risultati dell'esame istologico.

*Risultati:* 259 pazienti si presentavano con nodulo singolo della tiroide, 406 pazienti con noduli multipli. All'istologia sono stati diagnosticati 92 microcarcinomi incidentali, in 67 pazienti è stata confermata la presenza di microcarcinoma non incidentale e in 215 di carcinoma di dimensioni superiori ad 1 cm (macrocarcinoma). 291 pazienti presentavano invece noduli benigni.

Il microcarcinoma incidentale era significativamente più frequente in pazienti con tiroide multinodulare rispetto a pazienti con nodulo singolo (66/406, 16,2% rispetto a 26/259, 10%;  $p=0,02$ ), mentre il non incidentale era più frequente in pazienti con nodulo singolo (33/259, 12,7%, rispetto a 34/406, 8,4%, con noduli multipli,  $p=0,04$ ).

I pazienti con microcarcinoma incidentale erano mediamente più anziani (età media  $\pm$  deviazione standard  $53,3\pm 13,2$  anni rispetto a  $44,9\pm 14,8$  in caso di forme non incidentali;  $p=0,0002$ ), avevano una neoplasia di dimensioni minori (mediana 4 mm, IQR 2-7 mm, contro 9 mm, IQR 7-10 mm del non incidentale; Mann-Whitney  $p<0,0001$ ), più frequentemente presentavano focolai neoplastici multipli (70/92, 76,1% rispetto a 35/67, 52,2%;  $p=0,001$ ) e avevano livelli più bassi di TSH (mediana

0,6 mUI/L, IQR: 0,4-1,0 mUI/L, contro 1,1 mUI/L, IQR: 0,6-1,4 mUI/L;  $p=0,0001$ ). Varianti più aggressive sono state riscontrate con maggiore frequenza nel microcarcinoma non incidentale (18/67, 26,9% rispetto all'incidentale 11/92, 11,9%), così come la presenza di ripetizioni linfonodali che sono state individuate nel 25,4% dei pazienti con forma non incidentale e in nessun paziente con microcarcinoma incidentale ( $\chi^2 p<0,0001$ ).

*Conclusioni:* Il microcarcinoma incidentale e non incidentale mostrano caratteristiche cliniche ed istologiche distintive. Diversi valori di TSH nei due gruppi suggeriscono un suo ruolo nel determinare le modalità di presentazione e l'evoluitività della neoplasia.

# **1 I NODULI TIROIDEI**

## **1.1 PREVALENZA**

I noduli tiroidei rappresentano un problema clinico frequente. La prevalenza di noduli palpabili si attesta attorno al 5% nelle donne e all'1% negli uomini nelle zone iodosufficienti [1], con una variabilità che dipende dall'area geografica e dall'apporto iodico. La prevalenza è maggiore se si utilizzano tecniche sensibili come l'ecografia per l'identificazione dei noduli e può variare dal 19% al 68% della popolazione adulta [1] con maggiore frequenza nel sesso femminile e nelle età più avanzate, in particolare sopra i 60 anni.

## **1.2 PRESENTAZIONE**

I noduli tiroidei sono più frequentemente riscontrati nel contesto del gozzo come noduli singoli o multipli, ma possono svilupparsi anche in tiroidei di volume normale. Il problema principale è quello di escludere la presenza di neoplasia, che può arrivare fino al 7-15% dei noduli [1] in funzione anche di fattori di rischio individuali quali la familiarità, l'esposizione a radiazioni ionizzanti, così come dell'età e del sesso. L'introduzione dell'ecografia ha consentito negli ultimi anni l'individuazione di lesioni nodulari clinicamente non evidenti, con un conseguente incremento dell'incidenza di forme incidentali [2]. Un incidentaloma è definito come un nodulo



tiroideo asintomatico, inatteso, identificato durante indagini svolte per altre condizioni e la sua prevalenza in pazienti sottoposti ad ecografia del collo arriva fino al 67% [3]. La prevalenza clinica dei noduli tiroidei, infatti, grazie allo sviluppo tecnologico dell'ecografia è arrivata a pareggiare la prevalenza autoptica [3]. Parallelamente si è assistito ad un aumento del riscontro di noduli di dimensioni inferiori ad 1 cm in quanto molti incidentalomi sono di piccole dimensioni e, di questi, il 70-80% è subcentimetrico [3].

Questi noduli, scoperti incidentalmente e non palpabili, hanno un certo rischio di malignità, che varia anche in funzione della modalità con cui è stato effettuato il riscontro occasionale. Questo rischio varia dal 5-13% in caso di diagnosi effettuata con ecografia, TC e RM, ma arriva al 30% se la lesione è stata identificata per la presenza di captazione focale alla PET con fluorodesossiglucosio [3].

In presenza di un nodulo tiroideo alcuni elementi possono orientare verso il sospetto di neoplasia e le prime indagini sono volte alla valutazione del suo aspetto ecografico. Questo permette una buona stratificazione del rischio di malignità della lesione nodulare sulla base del suo pattern e delle sue dimensioni e pone le indicazioni per l'esecuzione dell'agoaspirato per l'esame citologico. All'ecografia si aggiunge la valutazione della funzionalità tiroidea, in particolare dei livelli di TSH. È stato osservato infatti che valori più alti di TSH, anche se rimangono nell'intervallo di normalità, sono associati ad un maggior rischio di neoplasia [4]. Altri elementi di rischio da considerare possono essere anamnestici, come la familiarità per carcinoma della tiroide o la pregressa irradiazione del collo, o un aumento significativo delle dimensioni del nodulo durante il follow up.

### 1.3 PATTERN ECOGRAFICI

Lo studio ecografico permette di definire le dimensioni della ghiandola tiroidea e le caratteristiche del parenchima, in particolare l'ecogenicità e la sua omogeneità o disomogeneità. Consente poi di identificare eventuali noduli e di descriverne le dimensioni, la sede, la composizione (solido/cistico), l'ecogenicità, i margini, l'eventuale presenza e il tipo di calcificazioni. Lo studio ecocolordoppler permette inoltre la valutazione della vascolarizzazione del nodulo [1].

Nell'ambito dell'algoritmo diagnostico del nodulo tiroideo, l'uso dell'ecografia è ampiamente riconosciuto come step chiave nella stratificazione del rischio di malignità [1] e per la selezione dei pazienti da sottoporre ad agoaspirato.

Il pattern ecografico di un nodulo può essere suggestivo di malignità anche se nessun segno da solo è indicativo; è stato studiato il valore diagnostico della combinazione di più aspetti ecografici [5], [6], [7], [8], [9], in particolare della presenza di microcalcificazioni, di ipoecogenicità marcata, margini irregolari e aspetto *tall shape* (spessore maggiore della larghezza).

Alcune di queste caratteristiche, come i margini irregolari, le microcalcificazioni e la vascolarizzazione intranodulare, anche se considerate singolarmente, rappresentano fattori di rischio indipendenti di malignità del nodulo [6].

In uno studio di Rago e collaboratori [5] è stato visto che l'assenza di alone era l'aspetto ecografico che, da solo, si associava alla più alta probabilità di malignità. È stato poi osservato che la combinazione di più caratteristiche di sospetto aveva un maggiore valore predittivo ed un'elevata specificità. La contemporanea presenza di più segni ecografici era quindi indicativa di un alto rischio di malignità della lesione

ma era presente solo in una percentuale limitata di noduli maligni e mostrava quindi una ridotta sensibilità [5].

Un altro aspetto importante è la valutazione della vascolarizzazione del nodulo che permette di distinguere tre tipi di pattern vascolari. Nel tipo I la vascolarizzazione nodulare è assente, nel tipo II è presente e prevalentemente perinodulare, mentre nel tipo III è visibile un'importante vascolarizzazione intranodulare. Quest'ultimo aspetto rientra tra le caratteristiche suggestive di malignità [6].

Agli elementi detti è stata poi aggiunta la ridotta elasticità all'elastografia [10], [11], [12]. L'elastografia è una tecnica di recente introduzione che consente la valutazione delle caratteristiche di elasticità del nodulo. Questo viene effettuato attraverso la registrazione del grado di distorsione del fascio di ultrasuoni durante l'applicazione di una pressione esercitata con la sonda ecografica e dipende dalle diverse caratteristiche di deformabilità dei tessuti molli e duri permettendo una valutazione semiquantitativa dell'elasticità del nodulo [13]. I noduli maligni, in particolare il carcinoma papillare, presentano una ridotta elasticità rispetto alle lesioni benigne [14], [15].

Recentemente è stato suggerito l'uso di questa metodica per stratificare il rischio di neoplasia in pazienti con noduli con citologia indeterminata o non diagnostica e per selezionare i candidati all'intervento chirurgico [13].

Tra le altre caratteristiche ecografiche, le microcalcificazioni interne sono tra i segni più specifici per carcinoma, in particolare per carcinoma papillare [16], ma presentano bassa sensibilità [6]. Anche l'aspetto *taller than wider* è specifico per lesione maligna, riflettendo la crescita centrifuga della neoplasia [16]. In alcuni studi

è stato osservato un aumento del rischio di neoplasia all'aumentare delle dimensioni del nodulo, in particolare sopra i 2 cm [17], ma questo non è stato confermato in altri lavori [6], [16].

La presenza di alcuni pattern, come il tipo cistico e lo spongiforme, è invece associata ad un'elevata probabilità di benignità della lesione [16], [17], [18].

Riassumendo, sono caratteristiche suggestive di malignità del nodulo l'ipoecogenicità marcata, i margini infiltranti, l'aspetto solido, la presenza di microcalcificazioni, la ridotta elasticità e la vascolarizzazione peri e intranodulare.

Considerando i vari aspetti, lo studio ecografico consente una stratificazione e una quantificazione del rischio con sensibilità compresa tra l'87% e il 95% e valore predittivo negativo tra l'88% e il 99,8% [3].

Combinando i vari aspetti ecografici le linee guida dell'American Thyroid Association individuano cinque pattern con diverso sospetto e quindi rischio di neoplasia [1] :

- Alto sospetto; nodulo solido o parzialmente cistico, ipoecogeno con una o più delle seguenti caratteristiche: margini irregolari, aspetto *taller than wide*, microcalcificazioni, calcificazioni marginali, evidenza di estensione extratiroidea. Il rischio stimato di malignità è del 70-90%.
- Sospetto intermedio; nodulo solido ipoecogeno con margini regolari, senza microcalcificazioni, aspetto *taller than wide* né estensione extratiroidea. Il rischio è del 10-20%.
- Basso sospetto; nodulo solido iso o iperecogeno o nodulo parzialmente cistico con area solida eccentrica senza microcalcificazioni, margini irregolari,

aspetto *taller than wide* ed estensione extratiroidea. Il rischio è attorno al 5-10%.

- Sospetto molto basso; nodulo spongiforme o parzialmente cistico senza caratteristiche di sospetto. Il rischio è inferiore al 3%.
- Nodulo benigno; nodulo completamente cistico. Il rischio di malignità è inferiore all'1%.

## **1.4 AGOASPIRATO**

Le linee guida dell'American Thyroid Association del 2009 [19] raccomandavano l'esecuzione dell'agoaspirato per la valutazione citologica dei noduli solidi di dimensioni superiori ad 1 cm e dei noduli superiori ai 5 mm in presenza di caratteristiche ecografiche di sospetto o di storia individuale di rischio per carcinoma. Queste linee guida sono state aggiornate nel 2015 [1] sulla base dell'introduzione della nuova classificazione del rischio basata sul pattern ecografico del nodulo. Attualmente l'esecuzione dell'agoaspirato (FNAB, *Fine Needle Aspiration Biopsy*) è raccomandata per:

- noduli di dimensione  $\geq 1$  cm con pattern ecografico di alto sospetto
- noduli di dimensione  $\geq 1$  cm con pattern ecografico di sospetto intermedio
- noduli di dimensione  $\geq 1,5$  cm con pattern ecografico di basso sospetto
- L'esecuzione dell'agoaspirato può essere considerata per noduli con pattern di sospetto molto basso e di dimensioni  $\geq 2$  cm, anche se in questi casi il follow up rappresenta un'alternativa ragionevole.

- Non c'è invece indicazione all'esecuzione dell'agoaspirato in noduli completamente cistici.

L'accuratezza diagnostica della metodica è superiore al 90% e il numero atteso di falsi negativi e falsi positivi è inferiore al 3% [20].

A seconda delle casistiche considerate, fino al 10-40% dei noduli sottoposti ad agoaspirato presenta citologia indeterminata [21] e, di questi, tra l'8% e il 56% si rivela maligno all'istologia [22], [23]. Per aumentare la sensibilità e la specificità della diagnosi citologica è stato proposto l'utilizzo di test molecolari per la ricerca di mutazioni caratteristiche del carcinoma papillare.

## **1.5 CLASSIFICAZIONE CITOLOGICA**

L'Italian consensus for the classification and reporting of thyroid cytology [20] individua le seguenti categorie diagnostiche:

- TIR1 (non diagnostico); il campione è inadeguato per la presenza di artefatti dovuti alla fissazione o alla colorazione o per la presenza di sangue o non è rappresentativo, cioè non sono presenti cellule follicolari in numero sufficiente per la diagnosi. Affinché il campione sia rappresentativo devono essere presenti almeno 6 gruppi di 10 cellule follicolari ben conservate.

All'interno della categoria TIR1 viene identificata la sottocategoria TIR1C che si riferisce a campioni prelevati da noduli cistici e che sono caratterizzati dalla presenza di eritrociti, macrofagi ricchi di emosiderina e detriti cellulari in abbondante colloide,

in assenza di cellule sufficienti a rendere il campione rappresentativo. In caso di citologia non diagnostica è indicato ripetere l'agoaspirato dopo almeno 1 mese.

- TIR2 (lesione benigna). Il rischio di malignità del nodulo è inferiore al 3%. In questi casi è consigliato il follow up clinico ed ecografico con ripetizione dell'agoaspirato in caso di modificazioni strutturali o di aumento delle dimensioni del nodulo.
- TIR3 (lesione indeterminata). Si tratta di campioni caratterizzati dalla presenza di proliferazione follicolare che può corrispondere istologicamente ad iperplasia adenomatosa, adenoma follicolare, carcinoma follicolare e carcinoma papillare nella sua variante follicolare. Sono distinte due sottocategorie, TIR3A e TIR3B; nella prima il rischio neoplastico è più basso, circa il 10%, nella seconda si parla di neoplasia follicolare e il rischio di malignità arriva fino al 30%. Nel primo caso è suggerito il follow up, nel secondo la prima strategia generalmente perseguita è la chirurgia.
- TIR4 (lesione sospetta di malignità). Sono presenti cellule atipiche e il rischio di malignità è compreso tra il 60% e l'80%.
- TIR5 (lesione maligna). Il campione presenta le caratteristiche citologiche per la diagnosi di certezza di neoplasia.

## 2 IL CARCINOMA DELLA TIROIDE

### 2.1 INCIDENZA

L'incidenza del carcinoma tiroideo è di circa 14,7 nuovi casi per 100.000 abitanti per anno [24]. Negli ultimi trent'anni l'incidenza delle neoplasie tiroidee è triplicata con un aumento più rapido a partire dal 2000, mentre la mortalità è rimasta sostanzialmente stabile e si attesta attorno a 0,5/100.000 [24], [25], [26], [27].

Questo trend è prevalentemente legato ad un'aumentata incidenza di carcinoma papillare (PTC=*Papillary Thyroid Cancer*) che è passata da 3,4 nuovi casi/100.000 abitanti l'anno a 13,1 nuovi casi/100.000 abitanti, mentre un minor contributo deriva dall'istologia follicolare [24].

Se si considerano le dimensioni della neoplasia si vede che l'aumento di incidenza è prevalentemente legato ad una più frequente diagnosi di neoplasie di piccole dimensioni, e cioè  $\leq 2$  cm [24]. Soprattutto è aumentata negli ultimi venti anni la frequenza del microcarcinoma papillare, definito come un carcinoma di dimensioni inferiori o uguali a 10 mm nel suo diametro maggiore [28].



La prevalenza del carcinoma tiroideo è maggiore sopra i 65 anni, ma il suo aumento di incidenza delle ultime decadi ha interessato tutte le fasce di età anche se rimane un tumore raro sotto i 20 anni.

In uno studio, Davies e collaboratori [24] hanno formulato due ipotesi che possono spiegare l'aumentata incidenza del carcinoma papillare; da un lato il fenomeno potrebbe essere giustificato da una maggiore identificazione di malattia subclinica mentre dall'altro potrebbe trattarsi di un aumento effettivo di incidenza.

A sostegno della prima ipotesi ci sono diverse considerazioni:

Da un lato, il carcinoma papillare della tiroide ha un grande numero di forme subcliniche, come dimostrato dalla sua prevalenza autoptica in soggetti deceduti per altre condizioni, che varia dal 3% al 35% a seconda della casistica considerata [29], [30], [31]. Questa osservazione giustificherebbe il maggior peso del carcinoma papillare nell'aumento di incidenza. Inoltre, il maggior incremento è stato osservato a carico di neoplasie di piccole dimensioni, spesso non identificabili alla palpazione, ed è almeno in parte correlato allo sviluppo e alla diffusione di tecniche sensibili per la diagnosi, in particolare l'ecografia e l'agoaspirato tiroideo, che hanno consentito diagnosi e trattamento più precoci [32]. Un altro elemento a favore di un aumento apparente di incidenza è l'osservazione che la mortalità per carcinoma papillare è rimasta sostanzialmente stabile.

Il principale elemento a favore della seconda ipotesi è invece il riscontro di un incremento di incidenza anche delle neoplasie di dimensioni maggiori.

Comunque dati recenti [33] suggeriscono che l'aumento di incidenza del carcinoma tiroideo sia ascrivibile pressoché esclusivamente ad un aumento della diagnosi

incidentale di carcinomi papillari di piccole dimensioni e clinicamente indolenti. Questo fenomeno di sovradiagnosi avrebbe interessato soprattutto alcune nazioni, tra cui l'Italia, e sarebbe legato, da un lato, all'introduzione e diffusione dell'ecografia e, dall'altro, ad un maggiore accesso ai servizi da parte della popolazione. Quest'ultimo fenomeno, in particolare, è stato osservato soprattutto in quei paesi, come Giappone e Corea del Sud, in cui sono stati avviati programmi di screening oncologici che prevedono, tra le altre cose, l'esecuzione dell'ecografia tiroidea. I dati epidemiologici della Corea, per esempio, hanno messo in evidenza che l'aumento di incidenza del carcinoma papillare, nelle donne, è stato maggiore nella fascia di età tra i 50 e i 59 anni che è anche quella in cui è stato registrato il maggior tasso di partecipazione ai progetti di prevenzione. Confrontando questi dati con l'incidenza attesa, calcolata a partire dalle curve di incidenza degli anni precedenti all'introduzione dell'ecografia, è stato stimato che il 70-80% dei casi di carcinoma tiroideo diagnosticati nelle donne in Italia, Francia e Stati Uniti tra il 2003 e il 2007 è dovuto proprio ad un fenomeno di sovradiagnosi che avrebbe interessato un totale di 450.000 carcinomi tiroidei nel sesso femminile e 90.000 nel sesso maschile in dodici paesi negli ultimi venti anni.

D'altra parte non ci sarebbe evidenza di cambiamenti nell'esposizione a fattori di rischio noti o dell'introduzione di nuovi fattori di rischio tali da giustificare l'importante aumento del tasso di incidenza del carcinoma tiroideo e, in particolare, del carcinoma papillare che è stato osservato negli ultimi anni [33].

## 2.2 FATTORI DI RISCHIO

In presenza di un nodulo tiroideo, fattori di rischio noti per neoplasia sono rappresentati dall'età, in particolare >65 anni [24], dal sesso maschile, dalla familiarità per neoplasie tiroidee e dalla pregressa irradiazione del collo in età infantile [34]. L'esposizione a radiazioni ionizzanti non sembra invece aumentare il rischio di neoplasia se avviene ad un'età superiore ai 20 anni [35].

Altri elementi che depongono a favore di una lesione maligna possono essere clinici come, ad esempio, la fissità del nodulo rispetto alle strutture adiacenti, la presenza di sintomi suggestivi di estensione extratiroidea o di linfadenopatia laterocervicale.

Un altro elemento predittivo importante di neoplasia è il TSH [4], [36].

Il rischio di malignità aumenta all'aumentare dei livelli di TSH, anche se questo rimane all'interno dell'intervallo di normalità, e valori più elevati di TSH sono associati ad una maggior probabilità di neoplasia e a malattia in stadio più avanzato. Dall'altro lato è stato osservato anche che il trattamento con Levotiroxina (LT4), riducendo il TSH, determina una riduzione del rischio di sviluppare un carcinoma tiroideo [4]. Il rischio di carcinoma papillare della tiroide è inoltre più basso in pazienti con gozzo multinodulare per la maggior prevalenza di autonomia funzionale e livelli di TSH conseguentemente più bassi [36].

Altri fattori di rischio ipotizzati sono il diabete mellito [37], [38], [39], l'obesità [40], [41], l'apporto iodico [42], [43], [44], i nitrati [45], [46], e la tiroidite di Hashimoto [47], ma i dati presenti in letteratura sono contrastanti.

## 2.3 CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA

Le neoplasie di origine delle cellule follicolari rappresentano la maggioranza delle neoplasie tiroidee (90%) e istologicamente si distinguono carcinomi ben differenziati, i più frequenti, che costituiscono circa il 95% di tutti i tumori follicolari, e scarsamente differenziati o anaplastici, che rappresentano il rimanente 5%. Al primo gruppo appartengono il carcinoma papillare (80%) e il carcinoma follicolare (10-15%) con le loro varianti.

Le principali varianti di carcinoma papillare sono la classica e la follicolare, forme più aggressive sono la variante a cellule alte e la sclerosante diffusa. A queste si aggiungono poi forme miste e varianti più rare.

Variante classica
Variante follicolare
Variante a cellule alte
Variante solida
Variante a cellule ossifile
Variante sclerosante diffusa
Variante a cellule colonnari
Variante Warthin's like

*Tabella 1. Varianti del carcinoma papillare*

## **2.4 CARATTERISTICHE MOLECOLARI**

Il carcinoma papillare presenta alterazioni molecolari caratteristiche che possono coinvolgere diversi protooncogeni responsabili della genesi tumorale. Queste alterazioni possono essere rappresentate da mutazioni che interessano i geni BRAF e RAS e da traslocazioni di RET e hanno come risultato la formazione di prodotti genici costitutivamente attivi in grado di stimolare la crescita e la proliferazione cellulare. Queste mutazioni sono mutuamente esclusive e hanno la peculiarità di interessare elementi appartenenti alla stessa via di trasduzione del segnale.

Negli ultimi anni, in particolare a partire dal 2000 si è assistito ad un incremento della proporzione di mutazioni puntiformi di RAS, legato ad un aumento di incidenza della variante follicolare del carcinoma papillare [24]. La prevalenza di mutazioni di BRAF è rimasta sostanzialmente stabile [24] e si è assistito ad una riduzione della frequenza di traslocazioni RET/PTC, la mutazione più correlata all'esposizione a radiazioni ionizzanti [48].

### **2.4.1 RET/PTC**

L'oncogene RET/PTC svolge un ruolo importante nella genesi di circa il 30% dei carcinomi papillari ed è la mutazione più comune nei tumori pediatrici e in quelli associati all'esposizione a radiazioni ionizzanti [49]. Sono noti diversi geni coinvolti nel riarrangiamento di RET ma, in ogni caso, il risultato è l'espressione di un recettore chimerico costitutivamente attivo che è probabilmente coinvolto nei primi steps della

genesì tumorale. Questa ipotesi è supportata dal fatto che c'è un'elevata prevalenza di traslocazioni di RET in carcinomi papillari di piccole dimensioni e che l'esposizione di linee cellulari a radiazioni ionizzanti porta all'espressione di RET/PTC [50].

#### **2.4.2 BRAF**

Raf è una serina-treonina chinasi presente in tre isoforme (A-Raf, B-Raf e C-Raf) che attiva la via di trasduzione del segnale delle MAPK in seguito alla sua attivazione da parte di RAS.

La mutazione di BRAF è l'alterazione genetica più frequente nel carcinoma papillare della tiroide ed è stata riportata in lesioni microscopiche. Questo suggerisce un suo ruolo nelle fasi precoci della tumorigenesi. Inoltre la mutazione di BRAF è associata ad una maggiore aggressività clinica, al rischio di estensione extratiroidea e ad uno stadio di malattia più avanzato [50].

#### **2.4.3 RAS**

Ras appartiene ad una classe di proteine con attività GTPasica, è presente in tre isoforme (NRAS, KRAS, HRAS) ed è coinvolta nella trasduzione del segnale nella via delle MAPK e di PI3K-AKT-mTOR.

La mutazione di RAS rappresenta la seconda mutazione più frequente nel carcinoma tiroideo e la prima nel carcinoma follicolare, ma è presente anche in circa il 20% dei carcinomi papillari [51]. Tuttavia le sue implicazioni cliniche e il suo significato prognostico rimangono poco chiari [51]. Alcuni studi tuttavia suggeriscono che alcuni sottogruppi di pazienti con mutazione di RAS possano essere a rischio di dedifferenziazione, metastasi a distanza e ridotta sopravvivenza [52].

## **3 IL MICROCARCINOMA PAPILLARE**

### **3.1 DEFINIZIONE E PREVALENZA**

Il microcarcinoma papillare della tiroide (microPTC) è definito dall'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) come un carcinoma papillare di dimensioni inferiori o uguali ad 1 cm nel suo diametro maggiore [53].

L'aumento di incidenza del carcinoma papillare negli ultimi anni è dovuto prevalentemente ad un aumentato riscontro di neoplasie di piccole dimensioni [24], che arrivano a rappresentare il 39% di tutti i carcinomi papillari [27].

La prevalenza autoptica del microcarcinoma, in soggetti deceduti per altre cause, varia in funzione del paese [54] e può arrivare fino al 35%, senza differenza di distribuzione nei due sessi [55] e con maggior prevalenza all'aumentare dell'età [56].

La prevalenza di microcarcinoma riscontrato occasionalmente all'ecografia del collo è arrivata a pareggiare la prevalenza autoptica [57].

### **3.2 PRESENTAZIONE**

Esistono due diverse modalità di presentazione del microcarcinoma; si parla di microcarcinoma incidentale quando la neoplasia viene identificata all'esame istologico post operatorio in pazienti sottoposti a chirurgia per patologia tiroidea benigna (per esempio per gozzo con sintomi da compressione). Nel caso in cui il

microcarcinoma venga invece identificato clinicamente, attraverso l'ecografia del collo e l'agoaspirato o per la presenza di tumefazioni linfonodali laterocervicali o linfonodi con aspetto ecografico sospetto, si parla di microcarcinoma non incidentale [57], [58]. Se queste due modalità di presentazione riflettano due entità cliniche diverse è ancora dibattuto.

Alcuni studi [58], [59], [60] evidenziano la diversa evolutività del microcarcinoma diagnosticato clinicamente rispetto alle forme identificate all'istologia. Il microcarcinoma non incidentale ha una maggiore tendenza alla progressione, può rendersi clinicamente manifesto per la presenza di localizzazioni linfonodali e ha un maggior rischio di recidiva loco-regionale, mentre il microcarcinoma incidentale ha un tasso di recidiva molto basso e una mortalità sostanzialmente assente. Queste considerazioni potrebbero avere un impatto nella gestione e nel trattamento di queste neoplasie.

### **3.3 CARATTERISTICHE MOLECOLARI DEL MICROCARCINOMA**

Diversi studi suggeriscono che non è presente una mutazione caratteristica nel microcarcinoma. In alcune casistiche riarrangiamenti RET/PTC sono stati identificati in una percentuale di microcarcinomi che si attesta attorno al 50% [61] e che è più alta rispetto alla frequenza con cui sono riscontrati in carcinomi di maggiori dimensioni, mentre mutazioni di BRAF sono state individuate in una percentuale compresa tra il 17,5% e il 52% a seconda degli studi [62]. Questo suggerisce un ruolo di queste mutazioni negli stadi iniziali del tumore papillare della tiroide.



In uno studio di Pontecorvi e collaboratori [63] è stato identificato un sottogruppo nell'ambito del microcarcinoma papillare caratterizzato da una maggiore aggressività clinica e dalla presenza di mutazione di BRAF. La ricerca della mutazione BRAF<sup>V600E</sup> potrebbe essere impiegata come marker prognostico e di aggressività del microcarcinoma [63], [64].

### **3.4 IMPATTO CLINICO E TERAPIA**

Le opzioni terapeutiche per il microcarcinoma papillare della tiroide prevedono il trattamento chirurgico o la sorveglianza attiva. Entrambe le scelte consentono gli stessi risultati dal punto di vista del controllo oncologico ma la chirurgia si associa al rischio di complicanze temporanee e, seppur più raramente, permanenti [54], [65].

Considerando il basso rischio di recidiva e la bassissima mortalità per microcarcinoma, appare ragionevole un approccio conservativo [65], anche se questo non sempre è accettato dal paziente per l'impatto psicologico della malattia.

In uno studio, Ito e collaboratori [66] hanno dimostrato la possibilità di un ottimale controllo oncologico in pazienti selezionati (che non presentavano ripetizioni linfonodali o a distanza, con neoplasia non adiacente alla trachea o al nervo laringeo ricorrente) attraverso la sorveglianza attiva. In un periodo di 10 anni il 27,5% dei pazienti ha mostrato una crescita superiore ai 2 mm e solo l'1,2% ha sviluppato metastasi linfonodali, necessitando quindi l'intervento chirurgico. Comunque, anche nei casi in cui la chirurgia è stata eseguita a distanza di tempo, il controllo oncologico è rimasto ottimo e paragonabile a quello ottenuto con chirurgia immediata [66].

Sulla base di queste considerazioni appare importante identificare i pazienti realmente a basso rischio che possano beneficiare quindi di un approccio conservativo.

## 4 RUOLO DEL TSH

### 4.1 AZIONE DEL TSH

Il TSH è il principale fattore coinvolto nel controllo della proliferazione dei tireociti. Il legame del TSH al suo recettore di membrana, attraverso l'attivazione di due vie di trasduzione del segnale, mediate da un lato da cAMP e, dall'altro, da inositolo 1,4,5-trifosfato e diacilglicerolo, determina una modulazione dell'espressione genica nella cellula follicolare. Questo si traduce in un aumento dell'uptake e dell'organificazione dello iodio, della produzione e secrezione ormonale e in uno stimolo alla proliferazione cellulare.

Studi su modelli animali sostengono che lo stimolo del TSH è coinvolto nello sviluppo di iperplasia delle cellule follicolari e di neoplasia.

Uno studio condotto su modello murino [67], in topi knock in per BRAF<sup>V600E</sup>, ha dimostrato che i tireociti BRAF mutati vanno incontro ad un processo di trasformazione neoplastica con breve periodo di latenza e ad un'alterazione della regolazione dei geni coinvolti nel trasporto dello iodio e nella sintesi degli ormoni tiroidei con sviluppo di ipotiroidismo. Questo determina un aumento dei livelli di TSH con conseguente stimolo alla proliferazione delle cellule trasformate. Questa osservazione è compatibile col fatto che nei carcinomi papillari BRAF mutati nell'uomo è stata riscontrata una ridotta espressione di tireoperossidasi, tireoglobulina e del trasportatore dello iodio (Nis; Na/I Symporter) [68].

L'importanza del TSH nello sviluppo del carcinoma papillare è stata poi valutata in topi BRAF mutati e knock out per il recettore del TSH [67]. È stato osservato che questi animali sviluppavano una neoplasia con fenotipo attenuato, caratterizzata da un indice mitotico più basso e da una minore aggressività. Questi risultati sono a sostegno dell'importanza dello stimolo proliferativo esercitato dal TSH nel determinare la progressione e le caratteristiche cliniche della lesione neoplastica.

Lo stesso risultato non è stato ottenuto con la terapia soppressiva con Levotiroxina iniziata poco dopo la nascita in topi knock in per BRAF ma wild type per il recettore del TSH [67]. In questo modello, nonostante la soppressione del TSH, si sono sviluppate neoplasie papillari che presentavano le stesse caratteristiche di aggressività osservate nei topi BRAF mutati a cui non era stata somministrata Levotiroxina. Questi risultati sembrano suggerire che il TSH abbia un ruolo importante nel determinare le caratteristiche della lesione andando ad agire nelle sue fasi iniziali di sviluppo.

Complessivamente vari dati sono a favore dell'importanza della via di trasduzione del segnale a valle del recettore del TSH nel determinare le caratteristiche di aggressività della neoplasia e nella progressione tumorale. Più difficile è valutare il suo ruolo nell'induzione del carcinoma tiroideo e nello sviluppo delle mutazioni caratteristiche a carico dei protooncogeni coinvolti nella via delle MAP chinasi. Alcune delle osservazioni fatte suggeriscono l'importanza dello stimolo del TSH fin dalle prime fasi di sviluppo della lesione e, forse, una sua azione nella trasformazione della cellula tiroidea, attraverso l'interazione con gli oncogeni BRAF e RAS [69].

## 4.2 IMPORTANZA CLINICA

In ambito clinico, numerosi studi hanno riportato l'evidenza di una correlazione tra rischio di malignità e livelli di TSH in pazienti con noduli tiroidei. In particolare, il rischio aumenta all'aumentare del TSH anche se questo rimane nei limiti di riferimento normali. Un TSH più elevato inoltre è più frequente in neoplasie di dimensioni maggiori e di stadio più avanzato e correla con il rischio di estensione extratiroidea [4], [70], [71]. Altri autori suggeriscono invece l'esistenza di una correlazione tra i livelli di TSH e lo stadio di malattia ma non hanno evidenziato differenze in funzione delle dimensioni del nodulo. Hanno invece riportato differenze nei valori di TSH in presenza di estensione extratiroidea e localizzazione linfonodale ma non è stata raggiunta la significatività statistica [72].

Zafon e i suoi collaboratori [73] hanno valutato i livelli preoperatori di TSH in pazienti operati per noduli tiroidei che sono stati successivamente suddivisi in tre gruppi sulla base dell'istologia (noduli benigni, microcarcinoma papillare e carcinoma papillare di maggiori dimensioni). È stato messo in evidenza che i valori medi di TSH crescono progressivamente nei tre gruppi, ma una differenza statisticamente significativa è stata riscontrata solo tra il gruppo con patologia benigna e macrocarcinoma papillare.

E' stato inoltre osservato che la presenza di autonomia tiroidea in pazienti con gozzo multinodulare, determinando una riduzione del TSH, si associa ad un ridotto rischio di carcinoma papillare [36]. Allo stesso modo la terapia con Levotiroxina, riducendo

i livelli di TSH, si associa ad una ridotta incidenza di carcinoma papillare. Questo è stato osservato in uno studio di Fiore e collaboratori [74] in cui sono stati confrontati i valori di TSH e la prevalenza di lesioni neoplastiche in due gruppi di pazienti con noduli tiroidei; il gruppo in trattamento con Levotiroxina presentava un TSH significativamente più basso rispetto al controllo e questo si associava ad una prevalenza di carcinoma papillare minore rispetto al gruppo non trattato.

### **4.3 TSH E MICROCARCINOMA**

La relazione tra microcarcinoma papillare e TSH rimane invece incerta e diversi studi al riguardo riportano risultati contrastanti; in uno studio di Gerschpacher e collaboratori non sono stati riscontrati livelli di TSH significativamente diversi tra pazienti operati per microcarcinoma papillare e gruppo di controllo, costituito da pazienti sottoposti a chirurgia per carcinoma midollare della tiroide o iperplasia a cellule C [75]. In un lavoro di Sohn e collaboratori [76] è stato invece evidenziato un ruolo del TSH nel predire il rischio di neoplasia in pazienti con micronoduli. I pazienti con microcarcinoma presentavano infatti livelli sierici di TSH più alti rispetto ai pazienti con micronoduli benigni, fatto che suggerisce che il TSH sia almeno parzialmente coinvolto, insieme ad altri fattori, nello sviluppo e/o progressione del carcinoma papillare fin dalle fasi iniziali.

In uno studio Negro e collaboratori [77] hanno valutato il possibile ruolo del TSH nell'iniziazione della neoplasia confrontandone i valori preoperatori in due gruppi di pazienti sottoposti a tiroidectomia che avevano ricevuto diagnosi istologica di noduli benigni e di microcarcinoma papillare incidentale. In questo studio non sono emerse

differenze significative tra i due gruppi, fatto che farebbe ipotizzare un ruolo del TSH nella progressione della neoplasia, piuttosto che nella sua iniziazione.

In un lavoro di Sugitani e collaboratori [78] è stato quindi valutato il ruolo del TSH come fattore predittivo di progressione nel microcarcinoma papillare. Una serie di pazienti con microcarcinoma non incidentale è stata sottoposta ad osservazione e sono stati considerati i valori iniziali di TSH e i suoi valori medi negli anni di follow up per valutare la presenza di una correlazione con la crescita tumorale. In questo studio non sono state dimostrate differenze significative nei livelli di TSH tra i pazienti che avevano mostrato stabilità di malattia e i pazienti in cui la neoplasia era aumentata di dimensioni. Il TSH non si era quindi rivelato un buon predittore di progressione in pazienti con microcarcinoma.

Dati recenti invece [79] identificano il TSH fra i fattori di rischio indipendenti per la presenza di metastasi linfonodali in pazienti con microcarcinoma. Questi risultati sono a favore dell'ipotesi del ruolo del TSH nella progressione della neoplasia e nella determinazione della sua aggressività e sono stati confermati da altri lavori [80].

Nell'insieme i risultati riportati in letteratura sono sostanzialmente contrastanti, questo potrebbe dipendere dal fatto che vari lavori non valutano separatamente il ruolo del TSH nelle forme incidentali e non incidentali di microcarcinoma.

## **5 STUDIO**

### **5.1 OBIETTIVI**

Lo scopo di questo studio è quello di confrontare gli aspetti clinici ed istologici delle due modalità di presentazione del microcarcinoma, così come di valutare i livelli sierici di TSH nei due gruppi al fine di chiarire se possa avere un ruolo nel determinarne le caratteristiche.

### **5.2 PAZIENTI E METODI**

#### **5.2.1 Disegno dello studio**

Si tratta di uno studio prospettico in cui sono stati valutati la presentazione clinica, l'istologia e i livelli sierici di TSH in pazienti sottoposti a tiroidectomia.

#### **5.2.2 Popolazione**

Sono stati inclusi 665 pazienti consecutivi sottoposti a chirurgia tiroidea nel periodo compreso tra marzo 2013 e marzo 2014 per la presenza di gozzo nodulare con sintomi compressivi o di noduli con citologia indeterminata, sospetta o indicativa di neoplasia. Di questi pazienti 202 erano uomini e 463 donne e l'età media era di



50,1±13,8 anni. 259 pazienti si presentavano con nodulo singolo e 406 con noduli multipli.

### **5.2.3 Criteri di Inclusione**

Sono stati inclusi solo pazienti di cui sono disponibili tutti i dati clinici, in particolare quelli riguardanti pregresse terapie e l'eventuale uso di farmaci che influenzano i livelli di TSH. Tutti i pazienti sono stati sottoposti alle stesse procedure diagnostiche prima dell'intervento.

### **5.2.4 Criteri di Esclusione**

Uno degli scopi dello studio è valutare il ruolo del TSH nel microcarcinoma papillare, per questo sono stati esclusi pazienti in terapia con Levotiroxina, Metimazolo o farmaci che possono influenzare i livelli di TSH, come i corticosteroidi. Sono stati esclusi pazienti con Malattia di Graves, con tumore non papillare della tiroide (per esempio carcinoma follicolare, anaplastico, linfoma) e pazienti con elevati livelli di calcitonina per il sospetto di carcinoma midollare.

### 5.2.5 Procedure Diagnostiche

Prima dell'intervento sono stati eseguiti:

- Ecografia tiroidea
- Scintigrafia Tc-99m-pertecnetato nei pazienti con TSH sierico inferiore a 0,4 mUI/L
- Agoaspirato (FNAB) dei noduli freddi dominanti in pazienti con gozzo multinodulare, dei noduli freddi singoli di dimensioni maggiori o uguali ad 1 cm e di quelli inferiori ad 1 cm in presenza di caratteristiche ecografiche di sospetto (per esempio microcalcificazioni, margini irregolari e ipoecogenicità marcata).
- Dosaggio di TSH, FT3, FT4, autoanticorpi anti-tireoperossidasi e anti-tireoglobulina (TPOAb e TgAb) e calcitonina.

All'ecografia è stato determinato il volume tiroideo e valutata la presenza di noduli.

Il volume è stato calcolato secondo la formula del modello ellissoide: larghezza x lunghezza x spessore x 0.52 per ogni lobo. Un volume tiroideo superiore a 20 mL negli uomini e a 15 mL nelle donne è stato considerato gozzo [81].

I pazienti sono stati suddivisi sulla base dei dati clinici ed ecografici; i pazienti che avevano noduli multipli erano 406 e di questi 335 si presentavano con gozzo e 71 senza gozzo.

I pazienti con nodulo tiroideo singolo erano 259 e, di questi, 122 avevano tiroide di dimensioni normali mentre 137 avevano il gozzo.

	Con gozzo	Senza gozzo	<b>Totale</b>
Nodulo singolo	137	122	<b>259</b>
Noduli multipli	335	71	<b>406</b>
<b>Totale</b>	<b>472</b>	<b>193</b>	<b>665</b>

*Tabella 2. Pazienti inclusi nello studio.*

### **5.2.6 Indicazioni chirurgiche**

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a tiroidectomia totale. La dissezione dei linfonodi del collo è stata eseguita solo nei pazienti con linfonodi sospetti all'ecografia prima della chirurgia.

Dei 335 pazienti con gozzo multinodulare, 141 sono stati inviati alla tiroidectomia per la presenza di sintomi da compressione, 143 per la presenza di uno o più noduli con citologia indeterminata (TIR3), 51 per citologia sospetta o indicativa di neoplasia (TIR4/5).

Nel gruppo di pazienti con più noduli in assenza di gozzo l'indicazione alla chirurgia è stata posta per la presenza di citologia TIR3 in 41 pazienti, TIR4/5 in altri 29. In questo gruppo un paziente è stato sottoposto a chirurgia per un nodulo clinicamente

sospetto, con citologia non diagnostica (TIR1), aumentato di dimensioni durante il periodo di follow up.

Dei 137 pazienti con nodulo singolo e gozzo 31 sono stati sottoposti a chirurgia per la presenza di noduli voluminosi con sintomi da compressione, 77 per noduli con citologia TIR3 e 29 per citologia TIR4 o TIR5.

Nel gruppo con nodulo singolo in tiroide di dimensioni normali 72 pazienti presentavano citologia TIR3 e 50 pazienti TIR 4/5.

Le indicazioni sono riassunte nella tabella.

	DIMENSIONI DEL GOZZO (presenza di sintomi da compressione)	CITOLOGIA		
		TIR1	TIR3	TIR4/5
Gozzo multinodulare (335)	141	0	143	51
Noduli multipli senza gozzo (71)	0	1	41	29
Nodulo singolo con gozzo (137)	31	0	77	29
Nodulo singolo senza gozzo (122)	0	0	72	50

*Tabella 3. Indicazioni chirurgiche.*

### **5.2.7 Esami di funzionalità tiroidea**

I livelli sierici di tetraiodotironina (FT4) e triiodotironina libere (FT3) sono stati misurati con dosaggio immunologico in chemoluminescenza (VITROS 3600, Siemens, Buckinghamshire, UK); FT4 valori normali: 0,7 - 1,7 ng/dl, FT3 valori normali: 2,7 - 5,7 pg/ml.

I livelli di TSH sono stati misurati con saggio immunologico in chemoluminescenza (IMMULITE 2000 terza generazione, DPC 5700 Los Angeles, USA), sono stati considerati valori normali 0,4 - 3,4 mUI/L.

Gli autoanticorpi TgAb e TPOAb sono stati misurati con saggio immunoenzimatico (AIA-Pack Tosoh, Tokyo, Japan). Valori normali: TgAb<30 UI/ml, TPOAb<10 UI/ml

La calcitonina è stata determinata con dosaggio immunologico in chemoluminescenza (IMMULITE 2000, Siemens Healthcare, Llanberis, Gwynedd LL55 4EL, UK), valori normali <10 pg/ml.

### **5.2.8 Agoaspirato ed esame citologico**

L'agoaspirato è stato eseguito sotto guida ecografica con ago 23 gauge su siringa da 10 ml. Il materiale è stato colorato con colorazione di Papanicolaou e Giemsa. I risultati dell'esame citologico sono stati classificati secondo i criteri Italian Consensus for the classification and reporting of thyroid cytology [20].

### **5.2.9 Esame istologico**

I pezzi operatori sono stati descritti nelle loro caratteristiche macroscopiche (peso, forma, colore e superficie di taglio) e campionati per l'esame istologico da due patologi indipendenti. È stata campionata l'intera circonferenza dei noduli e sono stati prelevati campioni per ogni centimetro di parenchima extranodulare. I campioni di tessuto tiroideo sono stati fissati in formalina, inclusi in paraffina e colorati con ematossilina e eosina. La diagnosi istologica è stata fatta in accordo con le linee guida WHO [53].

## **5.3 ANALISI STATISTICA**

Le variabili non parametriche sono state descritte per frequenza assoluta e relativa mentre i dati quantitativi sono stati definiti attraverso la mediana e l'intervallo interquartile (interquartile range, IQR).

La distribuzione delle variabili quantitative continue è stata valutata attraverso il test di Kolmogorov-Smirnov. Per i dati quantitativi sono stati utilizzati il test di Mann-Whitney a due code ed il test di Kruskal-Wallis mentre per le variabili qualitative è stato usato il test del Chi-Quadrato. Le differenze sono state considerate significative con  $p < 0,05$ . L'analisi statistica è stata svolta con software JMP 10.

## 5.4 RISULTATI

### 5.4.1 Gruppi di studio

In funzione delle caratteristiche ecografiche, cliniche, della citologia e dell'istologia i pazienti sono stati suddivisi in quattro gruppi:

1. Pazienti con microcarcinoma papillare incidentale (n=92) identificato all'esame istologico. In questo gruppo i pazienti erano stati inviati alla chirurgia per gozzo multinodulare con sintomi da compressione e/o per noduli (unici o multipli) con citologia indeterminata che avevano poi ricevuto diagnosi istologica definitiva di noduli benigni. In questi pazienti il microcarcinoma è stato riscontrato nel parenchima extranodulare.
2. Pazienti con microcarcinoma papillare non incidentale (n=67), diagnosticato prima della chirurgia in pazienti con noduli di piccole dimensioni, identificati occasionalmente all'ecografia e sottoposti ad agoaspirato per la presenza di segni ecografici di sospetto.
3. Pazienti con carcinoma papillare di dimensioni superiori ad 1 cm (macrocarcinoma papillare, n=215).
4. Pazienti con noduli benigni (n=291).

Il microcarcinoma incidentale è risultato significativamente più frequente in pazienti con ghiandole multinodulari rispetto a pazienti con nodulo unico; è stato riscontrato in 66 su 406 pazienti (corrispondenti al 16,2%) con noduli multipli e nel parenchima extranodulare di 26 su 259 pazienti (10%,  $p=0,02$ ) con nodulo singolo.

Dall'altro lato il microcarcinoma papillare non incidentale era più frequente in pazienti con nodulo singolo; è stato infatti identificato in 33 su 259 pazienti con nodulo unico (12,7%) e in 34 su 406 con noduli multipli (8,4%,  $p=0,04$ ).

Sono state evidenziate delle differenze nella distribuzione per età in quanto i pazienti con microcarcinoma papillare incidentale erano significativamente più anziani rispetto a quelli con microcarcinoma non incidentale con un'età media e una deviazione standard rispettivamente di  $53,3\pm 13,2$  anni e  $44,9\pm 14,8$  anni ( $p=0,0002$ ).

L'età non era invece significativamente diversa tra i pazienti con microcarcinoma incidentale e i pazienti con noduli benigni ( $51,8\pm 12,7$  anni), né tra quelli con microcarcinoma non incidentale e con carcinoma di dimensioni superiori al centimetro ( $46,7\pm 14,8$  anni).

Non erano presenti differenze tra i due sessi sebbene le donne fossero prevalenti in tutti i gruppi.

Non sono state trovate differenze statisticamente significative nella frequenza di positività per gli autoanticorpi tiroidei nei 4 gruppi.



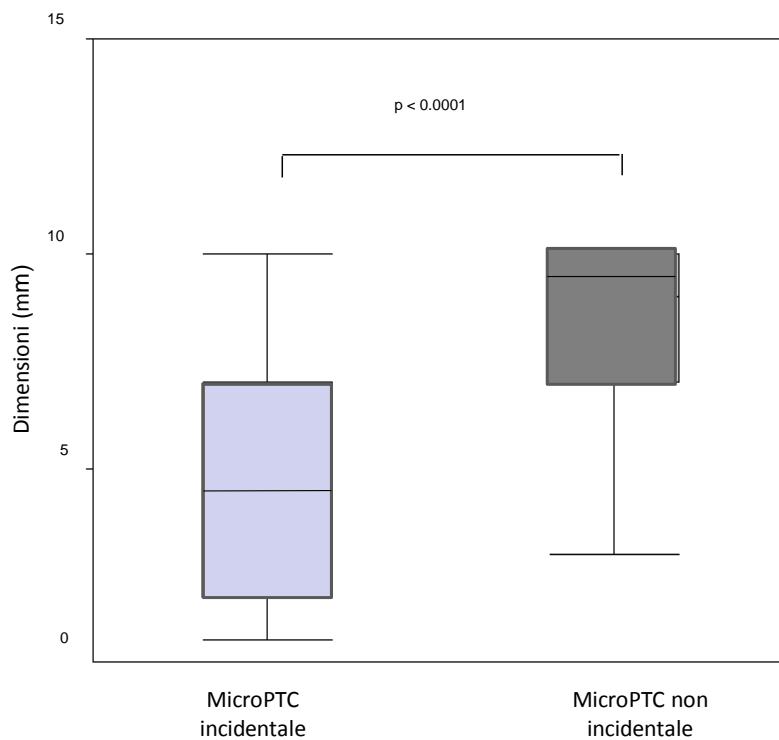
Caratteristiche ghiandolari		Istologia			
		Microcarcinoma incidentale	Microcarcinoma non incidentale	Macrocarcinoma	Noduli Benigni
Noduli Multipli	Con gozzo (335)	59	14	90	172
	Senza gozzo (71)	7	20	22	22
	Totale (406)	66	34	112	194
Nodulo Singolo	Con gozzo (137)	13	6	53	65
	Senza gozzo (122)	13	27	50	32
	Totale (259)	26	33	103	97
<b>Totale</b>	<b>Totale (665)</b>	<b>92</b>	<b>67</b>	<b>215</b>	<b>291</b>

*Tabella 4. Classificazione dei pazienti in base all'aspetto ecografico e all'istologia.*

#### **5.4.2 Dimensioni della neoplasia e localizzazioni linfonodali**

I microcarcinomi incidentali erano significativamente più piccoli, con un diametro mediano di 4 mm (IQR 2-7 mm) rispetto ai non incidentali (9 mm con IQR 7-10 mm,

Mann Whitney  $p < 0,0001$ ). La dimensione mediana dei macrocarcinomi era 19 mm (IQR 15-30 mm).



*Figura 1. Distribuzione delle dimensioni dei microcarcinomi incidentali e non incidentali*

La linfadenectomia è stata eseguita solo nei pazienti con linfonodi sospetti all'ecografia. Metastasi linfonodali sono state riscontrate all'istologia in 17/67 (25,4%) pazienti con microcarcinoma non incidentale e in nessun paziente su 92 con microcarcinoma incidentale ( $\chi^2$   $p < 0,0001$ ). La frequenza di localizzazioni linfonodali in pazienti con microcarcinoma non incidentale non differiva significativamente da quella dei soggetti con carcinoma di dimensioni superiori al centimetro (42/215, 19,5%,  $p = ns$ ).

### 5.4.3 Varianti istologiche

Un totale di 374 pazienti presentava micro o macrocarcinoma. Di questi, 285 (76,2%) avevano varianti meno aggressive, in particolare la variante classica è stata riscontrata in 119 casi e la follicolare in 166. Varianti più aggressive sono state riscontrate in 89 pazienti (23,7%): in 32 casi si trattava della variante a cellule alte, in 5 della solida e in 52 di forme miste.

La tabella 5 riporta la frequenza delle diverse varianti nei vari gruppi di pazienti.

	<b>Microcarcinoma papillare incidentale (92)</b>	<b>Microcarcinoma papillare non incidentale (67)</b>	<b>Macrocarcinoma papillare (215)</b>
<b>Varianti meno aggressive (a) (tot = 285)</b>	81 (88.1%)	49 (73.1%)	155 (72.1%)
<b>Varianti più aggressive (b) (tot = 89)</b>	11 (11.9%)	18 (26.9%)	60 (27.9%)

Tabella 5. Varianti istologiche.

a) Varianti meno aggressive: classica e follicolare

b) Varianti più aggressive: a cellule alte, solida e mista

È stato osservato che le varianti più aggressive avevano una frequenza maggiore nei microcarcinomi non incidentali (18/67, 26,9%) rispetto agli incidentali (11/92, 11.9%;  $\chi^2$  p=0,016) mentre non sono state evidenziate differenze statisticamente

significative nelle frequenze osservate tra microcarcinoma non incidentale e macrocarcinoma (60/215, 27,9%).

#### 5.4.4 Multifocalità

La presenza di focolai multipli di neoplasia è stata riscontrata in 192 casi, corrispondenti al 51,3% dei pazienti con carcinoma.

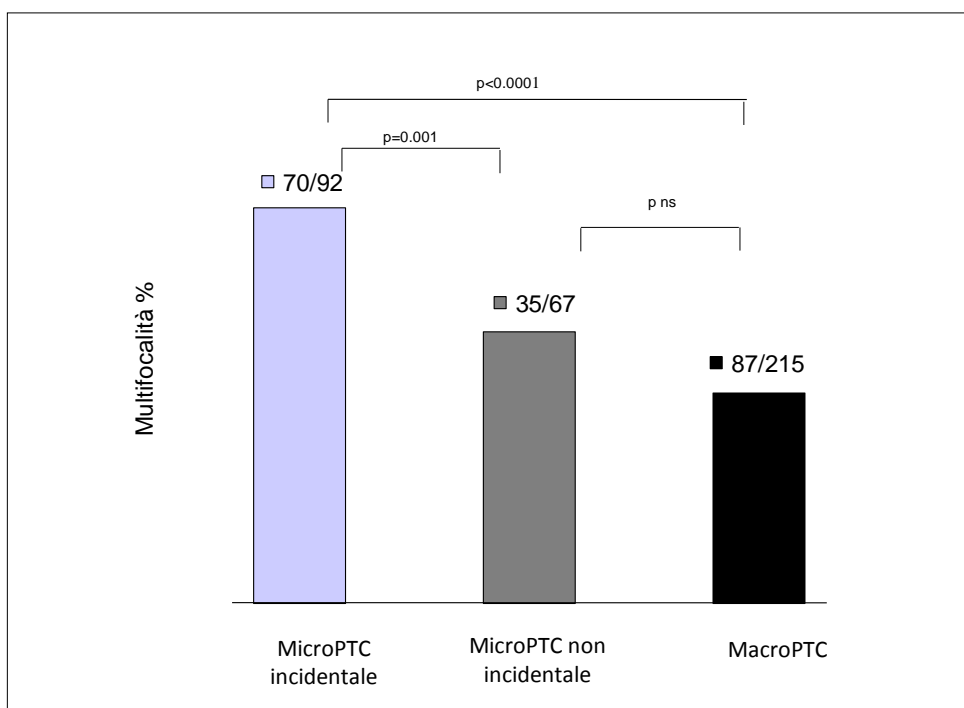


Figura 2. Frequenza di multifocalità.

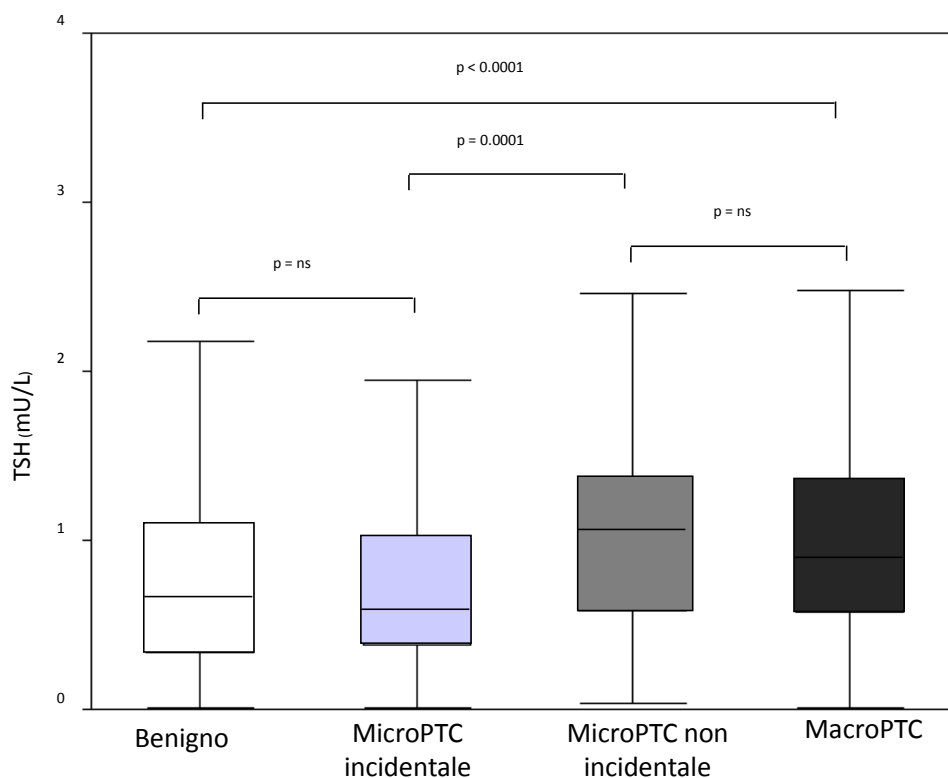
La multifocalità, come evidenziato in figura, era più frequente nei microcarcinomi incidentali rispetto agli altri due gruppi. È stata infatti riscontrata in 70 casi su 92 forme incidentali (76,1%), mentre era presente in 35 dei 67 microcarcinomi non incidentali (52,2%,  $p=0.001$ ) e in 87 dei 215 macrocarcinomi (40,5%,  $p<0,0001$ ). Non sono state osservate differenze significative tra microcarcinoma non incidentale e macrocarcinoma.

Inoltre la frequenza di più focolai neoplastici era maggiore nei pazienti con noduli multipli, essendo presente in 121 dei 212 con tiroide multinodulare (corrispondenti al 57,1%) rispetto ai 71 su 162 pazienti con nodulo singolo (43,8%,  $p=0,01$ ).

Non è stata invece osservata una differenza significativa tra i pazienti con noduli multipli con e senza gozzo (91/163, 55,8% contro 30/49, 61,2%) né tra pazienti con e senza gozzo con nodulo singolo (34/72, 47,2% contro 37/90, 41,1%).

#### **5.4.5 TSH**

Tutti i pazienti avevano normale funzionalità tiroidea con valori di FT3 e FT4 nei range di riferimento. Il valore mediano di TSH dell'intero gruppo era 0,8 mUI/L con IQR 0,5-1,2 mUI/L.

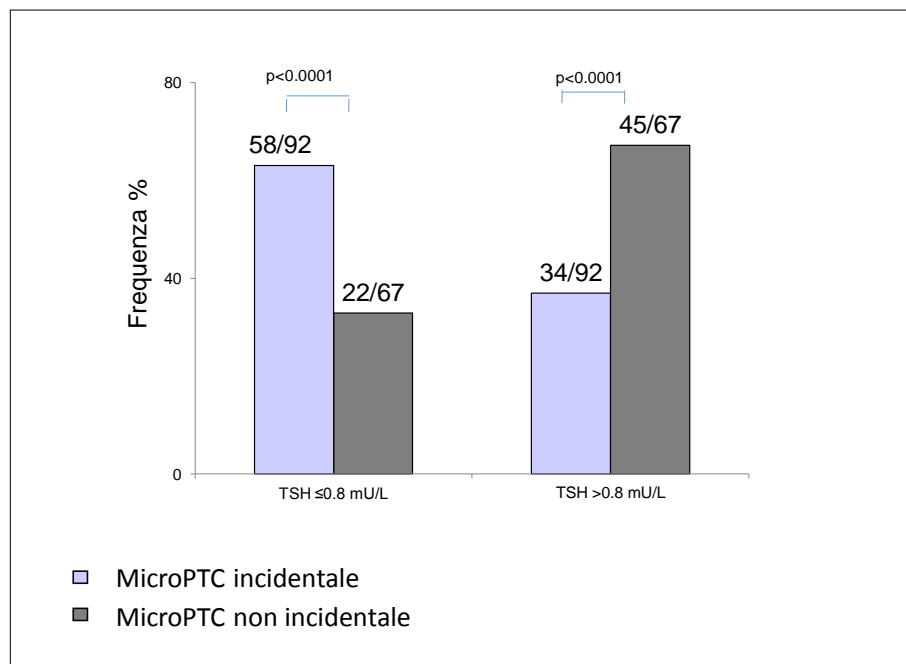


*Figura 3. Livelli sierici di TSH. Sono riportati il valore mediano e l'intervallo interquartile per i quattro gruppi di pazienti.*

Come riportato in figura, il TSH era significativamente più alto nel gruppo con microcarcinoma papillare non incidentale rispetto all'incidentale (1,1 mUI/L, IQR 0,6-1,4 mUI/L rispetto a 0,6 mUI/L, IQR 0,4-1,0 mUI/L, Mann Whitney  $p=0,0001$ ) e nel gruppo con macrocarcinoma rispetto a quello con noduli benigni (0,9 mUI/L, IQR 0,6-1,4 mUI/L contro 0,7 mUI/L, IR 0,3-1,1 mUI/L, Mann Whitney  $p<0,0001$ ). Non sono state osservate differenze significative nei livelli di TSH nel confronto tra

i pazienti con microcarcinoma incidentale e con noduli benigni né tra i pazienti con microcarcinoma non incidentale e con carcinoma di maggiori dimensioni.

I pazienti sono stati quindi suddivisi in funzione del valore mediano di TSH (0,8 mUI/L);



*Figura 4. Frequenza di microcarcinoma incidentale e non incidentale in funzione dei valori di TSH.*

Come mostrato in Figura è stato osservato che il microcarcinoma incidentale era significativamente più frequente rispetto al non incidentale tra i pazienti con TSH ≤0,8 mUI/L (58/92, 63.0% contro 22/67, 32.8%,  $p < 0,0001$ ).

Dei 92 pazienti con microcarcinoma incidentale 58 avevano un TSH inferiore al valore mediano mentre questo era vero solo per 22 su 67 pazienti con forma non incidentale (63% rispetto a 32,8%,  $p < 0,0001$ ).

Nei pazienti con TSH  $> 0,8$  mUI/L il microcarcinoma non incidentale era invece più frequente dell'incidentale. Infatti 45 su 67 pazienti con microcarcinoma non incidentale (67,1%) avevano valori di TSH superiori a 0,8 mUI/L rispetto a 34 su 92 con microcarcinoma incidentale (67,1% rispetto a 36,9%,  $p < 0,0001$ ).

I livelli di TSH erano inoltre più bassi nei pazienti con noduli multipli rispetto ai pazienti con nodulo singolo (mediana 0,6 mUI/L, IQR 0,3-1,1 mUI/L contro 0,9 mUI/L, IQR 0,6-1,5 mUI/L, Mann Whitney,  $p < 0,0001$ ) come conseguenza dello sviluppo di autonomia funzionale nel primo gruppo.

Il microcarcinoma incidentale era quindi più frequente nel gruppo di pazienti con ghiandola multinodulare che aveva un TSH più basso, mentre il non incidentale più spesso si presentava come nodulo singolo associato a livelli di TSH più alti.



## 6 DISCUSSIONE

Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento di incidenza del carcinoma papillare della tiroide, con un peso importante delle neoplasie di piccole dimensioni [24]. Si tratta più probabilmente non di un aumento reale di incidenza quanto di un effetto dovuto prevalentemente all'individuazione di forme subcliniche. Questo è stato possibile grazie ad un'augmentata sensibilità diagnostica, legata all'introduzione e all'ampio uso della metodica ecografica e dell'agoaspirato [32], [33] e alla diversa gestione del nodulo tiroideo [24].

Tuttavia, il beneficio clinico della diagnosi di neoplasie di piccole dimensioni, che comunque hanno ottima prognosi e bassa mortalità, deve essere bilanciato con i rischi del trattamento. Alcuni autori sostengono infatti che il trattamento precoce di lesioni subcentimetriche comporta il rischio di un'eccessiva aggressività terapeutica, considerando che il microcarcinoma è ritenuto da molti un'entità generalmente non progressiva. Questi ultimi propongono un approccio conservativo basato sul follow up [57], [65], [66].

Il rischio di recidiva e di morte per microcarcinoma è, rispettivamente, del 3,3% e dello 0,2% [57]. Questo dipende dal fatto che numerosi fattori di rischio per recidiva, come l'estensione extratiroidea, le metastasi linfonodali e a distanza dipendono almeno in parte dalla dimensione della neoplasia primitiva e configurano quindi un basso rischio nel microcarcinoma [82]. In uno studio di Oda e collaboratori [65] sono state confrontate le due strategie terapeutiche, l'osservazione e la chirurgia, ed è stato

osservato che entrambe hanno dei risultati paragonabili da un punto di vista del controllo oncologico. Nel gruppo sottoposto ad osservazione è stato riportato un aumento significativo delle dimensioni della lesione nel 2,3% e la comparsa di metastasi linfonodali in solo lo 0,5% dei pazienti.

Tuttavia molti studi non distinguono tra microcarcinoma incidentale e non incidentale; in alcuni casi è stato riportato un tasso più alto di multifocalità, invasione locale e metastasi linfonodali nel caso di microcarcinoma non incidentale rispetto all'incidentale e sono stati ricercati fattori che permettano la stratificazione del rischio di recidiva [83]. In altri casi non sono state evidenziate differenze cliniche tra le due forme [84]. Rimane quindi da chiarire se il microcarcinoma incidentale e non incidentale riflettano la stessa patologia o se si tratti di due entità distinte a patogenesi diversa [60].

Nel nostro studio sono state osservate differenze cliniche ed istologiche tra microcarcinoma incidentale e non incidentale.

Il primo è più frequente in soggetti più anziani e con gozzo multinodulare mentre il secondo ha delle caratteristiche che lo avvicinano di più al carcinoma papillare di maggiori dimensioni. Il microcarcinoma non incidentale, infatti, era riscontrato più frequentemente in soggetti più giovani e si presentava come nodulo singolo, era mediamente di dimensioni maggiori (9 mm, IQR 7-10 rispetto a 4 mm, IQR 2-7 mm; Mann-Whitney  $p < 0,0001$ ) ed associato ad una frequenza di metastasi linfonodali maggiore (25% contro 0% nelle forme incidentali) e simile a quella del macrocarcinoma. Varianti istologiche più aggressive erano più frequenti in caso di

microcarcinoma non incidentale (18/67, 26,9%), rispetto all'incidentale (11/92, 11,9%;  $\chi^2$  p=0,016).

In pazienti con patologia nodulare della tiroide, i livelli sierici di TSH correlano con il rischio di carcinoma papillare, con un aumento di quest'ultimo all'aumentare del TSH [4], [80]. I livelli di TSH sono significativamente più alti in pazienti con macrocarcinoma rispetto a pazienti con noduli benigni [73]. Questo dato è stato confermato anche nel nostro studio, in cui i pazienti con macrocarcinoma avevano livelli di TSH significativamente più alti rispetto ai pazienti con patologia nodulare benigna (0,9 mUI/L, IQR 0,6-1,4 mUI/L contro 0,7 mUI/L, IQR 0,3-1,1 mUI/L, Mann-Whitney p < 0,0001). Tuttavia i dati presenti in letteratura sono contrastanti per quanto riguarda la relazione tra TSH e microcarcinoma [73], [75], [76] forse in relazione al fatto che gli studi pubblicati non distinguono tra microcarcinoma incidentale e diagnosticato clinicamente.

Uno degli obiettivi di questo studio era di valutare la relazione tra microcarcinoma nelle sue due modalità di presentazione e i livelli di TSH.

È stato osservato che il TSH era significativamente più basso in caso di microcarcinoma incidentale rispetto al non incidentale (0,6 mUI/L, IQR 0,4-1,0 mUI/L rispetto a 1,1 mUI/L, IQR 0,6-1,4 mUI/L). Non sono state invece riportate differenze significative nei valori di TSH tra il gruppo con microcarcinoma incidentale e quello con patologia nodulare benigna né tra i pazienti microcarcinoma non incidentale e quelli con macrocarcinoma.

Se si considera il valore mediano di TSH in questa serie di pazienti (0,8 mUI/L) si vede che per valori minori o uguali la frequenza di microcarcinoma incidentale è

maggiore rispetto a quella del non incidentale. Dall'altro lato, in pazienti con valori  $>0,8$  mUI/L il microcarcinoma non incidentale ha una maggiore prevalenza rispetto all'incidentale.

Questa osservazione sostiene l'ipotesi della sua importanza nella progressione di malattia e nella presentazione delle lesioni di piccole dimensioni. Il TSH è il principale fattore coinvolto nel controllo della proliferazione dei tireociti ed è un importante fattore di crescita nei carcinomi differenziati della tiroide. Anche se nell'ambito dei suoi valori normali, esercitando uno stimolo proliferativo sul focolaio neoplastico, potrebbe essere responsabile della manifestazione clinica del microcarcinoma non incidentale e potrebbe determinarne le caratteristiche di aggressività ed evolutività, rendendolo più simile alle forme di macrocarcinoma. Nel caso delle forme incidentali invece più frequentemente il TSH è ai limiti bassi della norma e questo fatto potrebbe prevenire la progressione della lesione neoplastica per la ridotta stimolazione della stessa. D'altra parte il microcarcinoma incidentale si riscontra più frequentemente nei pazienti con gozzo multinodulare che nella sua storia naturale progressivamente acquisisce la capacità di secernere ormoni tiroidei indipendentemente dalla regolazione da parte del TSH. Questa condizione viene definita di autonomia funzionale ed è caratterizzata dal riscontro di livelli sierici di TSH ridotto in presenza di normali valori di ormoni tiroidei. Lo sviluppo dell'autonomia funzionale, riducendo i livelli di TSH, potrebbe rallentare l'evoluzione del carcinoma papillare.

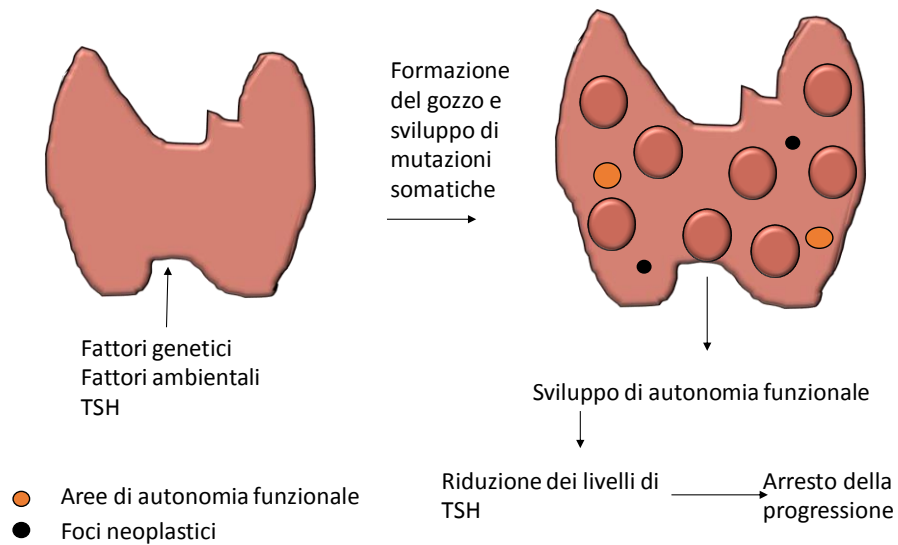
In questo studio è stata inoltre osservata una maggiore frequenza di multifocalità nel microcarcinoma incidentale rispetto al non incidentale (76,1% rispetto a 52,2%,

$p=0,001$ ). Questo dato è in contrasto con alcuni risultati riportati in letteratura che sostengono una maggiore prevalenza di focolai multipli in caso di microcarcinoma non incidentale [58]. Tuttavia un più recente studio di Y.K. So non conferma questi risultati, riportando una più alta frequenza di multifocalità nella forma incidentale [85].

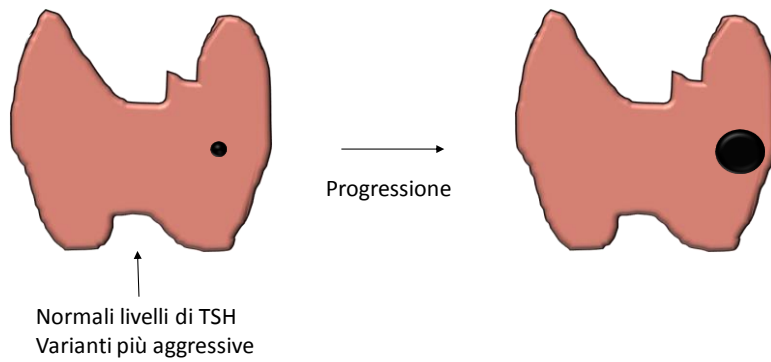
Un'ipotesi che potrebbe spiegare questo fenomeno prende in considerazione la patogenesi del gozzo multinodulare che è anche il contesto clinico in cui più frequentemente si presenta il microcarcinoma incidentale. I fattori genetici e ambientali che contribuiscono alla genesi del gozzo multinodulare possono favorire lo sviluppo di mutazioni somatiche nelle cellule follicolari e l'iniziazione del processo neoplastico con formazione di più foci di carcinoma papillare. In questo contesto sarebbe determinante la stimolazione da parte del TSH che tende ad aumentare in caso di carenza iodica e che può favorire lo sviluppo di mutazioni somatiche, da un lato, aumentando l'attività proliferativa dei tireociti e, dall'altro, stimolandone l'attività funzionale. La produzione di ormoni tiroidei si associa, infatti, alla produzione di perossido di idrogeno [86], indispensabile per l'ossidazione dell'anione ioduro per la sua successiva organificazione. La stimolazione della sintesi ormonale si accompagna quindi ad un'aumentata formazione di intermedi reattivi dell'ossigeno (ROS= *Reactive Oxygen Species*) con maggior rischio di danno al DNA e di induzione del processo neoplastico, che potrà avvenire in più foci. In questa situazione possono verificarsi anche mutazioni attivanti del recettore del TSH o della subunità  $\alpha$  della proteina Gs, che sono responsabili dello sviluppo di autonomia funzionale del nodulo, e che sono comuni nel gozzo multinodulare [87]. L'autonomia

funzionale del gozzo, riducendo i livelli di TSH, potrebbe essere responsabile di un rallentamento della progressione tumorale dei multipli foci di carcinoma papillare, prevenendone così lo sviluppo in carcinoma clinicamente evidente.

Nel caso del nodulo singolo, invece, la probabilità di iniziazione del processo neoplastico è più bassa, ma, non essendoci autonomia funzionale, saranno presenti livelli più alti, anche se normali, di TSH che possono favorire la progressione di carcinomi papillari di piccole dimensioni. Queste forme non incidentali mostreranno delle caratteristiche che le avvicinano al macrocarcinoma e che potrebbero dipendere dalla presenza dello stimolo del TSH. Anche la maggior frequenza di varianti istologiche più aggressive nel microcarcinoma non incidentale, insieme al TSH, potrebbe contribuire a determinare la crescita più rapida, le dimensioni maggiori e la maggior frequenza di metastasi linfonodali rispetto alle forme incidentali.



*Figura 5. Ruolo del TSH nel microcarcinoma incidentale. Una combinazione di fattori genetici e ambientali, tra cui la carenza iodica, è coinvolta nella genesi del gozzo multinodulare. Inizialmente una normale sintesi ormonale viene mantenuta con livelli di TSH più alti che favoriscono la proliferazione cellulare, lo sviluppo di mutazioni somatiche e l'induzione del processo neoplastico in più foci. Successivamente, con lo sviluppo di autonomia funzionale, ci sarà una riduzione del TSH con conseguente ridotta stimolazione sui foci di microcarcinoma e arresto della progressione.*



*Figura 6. Ruolo del TSH nel microcarcinoma non incidentale. Nel caso del microcarcinoma non incidentale la probabilità di induzione del processo neoplastico sarà più bassa ma la lesione potrà andare incontro a progressione per la presenza di normali livelli sierici di TSH.*



## 7 CONCLUSIONI

Il microcarcinoma incidentale e non incidentale presentano delle caratteristiche cliniche ed istologiche diverse. Le forme non incidentali, diagnosticate clinicamente, presentano un comportamento che le avvicina alle neoplasie di dimensioni maggiori; sono mediamente più grandi, possono presentarsi con ripetizioni linfonodali alla diagnosi e più spesso sono noduli singoli. Istologicamente sono più frequenti varianti aggressive rispetto ai microcarcinomi incidentali. Questi sono mediamente più piccoli, più spesso individuati in pazienti con più noduli, in nessun caso sono state riscontrate metastasi linfonodali ma più frequentemente sono stati individuati foci multipli di neoplasia nel parenchima extranodulare. La presenza di gozzo non sembra influire sul rischio di multifocalità.

Importante è invece la presenza di noduli multipli e l'età del paziente che si associa ad una maggiore probabilità di sviluppo nel tempo di autonomia funzionale del gozzo multinodulare, che determina una progressiva riduzione del TSH sierico.

I livelli di TSH sono significativamente diversi nelle due forme di microcarcinoma, a sostegno del suo ruolo nel favorire l'iniziazione e la progressione tumorale. Le forme diagnosticate clinicamente presentano livelli di TSH normali mentre nelle forme incidentali questo è significativamente più basso. Nel primo caso valori mediamente più alti di TSH permettono la progressione della lesione che sarà evidenziabile clinicamente, nel secondo caso lo sviluppo di autonomia funzionale,

esercitando un'inibizione sulla secrezione di TSH, riduce la stimolazione dei foci neoplastici prevenendone la presentazione clinica.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] B. R. Haugen, E. K. Alexander, K. C. Bible, G. Doherty, S. J. Mandel, Y. E. Nikiforov, F. Pacini, G. Randolph, A. Sawka, M. Schlumberger, K. G. Schuff, S. I. Sherman, J. A. Sosa, D. Steward, R. M. Tuttle, and L. Wartofsky, “2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer,” *Thyroid*, vol. 26, no. 1, p. thy.2015.0020, 2015.
- [2] D. S. Ross, “Editorial: Nonpalpable thyroid nodules - Managing an epidemic,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 87, no. 5, pp. 1938–1940, 2002.
- [3] G. Russ, S. Leboulleux, L. Leenhardt, and L. Hegedüs, “Thyroid incidentalomas: Epidemiology, risk stratification with ultrasound and workup,” *Eur. Thyroid J.*, vol. 3, no. 3, pp. 154–163, 2014.
- [4] E. Fiore and P. Vitti, “Serum TSH and risk of papillary thyroid cancer in nodular thyroid disease,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 97, no. 4, pp. 1134–1145, 2012.
- [5] T. Rago, P. Vitti, L. Chiovato, S. Mazzeo, A. De Liperi, P. Miccoli, P. Viacava, F. Bogazzi, E. Martino, and A. Pinchera, “Role of conventional ultrasonography and color flow-doppler sonography in predicting malignancy in ‘cold’ thyroid nodules,” *Eur. J. Endocrinol.*, vol. 138, no. 1, pp. 41–46, 1998.
- [6] E. Papini, R. Guglielmi, A. Bianchini, A. Crescenzi, S. Taccogna, F. Nardi, C. Panunzi, R. Rinaldi, V. Toscano, and C. M. Pacella, “Risk of Malignancy in

- Nonpalpable Thyroid Nodules : Predictive Value of Ultrasound and Color-Doppler Features,” vol. 87, no. June 1995, pp. 1941–1946, 2016.
- [7] E. Kim, C. S. Park, K. K. Oh, D. I. Kim, and J. T. Lee, “Aspiration Biopsy of Nonpalpable Solid Nodules of the Thyroid,” no. March, pp. 687–691, 2002.
- [8] C. Cappelli, M. Castellano, I. Pirola, E. Gandossi, E. De Martino, D. Cumetti, B. Agosti, and E. A. Rosei, “Thyroid nodule shape suggests malignancy,” *Eur. J. Endocrinol.*, vol. 155, no. 1, pp. 27–31, 2006.
- [9] W.-J. Moon, S. L. Jung, J. H. Lee, D. G. Na, J.-H. Baek, Y. H. Lee, J. Kim, H. S. Kim, J. S. Byun, and D. H. Lee, “Benign and malignant thyroid nodules: US differentiation--multicenter retrospective study.,” *Radiology*, vol. 247, no. 3, pp. 762–770, 2008.
- [10] P. Trimboli, R. Guglielmi, S. Monti, I. Misischi, F. Graziano, N. Nasrollah, S. Amendola, S. N. Morgante, M. G. Deiana, S. Valabrega, V. Toscano, and E. Papini, “Ultrasound sensitivity for thyroid malignancy is increased by real-time elastography: A prospective multicenter study,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 97, no. 12, pp. 4524–4530, 2012.
- [11] J. Bojunga, N. Dauth, C. Berner, G. Meyer, K. Holzer, L. Voelkl, E. Herrmann, H. Schroeter, S. Zeuzem, and M. Friedrich-Rust, “Acoustic Radiation Force Impulse Imaging for Differentiation of Thyroid Nodules,” *PLoS One*, vol. 7, no. 8, pp. 1–8, 2012.
- [12] Y. F. Zhang, H. X. Xu, Y. He, C. Liu, L. H. Guo, L. N. Liu, and J. M. Xu, “Virtual Touch Tissue Quantification of Acoustic Radiation Force Impulse: A New Ultrasound Elastic Imaging in the Diagnosis of Thyroid Nodules,” *PLoS*

- One*, vol. 7, no. 11, pp. 1–8, 2012.
- [13] T. Rago, M. Scutari, F. Santini, V. Loiacono, P. Piaggi, G. Di Coscio, F. Basolo, P. Berti, A. Pinchera, and P. Vitti, “Real-time elastosonography: Useful tool for refining the presurgical diagnosis in thyroid nodules with indeterminate or nondiagnostic cytology,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 95, no. 12, pp. 5274–5280, 2010.
- [14] T. Rago, F. Santini, M. Scutari, A. Pinchera, and P. Vitti, “Elastography: New developments in ultrasound for predicting malignancy in thyroid nodules,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 92, no. 8, pp. 2917–2922, 2007.
- [15] Y. Hong, X. Liu, Z. Li, X. Zhang, M. Chen, and Z. Luo, “Real-time Ultrasound Elastography in the Differential Diagnosis of Benign and Malignant Thyroid Nodules,” *J. Ultrasound Med.*, vol. 28, no. 7, pp. 861–867, 2009.
- [16] J. P. Brito, M. R. Gionfriddo, A. Al Nofal, K. R. Boehmer, A. L. Leppin, C. Reading, M. Callstrom, T. A. Elraiyah, L. J. Prokop, M. N. Stan, M. H. Murad, J. C. Morris, and V. M. Montori, “The Accuracy of Thyroid Nodule Ultrasound to Predict Thyroid Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 99, no. 4, pp. 1253–1263, Apr. 2014.
- [17] R. B. Goldstein, N. Brasic, and C. Jin, “Characteristics: Results of a Population-Based Study,” vol. 173, no. 19, pp. 1788–1796, 2014.
- [18] J. A. Bonavita, J. Mayo, J. Babb, G. Bennett, T. Oweity, M. Macari, and J. Yee, “Pattern recognition of benign nodules at ultrasound of the thyroid: Which nodules can be left alone?,” *Am. J. Roentgenol.*, vol. 193, no. 1, pp. 207–213, 2009.

- [19] American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, D. S. Cooper, G. M. Doherty, B. R. Haugen, B. R. Hauger, R. T. Kloos, S. L. Lee, S. J. Mandel, E. L. Mazzaferri, B. McIver, F. Pacini, M. Schlumberger, S. I. Sherman, D. L. Steward, and R. M. Tuttle, “Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer,” *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.*, vol. 19, no. 11, pp. 1167–1214, 2009.
- [20] F. Nardi, F. Basolo, A. Crescenzi, G. Fadda, A. Frasoldati, F. Orlandi, L. Palombini, E. Papini, M. Zini, A. Pontecorvi, and P. Vitti, “Italian consensus for the classification and reporting of thyroid cytology,” *J. Endocrinol. Invest.*, vol. 37, no. 6, pp. 593–599, 2014.
- [21] Y. E. Nikiforov, D. L. Steward, T. M. Robinson-Smith, B. R. Haugen, J. P. Klopper, Z. Zhu, J. a Fagin, M. Falciglia, K. Weber, and M. N. Nikiforova, “Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 94, no. 6, pp. 2092–2098, 2009.
- [22] L. Yassa, E. S. Cibas, C. B. Benson, M. C. Frates, P. M. Doubilet, A. A. Gawande, F. D. Moore, B. W. Kim, V. Nosé, E. Marqusee, P. R. Larsen, and E. K. Alexander, “Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation,” *Cancer*, vol. 111, no. 6, pp. 508–516, 2007.
- [23] Z. W. Baloch, S. Fleisher, V. A. LiVolsi, and P. K. Gupta, “Diagnosis of ‘follicular neoplasm’: A gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology,”

- Diagn. Cytopathol.*, vol. 26, no. 1, pp. 41–44, Jan. 2002.
- [24] L. Davies, L. G. T. Morris, M. Haymart, A. Y. Chen, D. Goldenberg, J. Morris, J. B. Ogilvie, D. J. Terris, J. Netterville, R. J. Wong, G. Randolph, and on behalf of the A. E. S. S. Committee, “AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY DISEASE STATE CLINICAL REVIEW: THE INCREASING INCIDENCE OF THYROID CANCER,” *Endocr. Pract.*, vol. 21, no. 6, pp. 686–696, Jun. 2015.
- [25] L. Davies and H. Welch, “INcreasing incidence of thyroid cancer in the united states, 1973-2002,” *JAMA*, vol. 295, no. 18, pp. 2164–2167, May 2006.
- [26] A. Y. Chen, A. Jemal, and E. M. Ward, “Increasing incidence of differentiated thyroid cancer in the United States, 1988-2005,” *Cancer*, vol. 115, no. 16, pp. 3801–3807, 2009.
- [27] L. Davies and H. Welch, “CUrrent thyroid cancer trends in the united states,” *JAMA Otolaryngol. Neck Surg.*, vol. 140, no. 4, pp. 317–322, Apr. 2014.
- [28] D. T. Hughes, M. R. Haymart, B. S. Miller, P. G. Gauger, and G. M. Doherty, “The Most Commonly Occurring Papillary Thyroid Cancer in the United States Is Now a Microcarcinoma in a Patient Older than 45 Years,” *Thyroid*, vol. 21, no. 3, pp. 231–236, Jan. 2011.
- [29] H. R. Harach, K. O. Franssila, and V. M. Wasenius, “Occult papillary carcinoma of the thyroid. A ‘normal’ finding in Finland. A systematic autopsy study.” *Cancer*, vol. 56, no. 3, pp. 531–538, 1985.
- [30] F. J. Martinez-Tello, R. Martinez-Cabruja, J. Fernandez-Martin, C. Lasso-Oria,

- and C. Ballestin-Carcavilla, "Occult carcinoma of the thyroid. A systematic autopsy study from Spain of two series performed with two different methods.," *Cancer*, vol. 71, no. 12, pp. 4022–9, 1993.
- [31] J. D. MORTENSEN, L. B. WOOLNER, and W. A. BENNETT, "GROSS AND MICROSCOPIC FINDINGS IN CLINICALLY NORMAL THYROID GLANDS," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 15, no. 10, pp. 1270–1280, Oct. 1955.
- [32] J. P. Zevallos, C. M. Hartman, J. R. Kramer, E. M. Sturgis, and E. Y. Chiao, "Increased thyroid cancer incidence corresponds to increased use of thyroid ultrasound and fine-needle aspiration: A Study of the veterans affairs health care system," *Cancer*, vol. 121, no. 5, pp. 741–746, 2015.
- [33] S. Vaccarella, S. Franceschi, F. Bray, C. P. Wild, M. Plummer, and L. Dal Maso, "Worldwide Thyroid-Cancer Epidemic? The Increasing Impact of Overdiagnosis," *N. Engl. J. Med.*, vol. 375, no. 7, pp. 614–617, Aug. 2016.
- [34] S. J. Schonfeld, C. Lee, and A. Berrington de González, "Medical Exposure to Radiation and Thyroid Cancer," *Clin. Oncol.*, vol. 23, no. 4, pp. 244–250, Jul. 2016.
- [35] K. Furukawa, D. Preston, S. Funamoto, S. Yonehara, M. Ito, S. Tokuoka, H. Sugiyama, M. Soda, K. Ozasa, and K. Mabuchi, "Long-term trend of thyroid cancer risk among Japanese atomic-bomb survivors: 60 years after exposure," *Int. J. Cancer*, vol. 132, no. 5, pp. 1222–1226, 2013.
- [36] E. Fiore, T. Rago, M. A. Provenzale, M. Scutari, C. Ugolini, F. Basolo, G. Di Coscio, P. Berti, L. Grasso, R. Elisei, A. Pinchera, and P. Vitti, "Lower levels



- of TSH are associated with a lower risk of papillary thyroid cancer in patients with thyroid nodular disease: Thyroid autonomy may play a protective role,” *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 16, no. 4, pp. 1251–1260, 2009.
- [37] D. Schmid, G. Behrens, C. Jochem, M. Keimling, and M. Leitzmann, “Physical activity, diabetes, and risk of thyroid cancer: a systematic review and meta-analysis,” *Eur. J. Epidemiol.*, vol. 28, no. 12, pp. 945–958, 2013.
- [38] S.-R. Shih, W.-Y. Chiu, T.-C. Chang, and C.-H. Tseng, “Diabetes and thyroid cancer risk: literature review.,” *Exp. Diabetes Res.*, vol. 2012, no. Table 1, p. 578285, 2012.
- [39] C.-H. Tseng, “Thyroid cancer risk is not increased in diabetic patients.,” *PLoS One*, vol. 7, no. 12, p. e53096, 2012.
- [40] C. M. Kitahara, E. A. Platz, L. E. B. Freeman, A. W. Hsing, S. Linet, Y. Park, C. Schairer, A. Schatzkin, J. M. Shikany, and A. B. De González, “NIH Public Access,” *Biomarkers*, pp. 1–15, 2012.
- [41] Z. G. Zhao, X. G. Guo, C. X. Ba, W. Wang, Y. Y. Yang, J. Wang, and H. Y. Cao, “Overweight, obesity and thyroid cancer risk: a meta-analysis of cohort studies,” *J Int Med Res*, vol. 40, no. 6, pp. 2041–2050, 2012.
- [42] É. Cléro, F. Doyon, V. Chungue, F. Rachédi, J.-L. Boissin, J. Sebbag, L. Shan, F. Bost-Bezeaud, P. Petitdidier, É. Dewailly, C. Rubino, and F. de Vathaire, “Dietary Iodine and Thyroid Cancer Risk in French Polynesia: A Case–Control Study,” *Thyroid*, vol. 22, no. 4, pp. 422–429, Jan. 2012.
- [43] U. Feldt-Rasmussen, “Iodine and Cancer,” *Thyroid*, vol. 11, no. 5, pp. 483–486, May 2001.

- [44] M. Knobel and G. Medeiros-Neto, "Relevance of iodine intake as a reputed predisposing factor for thyroid cancer.," *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, vol. 51, no. 5, pp. 701–712, 2007.
- [45] J. R. Cerhan, "NIH Public Access," vol. 21, no. 3, pp. 389–395, 2010.
- [46] B. Aschebrook-Kilfoy, X.-O. Shu, Y.-T. Gao, B.-T. Ji, G. Yang, H. L. Li, N. Rothman, W.-H. Chow, W. Zheng, and M. H. Ward, "Thyroid cancer risk and dietary nitrate and nitrite intake in the Shanghai women's health study.," *Int. J. Cancer*, vol. 132, no. 4, pp. 897–904, 2013.
- [47] D. M. Tamimi, "The Association Between Chronic Lymphocytic Thyroiditis and Thyroid Tumors," *Int. J. Surg. Pathol.*, vol. 10, no. 2, pp. 141–146, Apr. 2002.
- [48] C. K. Jung, M. P. Little, J. H. Lubin, A. V Brenner, S. A. Wells, A. J. Sigurdson, and Y. E. Nikiforov, "The Increase in Thyroid Cancer Incidence During the Last Four Decades Is Accompanied by a High Frequency of BRAF Mutations and a Sharp Increase in RAS Mutations," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 99, no. 2, pp. E276–E285, Feb. 2014.
- [49] Y. E. Nikiforov, "RET/PTC rearrangement in thyroid tumors," *Endocr. Pathol.*, vol. 13, no. 1, pp. 3–16, 2002.
- [50] J. A. Fagin, "Editorial: Challenging dogma in thyroid cancer molecular genetics - Role of RET/PTC and BRAF in tumor initiation," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 89, no. 9, pp. 4264–4266, 2004.
- [51] G. M. Howell, S. P. Hodak, and L. Yip, "RAS mutations in thyroid cancer.," *Oncologist*, vol. 18, no. 8, pp. 926–32, 2013.

- [52] G. Garcia-Rostan, H. Zhao, R. L. Camp, M. Pollan, A. Herrero, J. Pardo, R. Wu, M. L. Carcangiu, J. Costa, and G. Tallini, “ras Mutations Are Associated With Aggressive Tumor Phenotypes and Poor Prognosis in Thyroid Cancer,” *J. Clin. Oncol.* , vol. 21 , no. 17 , pp. 3226–3235, Sep. 2003.
- [53] C. Hedinger, E. D. Williams, and L. H. Sobin, “The WHO histological classification of thyroid tumors: a commentary on the second edition.,” *Cancer*, vol. 63, no. 5, pp. 908–11, 1989.
- [54] D. S. Ross and R. M. Tuttle, “Observing Micropapillary Thyroid Cancers,” *Thyroid*, vol. 24, no. 1, pp. 3–6, 2014.
- [55] W. Lang, H. Borrusch, and L. Bauer, “Occult carcinomas of the thyroid. Evaluation of 1,020 sequential autopsies,” *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 90, no. 1, pp. 72–76, 1988.
- [56] F. H. Fukunaga and R. Yatani, “Geographic pathology of occult thyroid carcinomas,” *Cancer*, vol. 36, no. 3, pp. 1095–1099, 1975.
- [57] F. Pacini, “Thyroid microcarcinoma,” *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 26, no. 4, pp. 421–429, 2012.
- [58] H. Mehanna, T. Al-Maqbili, B. Carter, E. Martin, N. Campaign, J. Watkinson, C. McCabe, K. Boelaert, and J. A. Franklyn, “Differences in the recurrence and mortality outcomes rates of incidental and nonincidental papillary thyroid microcarcinoma: A systematic review and meta-analysis of 21 329 person-years of follow-up,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 99, no. 8, pp. 2834–2843, 2014.
- [59] I. and Y. F. Sugitani, “Symptomatic versus Asymptomatic Microcarcinoma : A

- Retrospective Outcome and Prognostic Factors Papillary Thyroid Analysis of Surgical,” *Endocr. J.*, vol. 46, no. 1, pp. 209–216, 1999.
- [60] C.-Y. Lo, W.-F. Chan, B. H.-H. Lang, K.-Y. Lam, and K.-Y. Wan, “Papillary Microcarcinoma: Is There Any Difference between Clinically Overt and Occult Tumors?,” *World J. Surg.*, vol. 30, no. 5, pp. 759–766, 2006.
- [61] R. Corvi, M. Martinez-Alfaro, H. R. Harach, M. Zini, M. Papotti, and G. Romeo, “Frequent RET rearrangements in thyroid papillary microcarcinoma detected by interphase fluorescence in situ hybridization,” *Lab. Invest.*, vol. 81, no. 12, pp. 1639–1645, 2001.
- [62] L. Fugazzola, E. Puxeddu, N. Avenia, C. Romei, V. Cirello, A. Cavaliere, P. Faviana, D. Mannavola, S. Moretti, S. Rossi, M. Sculli, V. Bottici, P. Beck-Peccoz, F. Pacini, A. Pinchera, F. Santeusano, and R. Elisei, “Correlation between B-RAFV600E mutation and clinico-pathologic parameters in papillary thyroid carcinoma: Data from a multicentric Italian study and review of the literature,” *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 13, no. 2, pp. 455–464, 2006.
- [63] C. Nucera and A. Pontecorvi, “Clinical outcome, role of BRAFV600E, and molecular pathways in papillary thyroid microcarcinoma: Is it an indolent cancer or an early stage of papillary thyroid cancer?,” *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 3, no. FEB, pp. 1–8, 2012.
- [64] B. R. Fonslow, B. D. Stein, K. J. Webb, T. Xu, J. Choi, S. Kyu, and J. R. Y. Iii, “NIH Public Access,” vol. 10, no. 1, pp. 54–56, 2013.
- [65] H. Oda, A. Miyauchi, Y. Ito, K. Yoshioka, A. Nakayama, H. Sasai, H. Masuoka, T. Yabuta, M. Fukushima, T. Higashiyama, M. Kihara, K.

- Kobayashi, and A. Miya, “Incidences of Unfavorable Events in the Management of Low-Risk Papillary Microcarcinoma of the Thyroid by Active Surveillance Versus Immediate Surgery,” *Thyroid*, vol. Epub ahead, no. 1, pp. 1–26, 2015.
- [66] Y. Ito, T. Uruno, K. Nakano, Y. Takamura, A. Miya, K. Kobayashi, T. Yokozawa, F. Matsuzuka, S. Kuma, K. Kuma, and A. Miyauchi, “An Observation Trial Without Surgical Treatment in Patients with Papillary Microcarcinoma of the Thyroid,” *Thyroid*, vol. 13, no. 4, pp. 381–387, Apr. 2003.
- [67] A. T. Franco, R. Malaguarnera, S. Refetoff, X.-H. Liao, E. Lundsmith, S. Kimura, C. Pritchard, R. Marais, T. F. Davies, L. S. Weinstein, M. Chen, N. Rosen, R. Ghossein, J. a Knauf, and J. a Fagin, “Thyrotrophin receptor signaling dependence of Braf-induced thyroid tumor initiation in mice.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 108, no. 4, pp. 1615–1620, 2011.
- [68] C. Durante, E. Puxeddu, E. Ferretti, R. Morisi, S. Moretti, R. Bruno, F. Barbi, N. Avenia, A. Scipioni, A. Verrienti, E. Tosi, A. Cavaliere, A. Gulino, S. Filetti, and D. Russo, “Brief report: BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 92, no. 7, pp. 2840–2843, 2007.
- [69] Y. H. Kim, Y. W. Choi, J. H. Han, J. Lee, E. Y. Soh, S. H. Park, J.-H. Kim, and T. J. Park, “TSH Signaling Overcomes B-RafV600E-Induced Senescence in Papillary Thyroid Carcinogenesis through Regulation of DUSP6.,” *Neoplasia*, vol. 16, no. 12, pp. 1107–20, 2014.

- [70] K. Boelaert, J. Horacek, R. L. Holder, J. C. Watkinson, M. C. Sheppard, and J. A. Franklyn, "Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 91, no. 11, pp. 4295–4301, 2006.
- [71] M. R. Haymart, S. L. Glinberg, J. Liu, R. S. Sippel, J. C. Jaume, and H. Chen, "Higher serum TSH in thyroid cancer patients occurs independent of age and correlates with extrathyroidal extension," *Clin. Endocrinol. (Oxf)*., vol. 71, no. 3, pp. 434–439, Sep. 2009.
- [72] D. Kim and J. W. Park, "Clinical implications of preoperative thyrotropin serum concentrations in patients who underwent thyroidectomy for nonfunctioning nodule(s)," *J. Korean Surg. Soc.*, vol. 85, no. 1, pp. 15–19, 2013.
- [73] C. Zafon, G. Obiols, J. A. Baena, J. Castellví, B. Dalama, and J. Mesa, "Preoperative thyrotropin serum concentrations gradually increase from benign thyroid nodules to papillary thyroid microcarcinomas then to papillary thyroid cancers of larger size," *J. Thyroid Res.*, vol. 2012, 2012.
- [74] E. Fiore, T. Rago, M. A. Provenzale, M. Scutari, C. Ugolini, F. Basolo, G. Di Coscio, P. Miccoli, L. Grasso, A. Pinchera, and P. Vitti, "L-thyroxine-treated patients with nodular goiter have lower serum TSH and lower frequency of papillary thyroid cancer: Results of a cross-sectional study on 27 914 patients," *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 17, no. 1, pp. 231–239, 2010.
- [75] M. Gerschpacher, C. Göbl, C. Anderwald, A. Gessl, and M. Krebs, "Thyrotropin serum concentrations in patients with papillary thyroid

- microcancers.,” *Thyroid*, vol. 20, no. 4, pp. 389–392, 2010.
- [76] S. Y. Sohn, H. J. Kim, H. W. Jang, S. W. Kim, and J. H. Chung, “Lack of association between high serum thyroid-stimulating hormone level and risk of papillary thyroid microcarcinomas,” *Head Neck*, vol. 36, no. 1, pp. 43–46, Jan. 2014.
- [77] R. Negro, R. Valcavi, F. Riganti, K. Toulis, E. Colosimo, M. Bongiovanni, P. Grassi, L. Giovanella, G. Gardini, and S. Piana, “Thyrotropin Values in Patients with Micropapillary Thyroid Cancer Versus Benign Nodular Disease,” *Endocr. Pract.*, vol. 19, no. 4, pp. 651–655, 2013.
- [78] I. Sugitani, Y. Fujimoto, and K. Yamada, “Association Between Serum Thyrotropin Concentration and Growth of Asymptomatic Papillary Thyroid Microcarcinoma,” *World J. Surg.*, vol. 38, no. 3, pp. 673–678, 2014.
- [79] Y. Gao, N. Qu, L. Zhang, J. Chen, and Q. Ji, “Preoperative ultrasonography and serum thyroid-stimulating hormone on predicting central lymph node metastasis in thyroid nodules as or suspicious for papillary thyroid microcarcinoma,” *Tumor Biol.*, vol. 37, no. 6, pp. 7453–7459, 2016.
- [80] M. R. Haymart, D. J. Replinger, G. E. Levenson, D. F. Elson, R. S. Sippel, J. C. Jaume, and H. Chen, “Higher Serum Thyroid Stimulating Hormone Level in Thyroid Nodule Patients Is Associated with Greater Risks of Differentiated Thyroid Cancer and Advanced Tumor Stage,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 93, no. 3, pp. 809–814, Mar. 2008.
- [81] T. Rago, L. Chiovato, F. Aghini-Lombardi, L. Grasso, A. Pinchera, and P. Vitti, “Non-palpable thyroid nodules in a borderline iodine-sufficient area: Detection

- by ultrasonography and follow-up,” *J. Endocrinol. Invest.*, vol. 24, no. 10, pp. 770–776, 2001.
- [82] F. A. Verburg, U. Mäder, M. Luster, and C. Reiners, “Primary tumour diameter as a risk factor for advanced disease features of differentiated thyroid carcinoma,” *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, vol. 71, no. 2, pp. 291–297, 2009.
- [83] P. Malandrino, G. Pellegriti, M. Attard, M. A. Violi, C. Giordano, L. Sciacca, C. Regalbuto, S. Squatrito, and R. Vigneri, “Papillary thyroid microcarcinomas: a comparative study of the characteristics and risk factors at presentation in two cancer registries.,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 98, no. 4, pp. 1427–34, 2013.
- [84] E. Roti, R. Rossi, G. Trasforini, F. Bertelli, M. R. Ambrosio, L. Busutti, E. N. Pearce, L. E. Braverman, and E. C. Degli Uberti, “Clinical and histological characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: Results of a retrospective study in 243 patients,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 91, no. 6, pp. 2171–2178, 2006.
- [85] Y. K. So, M. W. Kim, and Y. I. Son, “Multifocality and bilaterality of papillary thyroid microcarcinoma,” *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.*, vol. 8, no. 2, pp. 174–178, 2015.
- [86] E. Raspé and J. E. Dumont, “Tonic modulation of dog thyrocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and I<sup>-</sup> uptake by thyrotropin through the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate cascade.,” *Endocrinology*, vol. 136, no. 3, pp. 965–973, Mar. 1995.
- [87] M. Tonacchera, P. Agretti, L. Chiovato, V. Rosellini, G. Ceccarini, A. Perri, P.



Viacava, A. G. Naccarato, P. Miccoli, A. Pinchera, and P. Vitti, "Activating Thyrotropin Receptor Mutations Are Present in Nonadenomatous Hyperfunctioning Nodules of Toxic or Autonomous Multinodular Goiter\*," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 85, no. 6, pp. 2270–2274, Jun. 2000.